

# artus<sup>®</sup> BK Virus RG PCR Kit- håndbok

 24 (katalognr. 4514263)

 96 (katalognr. 4514265)

Versjon 1

**IVD**

Kvantitativ in vitro diagnostikk

Til bruk med Rotor-Gene<sup>®</sup> Q-instrumenter

**CE**

**REF** 4514263, 4514265

**HB** 1056823NO

 QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
TYSKLAND

**R4** **MAT** 1056823NO



## **QIAGEN Sample and Assay Technologies**

QIAGEN er den ledende leverandøren av nyskapende prøve- og assayteknologier som gjør det mulig å isolere og detektere innholdet i biologiske prøver. Våre avanserte produkter og tjenester av høy kvalitet sikrer suksess fra prøve til resultat.

### **QIAGEN setter standarder i:**

- Rensing av DNA, RNA og proteiner
- Nukleinsyre- og proteinassayer
- mikroRNA forskning og RNAi
- Automatisering av prøve- og assayteknologi

Vår visjon er å gi deg muligheten til å oppnå fremragende suksess og gjennombrudd. For mer informasjon, besøk [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Innholdsfortegnelse

<b>Tiltenkt bruk</b>	<b>4</b>
<b>Sammendrag og forklaring</b>	<b>4</b>
Patogen informasjon	4
Prinsipp	5
<b>Materialer som medfølger</b>	<b>5</b>
Kitets innhold	5
<b>Materialer som er nødvendige, men ikke medfølger</b>	<b>6</b>
<b>Advarsler og forsiktighetsregler</b>	<b>6</b>
Allmenne forholdsregler	8
<b>Oppbevaring og håndtering av reagenser</b>	<b>8</b>
<b>Prosedyre</b>	<b>8</b>
DNA-isolasjon	8
Internkontroll	9
Protokoll	
■ PCR og dataanalyse	10
<b>Tolking av resultater</b>	<b>16</b>
Kvantitering	16
Resultater	17
Feilsøkingsveiledning	19
<b>Kvalitetskontroll</b>	<b>21</b>
<b>Produktets bruksbegrensninger</b>	<b>21</b>
<b>Ytelsesegenskaper</b>	<b>21</b>
Analytisk sensibilitet	21
Spesifisitet	22
Nøyaktighet	23
Robusthet	24
Reproduserbarhet	25
Diagnostisk evaluering	25
<b>Referanser</b>	<b>26</b>
<b>Symboler</b>	<b>26</b>
<b>Bestillingsinformasjon</b>	<b>28</b>

## Tiltenkt bruk

*artus* BK Virus PCR Kit er en in vitro nukleinsyre-amplifikasjonstest for kvantitering av BK-virus DNA i humant plasma eller urin. Dette diagnostiske test-kitet benytter polymerase kjedereaksjonen (PCR) og er konfigurert til bruk med Rotor-Gene Q-instrumenter.

**Merk:** *artus* BK Virus RG PCR Kit kan ikke brukes med Rotor-Gene Q 2plex-instrumenter.

## Sammendrag og forklaring

*artus* BK Virus RG PCR Kit er et bruksklart system for deteksjon av BK-virus DNA ved hjelp av polymerase kjedereaksjon (PCR) på Rotor-Gene Q-instrumenter. BK Virus RG Master inneholder reagenser og enzymer for den spesifikke amplifikasjonen av en 274 bp-region av BK-virus-genomet, og til direkte deteksjon av det spesifikke amplikonet i fluorescenskanalen Cycling Green på Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000.

Dessuten inneholder *artus* BK Virus RG PCR Kit et annet heterologt amplifikasjonssystem som identifiserer mulig PCR-inhibisjon. Dette detekteres som en internkontroll (IC) i fluorescenskanal Cycling Orange på Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene 6000. Deteksjonsbegrensningen av den analytiske BK-virus PCR-en (se "**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**", side **Fehler! Textmarke nicht definiert.**) blir ikke redusert. Det vedlegges eksterne positive kontroller (BK Virus RG QS 1–4) som brukes til å fastslå mengden av viral DNA. For ytterligere informasjon, se "Tolking av resultater", side **Fehler! Textmarke nicht definiert.**

## Patogen informasjon

BK-virus (BKV) er et DNA-virus tilhørende polyomaviruser. Primærinfeksjon skjer for det meste i løpet av barndommen og er som regel asymptomatisk. Seroprevalensen hos voksne er opp til 90 %. Etter primærinfeksjon forblir BKV latent i nyrecellene og kan bli aktivert på nytt under immundefekte forhold slik som transplantasjon.

BKV-infeksjon kan korreleres med tubulointerstitiell nefritt og ureterisk stenose hos resipienter av nyretransplantat, og hemoragisk cystitt hos resipienter av benmargtransplantat. Det har også blitt forbundet med sykdomsmønstre for vaskulopati, pneumonitt, encefalitt, retinitt og sågar multi-organsvikt.


Persistent høynivå-BKV-replikasjon er det typiske kjennetegnet på polyomavirus-forbundet nefropati (PAN) hos pasienter med nyretransplantat. Klinisk relevante infeksjoner er for det meste begrenset til individer med immunosuppressiv tilstand.

## Prinsipp

Patogen deteksjon ved hjelp av polymerase kjedereaksjon (PCR) er basert på amplifikasjon av spesifikke regioner av det patogene genomet. Det amplifiserte produktet detekteres via fluorescensfarge i sanntid-PCR. Disse er som regel koblet til oligonukleotid-sonder som binder spesifikt til det amplifiserte produktet. Overvåking av fluorescensintensiteten under PCR-kjøringen (dvs. i sanntid) gjør det mulig å detektere og kvantitere de akkumulerte produktene uten å måtte åpne reaksjonsrørene igjen etter PCR-kjøringen.\*

## Materialer som medfølger

### Kitets innhold

<b>artus BK Virus RG PCR Kit</b>			<b>(24)</b>	<b>(96)</b>
<b>Katalognr.</b>			<b>4514263</b>	<b>4514265</b>
<b>Antall reaksjoner</b>			<b>24</b>	<b>96</b>
Blå	BK Virus RG Master		2 x 12 reaksjoner	8 x 12 reaksjoner
Gul	BK Virus RG Mg-Sol <sup>†</sup>	<b>Mg-Sol</b>	400 µl	400 µl
Rød	BK Virus RG QS 1 <sup>†</sup> (1 x 10 <sup>4</sup> kopier/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
Rød	BK Virus RG QS2 <sup>†</sup> (1 x 10 <sup>3</sup> kopier/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
Rød	BK Virus RG QS3 <sup>†</sup> (1 x 10 <sup>2</sup> kopier/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
Rød	BK Virus RG QS4 <sup>†</sup> (1 x 10 <sup>1</sup> kopier/µl)	<b>QS</b>	200 µl	200 µl
Grønn	BK Virus RG IC <sup>§</sup>	<b>IC</b>	1000 µl	2 x 1000 µl
Hvit	Water (PCR-Grade)		1000 µl	1000 µl
	Håndbok		1	1

<sup>†</sup> Magnesiumløsning.

‡ Kvantiteringsstandard.

§ Internkontroll.

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

## Materialer som er nødvendige, men ikke medfølger

Når det arbeides med kjemikalier, skal man alltid ha på seg egnet laboratoriefrakk, engangshansker og beskyttelsesbriller.

For mer informasjon, vennligst les relevante safety data sheets (sikkerhetsdatablad, SDS), tilgjengelig fra produktets leverandør.

### Reagenser

## DNA-isoleringskit (se "Oppbevaring og håndtering av reagenser

Komponentene i *artus* BK Virus PCR Kit skal oppbevares ved -15 °C til -30 °C og er stabile til utløpsdatoen angitt på etiketten. Gjentatt tining og frysing (>2 x) skal unngås da dette kan redusere assayets sensibilitet. Hvis reagensene kun skal brukes periodisk, skal de fryses i alikvoter. Oppbevaring ved 2–8 °C skal ikke overskride en 5-timers periode.

## Prosedyre

- DNA-isolasjon", side 8)

Forbruksvarer

- Sterile pipettespisser med filtre
- Strip Tubes and Caps, 0,1 ml, til bruk med 72-brønns rotor (kat.nr. 981103 eller 981106)
- Alternativt: PCR Tubes, 0,2 ml, til bruk med 36-brønns rotor (kat.nr. 981005 eller 981008)

## Utstyr

- Pipetter (justerbare)\*
- Virvelblander\*
- Benkettopp-sentrifuge\* med rotor for 2 ml reaksjonsrør
- Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q eller Rotor-Gene-instrument\*<sup>†</sup> med fluorescenskanaler for Cycling Green og Cycling Orange

- Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q software versjon 1.7.94 eller høyere (Rotor-Gene 6000 software version 1.7.65)
- Kjøleblokk (Loading Block 72 x 0,1 ml Tubes, kat.nr. 9018901, eller Loading Block 96 x 0,2 ml Tubes, kat.nr. 9018905)

## Advarsler og forsiktighetsregler

Til bruk i in vitro-diagnostikk

Når det arbeides med kjemikalier, skal man alltid ha på seg egnet laboratoriefrakk, engangshansker og beskyttelsesbriller. For mer informasjon se relevante safety data sheets (sikkerhetsdatablad, SDS). Databladene er tilgjengelige online i praktisk og kompakt PDF format på [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) hvor du kan finne, se og skrive ut SDS-databladet for hvert QIAGEN kit og kit-komponent.

Kast prøve- og assayavfall i henhold til dine lokale sikkerhetsforskrifter.

\* Sørg for at instrumentene er undersøkt og kalibrert i henhold til produsentens anbefalinger.

† *artus* BK Virus RG PCR Kit kan ikke brukes med Rotor-Gene Q 2plex-instrumenter.

## Allmenne forholdsregler

Brukeren skal alltid være oppmerksom på følgende:

- Bruk sterile pipettespisser med filtre.
- Oppbevar og ekstraher positive materialer (prøver, positive kontroller og amplikoner) atskilt fra alle andre reagenser og tilsett dem i reaksjonsblandingen i et separat anlegg.
- Alle komponentene må være fullstendig tinet ved romtemperatur (15–25 °C) før assayet startes.
- Etter tining bland komponentene (ved gjentatt pipettering opp og ned eller ved pulserende virvelblanding) og sentrifuger en kort stund.
- Arbeid raskt og behold komponentene på is eller i kjøleblokken (72/96-brønns lasteblokk).

## Oppbevaring og håndtering av reagenser

Komponentene i *artus* BK Virus PCR Kit skal oppbevares ved -15 °C til -30 °C og er stabile til utløpsdatoen angitt på etiketten. Gjentatt tining og frysing (>2 x) skal unngås da dette kan redusere assayets sensibilitet. Hvis reagensene kun skal brukes periodisk, skal de fryses i alikvoter. Oppbevaring ved 2–8 °C skal ikke overskride en 5-timers periode.

## Prosedyre

### DNA-isolasjon

EZ1 DSP Virus Kit (QIAGEN, kat.nr. 62724)\* er validert for viral nukleinsyrerensing fra humant plasma eller urin, til bruk med *artus* BK Virus RG PCR Kit. Utfør viral DNA-rensing i henhold til anvisningene i *EZ1 DSP Virus Kit-håndbok*, med en innledende prøvestørrelse på 400 µl.

**Merk:** *artus* BK Virus RG PCR Kit skal ikke brukes med fenol-baserte isoleringsmetoder.

**Merk:** Bruk av bærer-RNA er av avgjørende betydning for ekstraheringseffektivitet og følgelig for DNA/RNA-utbyttet. Tilsett egnet mengde bærer-RNA til hver ekstrahering ifølge anvisningene i *EZ1 DSP Virus Kit-håndboken*.

**Merk:** Den interne kontrollen i *artus* BK Virus RG PCR Kit kan brukes direkte i isoleringsprosedyren (se "Internkontroll", side 9).



**Merk:** Vi anbefaler meget sterkt å bruke rensede virale nukleinsyrer for PCR umiddelbart etter ekstrahering ved hjelp av EZ1 DSP Virus Kit. Alternativt kan eluater oppbevares i opp til 3 dager ved 4 °C før PCR-analysen.

## Internkontroll

Det inkluderes en internkontroll (BK Virus RG IC). Dette lar brukeren kontrollere både DNA-isoleringsprosedyren samt undersøke mulig PCR-inhibisjon. For denne anvendelsen, tilsett den interne kontrollen i isoleringen i et forhold på 0,1 µl pr. 1 µl elusjonsvolum. For eksempel, ved bruk av EZ1 DSP Virus Kit, hvis de virale nukleinsyrene elueres i 60 µl elueringsbuffer (AVE), skal 6 µl av den interne kontrollen tilsettes i begynnelsen.

## **Merk: Den interne kontrollen og bærer-RNA (se "Oppbevaring og håndtering av reagenser**

Komponentene i *artus* BK Virus PCR Kit skal oppbevares ved -15 °C til -30 °C og er stabile til utløpsdatoen angitt på etiketten. Gjentatt tining og frysing (>2 x) skal unngås da dette kan redusere assayets sensibilitet. Hvis reagensene kun skal brukes periodisk, skal de fryses i alikvoter. Oppbevaring ved 2–8 °C skal ikke overskride en 5-timers periode.

## Prosedyre

DNA-isolasjon", side 8) skal kun tilsettes blandingen av lysisbuffer og prøvematerialet eller direkte i lysisbufferen.

Den interne kontrollen må ikke tilsettes prøvematerialet direkte. Hvis den tilsettes lysisbufferen vær oppmerksom på at blandingen av den interne kontrollen og lysisbuffer-bærer-RNA må prepareres friskt og brukes omgående (oppbevaring av blandingen ved romtemperatur eller i kjøleskap i bare noen få timer kan svekke den interne kontrollen og redusere ekstraheringens effektivitet).

**Merk:** Ikke tilsett den interne kontrollen og bærer-RNA direkte i prøvematerialet.

Den interne kontrollen kan alternativt utelukkende brukes til å kontrollere tegn på mulig PCR-inhibisjon. For denne anvendelsen tilsett den interne kontrollen direkte i blandingen av BK Virus RG Master og BK Virus RG Mg-Sol, som beskrevet i trinn 2b av protokollen (side 11).

\* EZ1 DSP Virus Kit er også tilgjengelig som CE-IVD-merkede EASYartus® BK Virus RG PCR Kits, kombinert med *artus* BK Virus RG PCR Kit (se side 29 for bestillingsinformasjon).

## Protokoll: PCR og dataanalyse

### Viktige punkter før start

- Ta deg tid til å bli kjent med Rotor-Gene Q-instrumentet før du starter protokollen. Se instrument-brukerhåndboken.
- Sørg for at minst en kvantiteringsstandard samt en negativ kontroll (vann, PCR-grad) inkluderes pr. PCR-kjøring. For å generere en standardkurve, bruk alle 4 kvantiteringsstandarder som følger med (BK Virus RG QS 1–4) for hver PCR-kjøring.

### Ting som må utføres før start

- Sørg for at kjøleblokken (tilbehør til Rotor-Gene Q-instrument) er forhåndskjølet til 2–8 °C.
- Hver gang før bruk må alle reagensene være helt tinet, blandet (ved gjentatt pipettering opp og ned eller ved rask virvelblanding) og sentrifugert en kort stund.

### Prosedyre

1. Legg ønsket antall PCR-rør i adapterne på kjøleblokken.
2. Hvis du benytter den interne kontrollen til å kontrollere DNA-isoleringsprosedyren og til å etterse for mulig PCR-inhibisjon, følg trinn 2a. Hvis du bruker den interne kontrollen utelukkende for å kontrollere PCR-inhibisjon, følg trinn 2b.
- 2a. Den interne kontrollen har allerede blitt tilføyd i isoleringen (se "Internkontroll", side 9). I dette tilfellet prepareres en hovedblanding i henhold til tabell 1.

Typisk reaksjonsblanding inneholder alle komponentene påkrevd for PCR unntatt prøven.

**Tabell 1. Preparering av hovedblanding (internkontroll brukt til å kontrollere DNA-isolering og for å etterse PCR-inhibisjon)**

<b>Antall prøver</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
BK Virus RG Master	7 µl	84 µl
BK Virus RG Mg-Sol	3 µl	36 µl
BK Virus RG IC	0 µl	0 µl
<b>Totalvolum</b>	<b>10 µl</b>	<b>120 µl</b>

**2b. Den interne kontrollen må tilsettes direkte i blandingen av BK Virus RG Master og BK Virus RG Mg-Sol. I dette tilfellet prepareres en hovedblanding i henhold til tabell 2.**

Typisk reaksjonsblanding inneholder alle komponentene påkrevd for PCR unntatt prøven.

**Tabell 2. Preparering av hovedblanding (internkontroll brukt utelukkende for å etterse PCR-inhibisjon)**

<b>Antall prøver</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
BK Virus RG Master	7 $\mu$ l	84 $\mu$ l
BK Virus RG Mg-Sol	3 $\mu$ l	36 $\mu$ l
BK Virus RG IC	1,5 $\mu$ l	18 $\mu$ l
<b>Totalvolum</b>	<b>11,5 <math>\mu</math>l*</b>	<b>138 <math>\mu</math>l*</b>

\* Volumøkningen forårsaket ved tilsetning av den interne kontrollen ignoreres når PCR-assayet prepareres. Deteksjonssystemets sensibilitet er ikke svekket.

**3. Pipetter 10  $\mu$ l av hovedblandingen i hvert PCR-rør. Tilsett deretter 15  $\mu$ l av den eluterte DNA-prøven (se tabell 3). I tilsvarende grad må 15  $\mu$ l av minst en av kvantiteringsstandardene (BK Virus RG QS 1–4) brukes som positiv kontroll og 15  $\mu$ l av vann (vann, PCR-grad) som negativ kontroll.**

**Tabell 3. Preparering av PCR-assay**

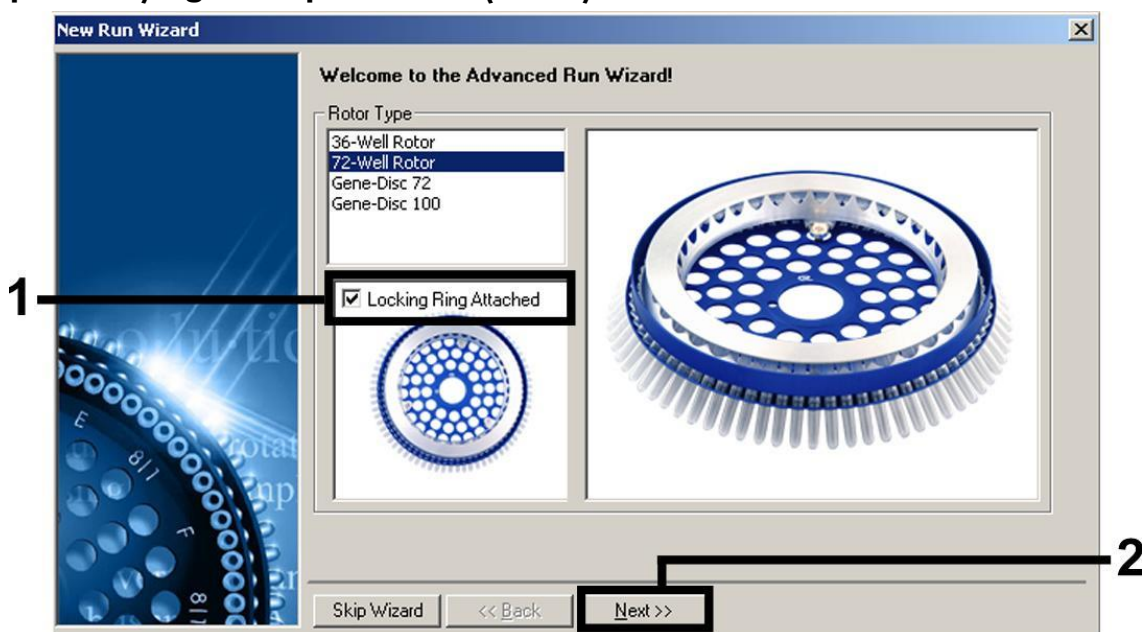
<b>Antall prøver</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
Hovedblanding	10 $\mu$ l	10 $\mu$ l hver
Prøve	15 $\mu$ l	15 $\mu$ l hver
<b>Totalvolum</b>	<b>25 <math>\mu</math>l</b>	<b>25 <math>\mu</math>l hver</b>

- 4. Lukk PCR-rørene. Sørg for at låseringen (tilbehør til Rotor-Gene-instrumentet) plasseres på toppen av rotoren for å hindre utilsiktet åpning av rørene under kjøringen.**
- 5. For deteksjon av BK-virus-DNA, opprett en temperaturprofil i henhold til følgende trinn.**

Innstilling av generelle assay-parametrer	Figur 1, 2, 3
Innledende aktivering av varmstart-enzymet	Figur 4
Amplifikasjon av DNA	Figur 5
Justering av fluorescenskanalens sensibilitet	Figur 6
Starte kjøringen	Figur 7

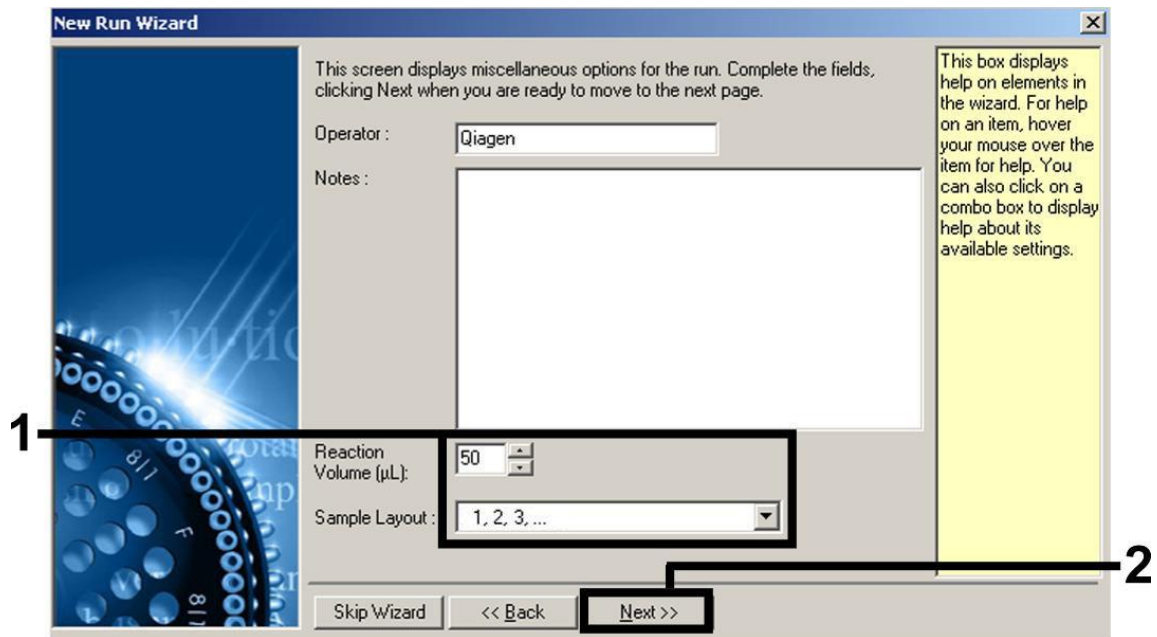
Alle spesifikasjoner henviser til Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q software versjon 1.7.94 og Rotor-Gene 6000 software versjon 1.7.65. Vennligst finn ytterligere informasjon om programmering av Rotor-Gene-instrumenter i brukerhåndboken. Illustrasjonene av disse innstillingene er fremhevd i svarte rammer. Illustrasjoner for Rotor-Gene Q-instrumenter inkluderes.

6. Åpne først dialogboksen "New Run Wizard" (ny kjøring-veiviser) (Figur 1). Kryss av boksen "Locking Ring Attached" (låsering påfestet) og klikk på "Next" (neste).



Figur 1. "New Run Wizard" (ny kjøring-veiviser)-dialogboks.

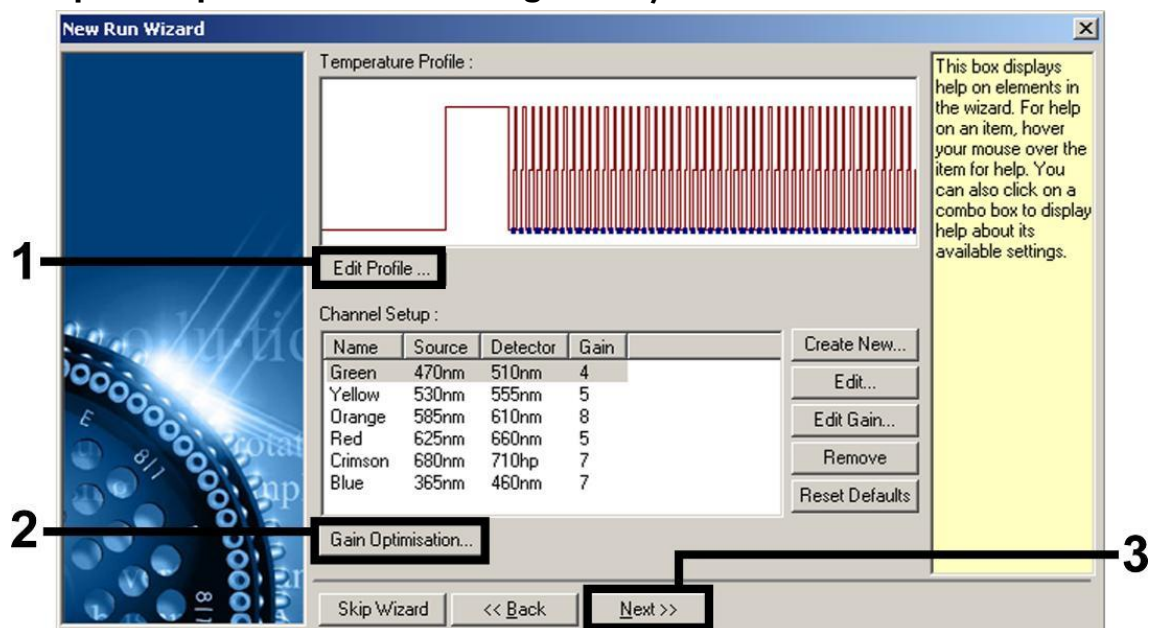
7. Marker 50 for PCR-reaksjonsvolumet og klikk på "Next" (neste) (Figur 2).



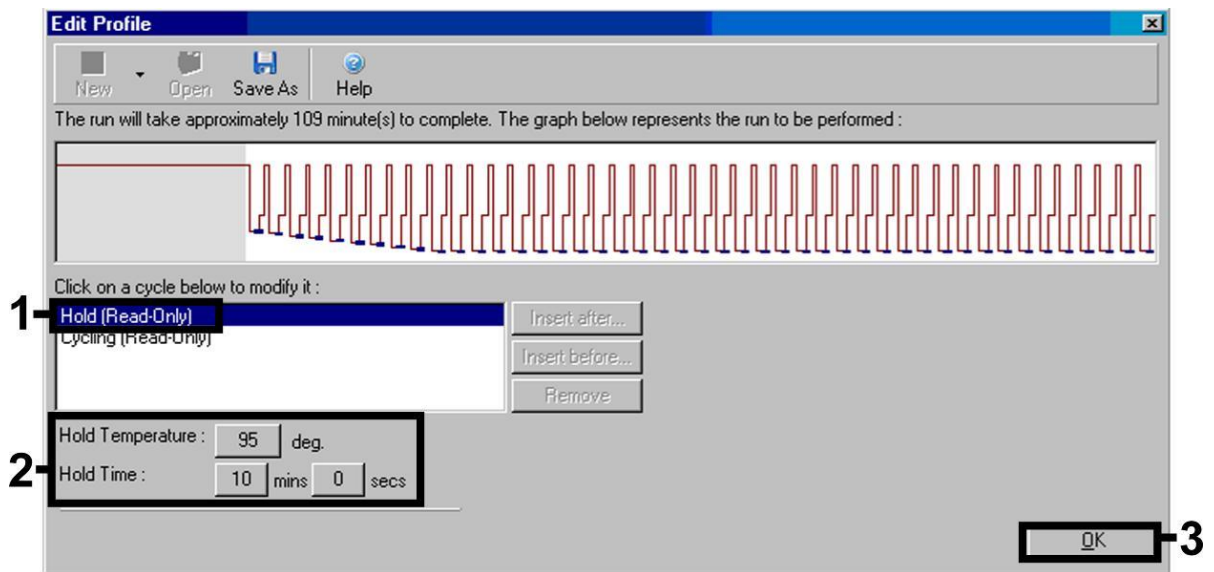
Figur 2. Innstilling av generelle assay-parametrer.

Merk: Selv om det fysiske reaksjonsvolumet er 25  $\mu\text{l}$ , pass på å markere 50 for reaksjonsvolumet i Rotor-Gene softwaren.

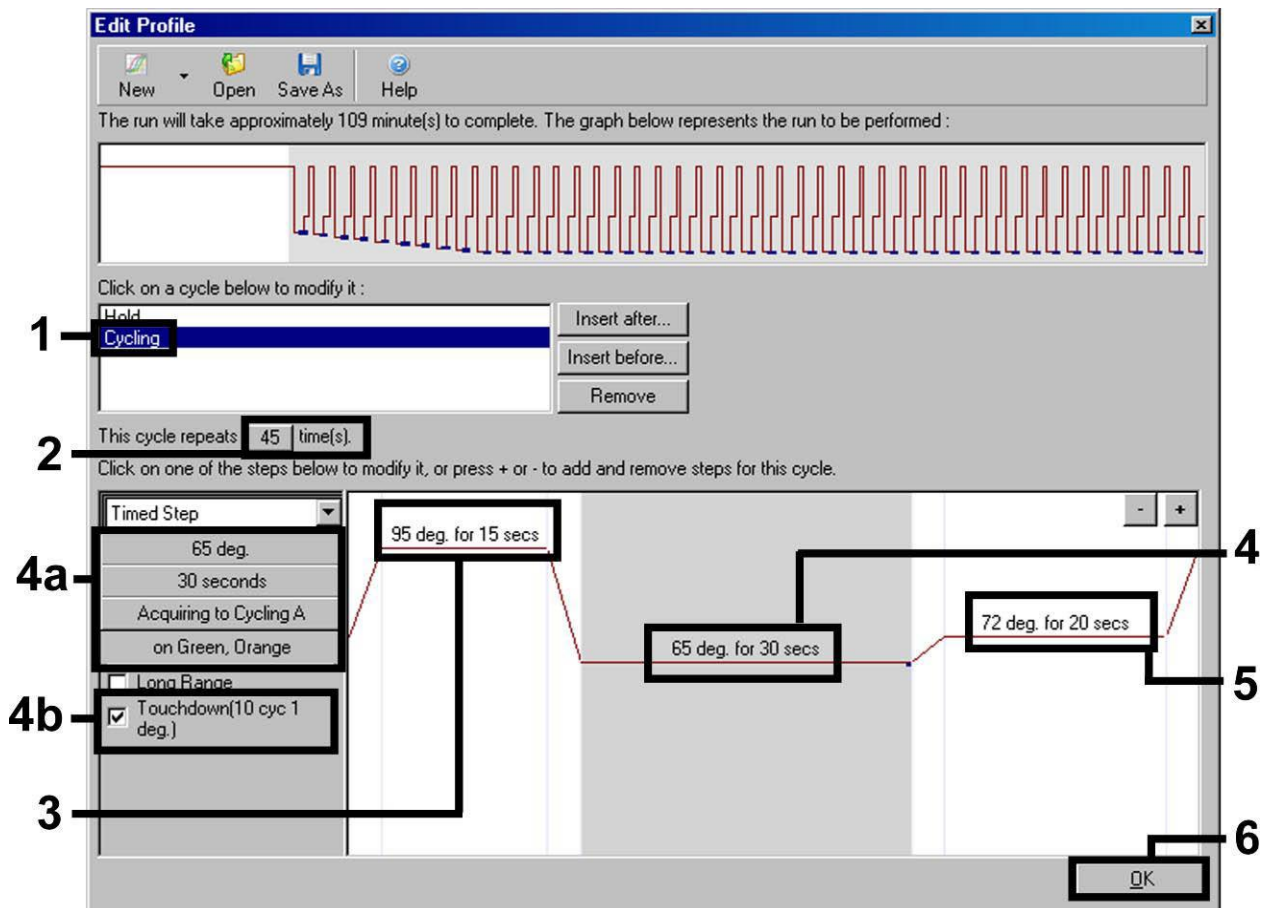
8. Klikk på "Edit Profile" (rediger profil)-knappen i neste "New Run Wizard" (ny kjøring-veiviser)-dialogboks (figur 3), og programmer temperaturprofilen som vist i figur 3–5).



Figur 3. Redigering av profilen.



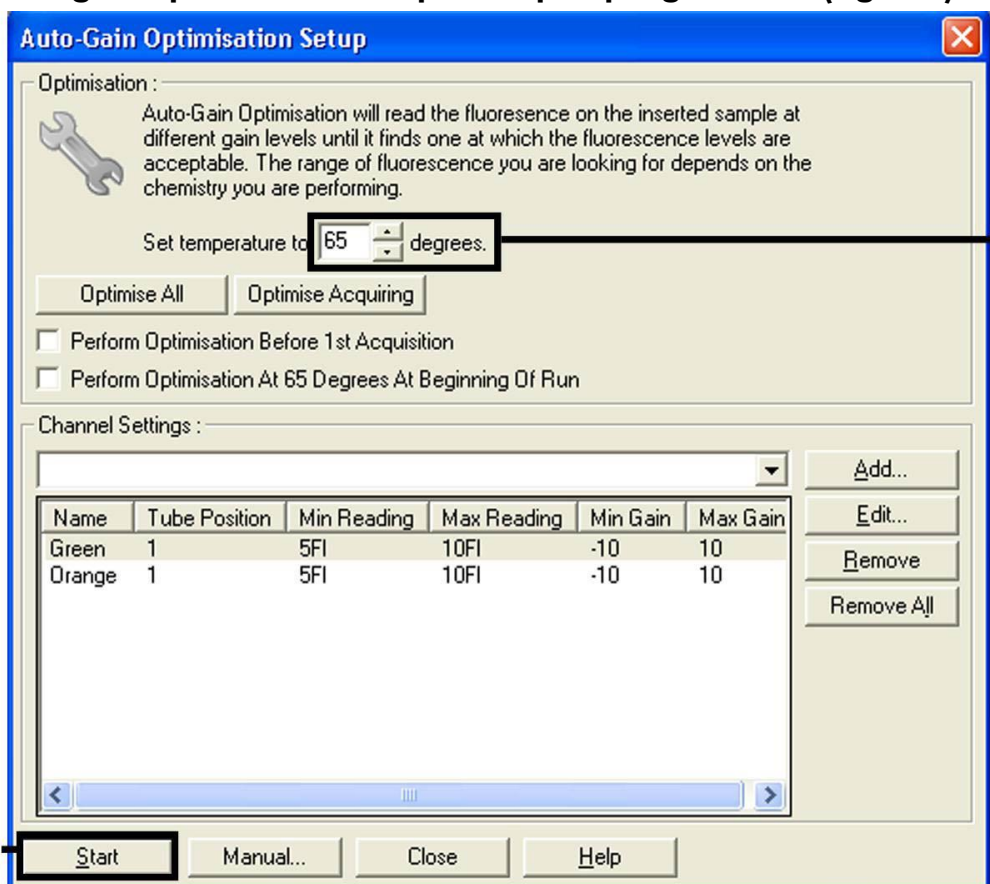
Figur 4. Initiell aktivering av varmstart-enzymet.



Figur 5. Amplifikasjon av DNA. Pass på å aktivere touchdown-funksjonen for 10 sykluser i annealing-trinnet.

9. Deteksjons-verdiområdet i fluorescenskanalene må fastslås i henhold til fluorescensintensiteten i PCR-rørene. Klikk på "Gain Optimisation" (forsterkning-optimalisering) i "New Run Wizard" (ny kjøring-veiviser)-dialogboksen (se Figur 3) for å åpne "Auto-Gain

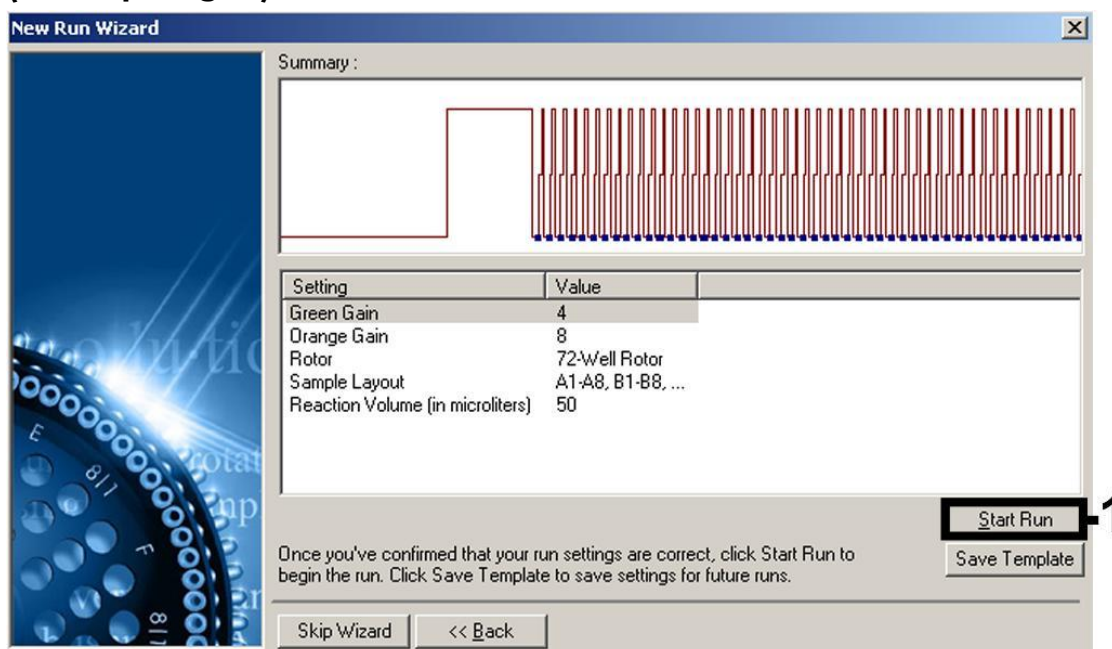
**Optimisation Setup” (auto-forsterkning-optimaliseringsoppsett)-dialogboks. Sett kalibreringstemperaturen til 65 for å tilpasse annealing-temperaturen i amplifikasjonsprogrammet (figur 6).**



**Figur 6. Justering av fluorescenskanalens sensibilitet.**



10. Forsterknings-(gain)-verdiene fastslått av kanalkalibreringen lagres automatisk og står oppført i siste menyvindu til programmeringsprosedyren (Figur 7). Klikk på "Start Run" (start kjøringen).



Figur 7. Kjøringen starter.

## Tolking av resultater

### Kvantitering

De vedlagte kvantiteringsstandardene (BK Virus RG QS 1–4) behandles som forhåndsrensede prøver og samme volum tas i bruk (15  $\mu$ l). For å generere en standardkurve på Rotor-Gene Q-instrumenter skal alle 4 kvantiteringsstandarder brukes og defineres i "Edit Samples" (rediger prøver)-dialogboksen som standarder med de spesifiserte konsentrasjonene (se instrument-brukerhåndboken).

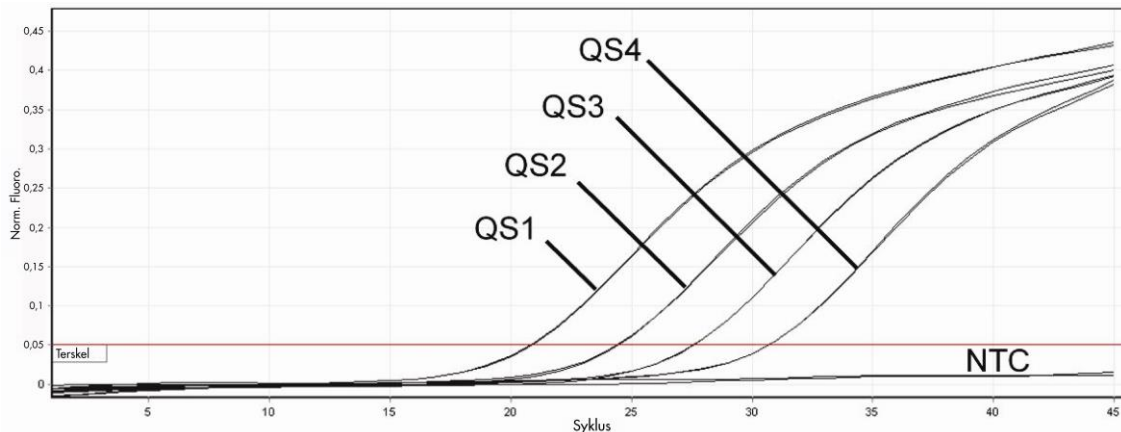
**Merk:** Kvantiteringsstandarder defineres som kopier/ $\mu$ l. Det må anvendes følgende ligning for å konvertere de fastslåtte verdiene ved bruk av standardkurve til kopier/ml av prøvemateriale:

$$\text{Resultat (kopier/ml)} = \frac{\text{Resultat (kopier/\mu l)} \times \text{elueringsvolum (\mu l)}}{\text{Prøvevolum (ml)}}$$

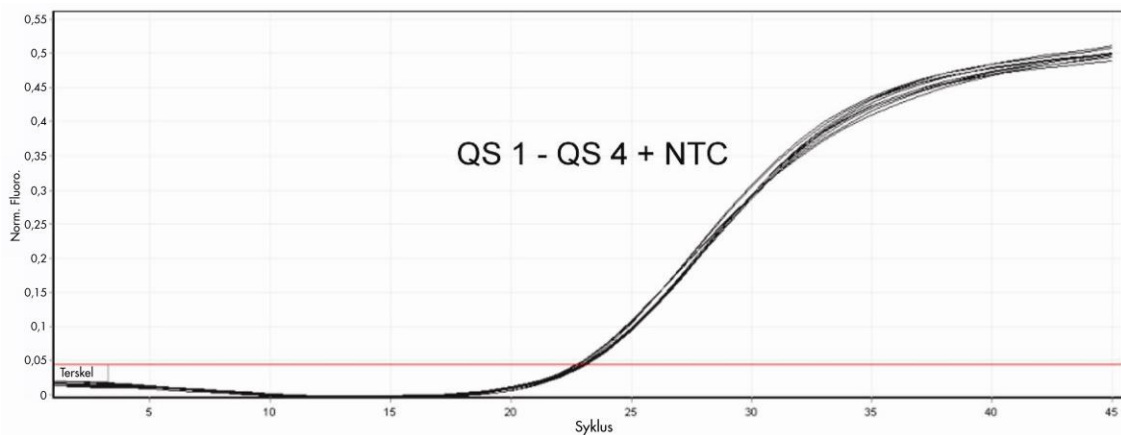
Av prinsipp skal det innledende prøvevolumet legges inn i ovennevnte ligning. Dette må tas i betraktning når prøvevolumet har blitt endret før nukleinsyren ekstraheres (f.eks. volumet ble redusert pga. sentrifugering eller økt pga. at det ble tilføyelser til påkrevd volum for isolering).

## Resultater

Eksempler på positive og negative PCR-reaksjoner angis i figur 8 og figur 9.



**Figur 8. Deteksjon av kvantiteringsstandarder (BK Virus RG QS 1–4) i fluorescenskanal Cycling Green. NTC: Ingen templat-kontroll (negativ kontroll).**



**Figur 9. Deteksjon av den interne kontrollen (IC) i fluorescenskanal Cycling Orange med simultan amplifikasjon av kvantiteringsstandardene (BK Virus RG QS 1–4). NTC: Ingen templat-kontroll (negativ kontroll).**

**Et signal detekteres i fluorescenskanal Cycling Green.  
Resultatet av analysen er positiv: prøven inneholder BK-virus-DNA.**

I dette tilfellet er deteksjonen av et signal i Cycling Orange-kanalen unnnværlig, da de høye innledende konsentrasjonene av BK-virus-DNA (positivt signal i Cycling Green-kanalen) kan føre til et redusert eller fraværende fluorescenssignal i den interne kontrollen i Cycling Orange-kanalen (konkurransen).

**I fluorescenskanal Cycling Green er intet signal detektert. Et signal fra den interne kontrollen i Cycling Orange-kanalen vises på samme tid.**

**BK-virus-DNA er ikke detektert i prøven. Den kan betraktes som negativ.**

Ved negativ BK-virus-PCR, utelukker det detekterte signalet i den interne kontrollen muligheten for PCR-inhibisjon.

**Intet signal er detektert i Cycling Green- eller Cycling Orange-kanalene.**

**Ingen resultater kan konkluderes.**

Informasjon om feilkilder og tilsvarende løsning finnes i "Feilsøkingsveiledning", under.

## Feilsøkingeveiledning

Feilsøkingeveiledningen kan være til hjelp i å løse evt. problemer som kan oppstå. For mer informasjon, se også Ofte stilte spørsmål-siden ved vårt Teknisk støtte senter: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Vitenskapsmennene og -kvinnene ved QIAGENS tekniske service er alltid beredt til å svare alle de spørsmål du måtte ha om informasjonen eller protokollene i denne håndboken eller om prøve- og assayteknologier (for kontaktinformasjon, se baksiden eller besøk [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Kommentarer og forslag

---

#### Intet signal med positive kontroller (BK Virus RG QS 1–4) i fluorescenskanal Cycling Green

- |  |   |
|--|---|
| a) Valgt fluorescenskanal for PCR-analyse oppfyller ikke protokollen   | For dataanalysen velg fluorescenskanal Cycling Green for analytisk BK-virus-PCR og fluorescenskanal Cycling Orange for internkontroll av PCR. |
| b) Feil programmering av temperaturprofilen for Rotor-Gene-instrument  | Sammenlign temperaturprofilen med protokollen. Se "Protokoll: PCR og dataanalyse", side 10.   |
| c) Feil konfigurering av PCR   | Kontroller dine arbeidstrinn ved hjelp av pipetteringsskjemaet og gjenta PCR hvis nødvendig. Se "Protokoll: PCR og dataanalyse", side 10.     |
| d) Oppbevaringsforholdene for en eller flere kit-komponenter var ikke i samsvar med anvisningene angitt i "Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden. og håndtering av reagenser" (side Fehler! Textmarke nicht definiert.) | Kontroller reagensenes oppbevaringsforhold og utløpsdato (se kitets etikett) og bruk et nytt kit hvis nødvendig.                              |
| e) <i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit er utløpt  | Kontroller reagensenes oppbevaringsforhold og utløpsdato (se kitets etikett) og bruk et nytt kit hvis nødvendig.                              |

## Kommentarer og forslag

---

**Svakt eller intet signal i den interne kontrollen til en negativ plasma- eller urinprøve som har gjennomgått rensing ved hjelp av *artus BK Virus RG PCR Kit* i fluorescenskanal *Cycling Orange* og samtidig fravær av et signal i *Cycling Green*-kanalen**

- a) PCR-forholdene oppfyller ikke protokollen      Kontroller PCR-forholdene (se ovenfor) og gjenta PCR med korrigerte innstillinger, hvis nødvendig.
- b) PCR var inhibert      Pass på å bruke den anbefalte isoleringsmetoden og følg nøyaktig produsentens anvisninger.
- c) DNA ble tapt under ekstrahering

**Hvis den interne kontrollen ble ekstraheringen, kan et den interne kontrollen indikere under ekstraheringen. Pass på anbefalte isoleringsmetoden (se "Oppbevaring og håndtering av reagenser**

Komponentene i *artus BK Virus PCR Kit* skal oppbevares ved 2–8 °C. De er stabile til utløpsdatoen angitt på etiketten. Gjentatt tining og frysing (> 2 x) skal unngås da dette kan redusere assayets sensibilitet. Hvis reagensene kun skal brukes periodisk, skal de fryses i alikvoter. Oppbevaring ved 2–8 °C skal ikke overskride en 5-timers periode.

### Prosedyre

DNA-isolasjon", side 8) og følg nøyaktig produsentens anvisninger.

## Kommentarer og forslag

---

- d) Oppbevaringsforholdene for en eller flere kit-komponenter var ikke i samsvar med anvisningene angitt i "Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden. og håndtering av reagenser" (side Fehler! Textmarke nicht definiert.)
- Kontroller reagensenes oppbevaringsforhold og utløpsdato (se kitets etikett) og bruk et nytt kit hvis nødvendig.
- e) *artus* BK Virus RG PCR Kit er utløpt
- Kontroller reagensenes oppbevaringsforhold og utløpsdato (se kitets etikett) og bruk et nytt kit hvis nødvendig.

### Signaler med de negative kontrollene i fluorescenskanal Cycling Green i analytisk PCR

- a) Det oppsto kontaminasjon under prepareringen av PCR
- Gjenta PCR med nye reagenser i replikater.  
Hvis mulig, lukk PCR-rørene rett etter tilsetning av prøven som skal testes.  
Pass på å pipettere de positive kontrollene sist.  
Pass på at arbeidsplassen og instrumentene dekontamineres ved regelmessige intervaller.
- b) Det oppsto kontaminasjon under ekstrahering
- Gjenta ekstraheringen og PCR av prøven som skal testes med nye reagenser.  
Pass på at arbeidsplassen og instrumentene dekontamineres ved regelmessige intervaller.

## Kvalitetskontroll

I henhold til QIAGENs ISO-sertifiserte kvalitetsstyringssystem, testes hvert parti av *artus* BK Virus RG PCR Kit mot forhåndsfastsatte spesifikasjoner for å sikre ensartet produktkvalitet.

## Produktets bruksbegrensninger

Produktet skal kun brukes av personell som er spesielt instruert og opplært i in vitro diagnostiske prosedyrer.

Det kreves streng overholdelse av brukerhåndboken for optimale PCR-resultater.

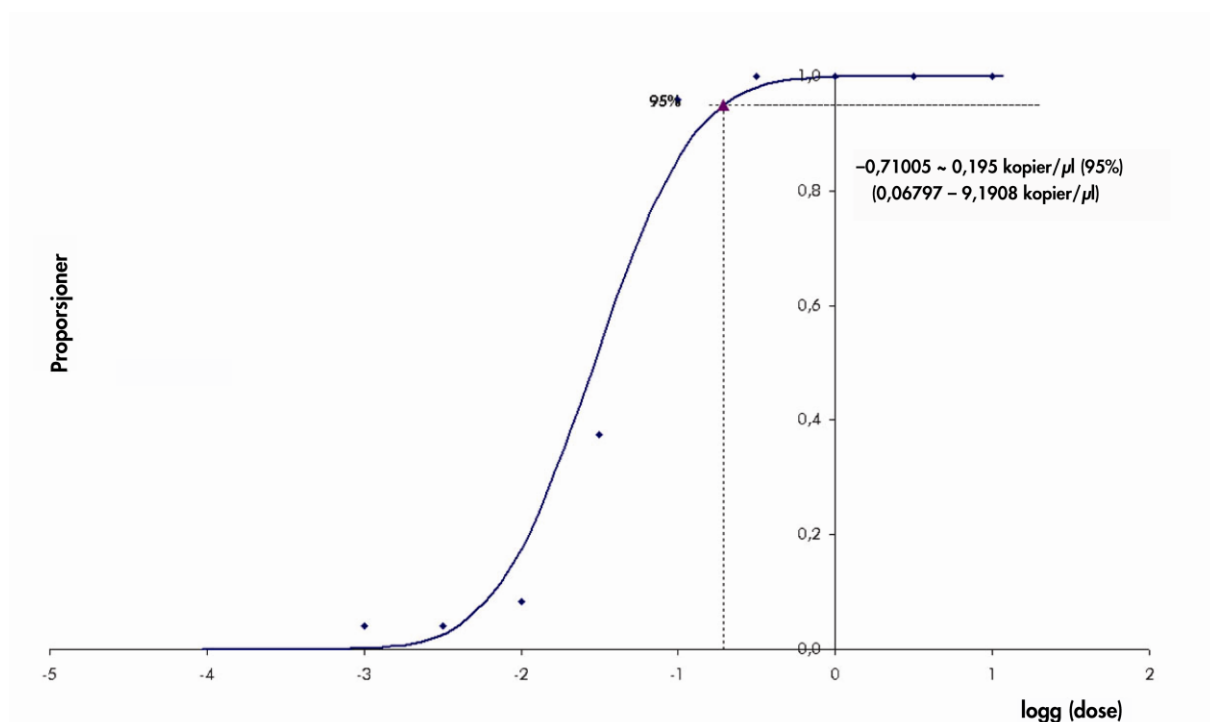
Det bør utvises påpasselighet mht. utløpsdatoer trykt på esken og etikettene til alle komponenter. Ikke bruk utløpte komponenter.

Selv om det er sjelden, kan mutasjoner i de svært konserverte regionene av det virale genomet som dekkes av kitets primere og/eller probe føre til underkvantitering eller unnlattelse av å detektere viruset i disse tilfellene. Validiteten og ytelsen til assayutformingen revideres ved jevne mellomrom.

## Ytelsesegenskaper

### Analytisk sensibilitet

For å fastslå den analytiske sensibiliteten til *artus* BK Virus RG PCR Kit, ble det utarbeidet en standard fortyningsserie fra 10 til nominell 0,001 kopiekvivalenter/ $\mu\text{l}$  som ble analysert på Rotor-Gene 6000 i kombinasjon med *artus* BK Virus RG PCR Kit. Testingen ble utført på 3 forskjellige dager med 8 replikater. Resultatene ble fastslått av en probit-analyse. En grafisk illustrasjon av probit-analysen på Rotor-Gene 6000 vises i figur 10. Den analytiske deteksjonsbegrensningen av *artus* BK Virus RG PCR Kit i kombinasjon med Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 er 0,195 kopier/ $\mu\text{l}$  ( $p = 0,05$ ). Dette betyr at 0,195 kopier/ $\mu\text{l}$  kan detekteres med 95 % sannsynlighet.



**Figur 10. Probit-analyse: BK Virus (Rotor-Gene 6000).** Analytisk sensibilitet til *artus* BK Virus RG PCR Kit på Rotor-Gene 6000.

## Spesifisitet

Spesifisiteten til *artus* BK Virus PCR Kit sikres først og fremst ved valget av primere og sonder, så vel som valget av strenge reaksjonsforhold. Primerne og sondene ble undersøkt for mulige homologier med alle publiserte sekvenser i genbanker ved hjelp av sekvenssammenlignings-analyse. Detekterbarheten til alle relevante stammer blir på denne måten sikret av en database-opprettning og av en PCR-kjøring på Rotor-Gene-instrumenter med følgende stammer (se tabell 4).

**Tabell 4. Testing av de relevante stammenes spesifisitet**

<b>Virus</b>	<b>Stamme</b>	<b>Kilde</b>	<b>BK-virus (Cycling Green)</b>	<b>Internkontroll (Cycling Orange)</b>
BK-virus	Dunlop	ATCC*	+	+
BK-virus	Gardner	ATCC	+	+
BK-virus	AB269822	Geneart	+	+
BK-virus	S72390	Geneart	+	+

\* American Type Culture Collection.

Dessuten ble spesifisiteten validert med 30 forskjellige BK-virus negative plasmaprøver. Disse genererte ingen signaler med BK-virus-spesifikke primere og sonder, dette inkluderes i BK Virus RG Master.

En potensiell kryssreaktivitet av *artus* BK Virus RG PCR Kit ble testet ved hjelp av kontrollgruppen angitt i tabell 2. Ingen av disse testede patogenene har vært reaktive. Ingen kryssreaktiviteter oppsto med blandete infeksjoner.



**Tabell 5. Testing av kitets spesifisitet med potensielt kryssreaktive patogener**

<b>Kontrollgruppe</b>	<b>BK-virus (Cycling Green)</b>	<b>Internkontroll (Cycling Orange)</b>
Cytomegalovirus	–	+
Epstein-Barr virus	–	+
Humant herpesvirus 1 (herpes simplex virus 1)	–	+
Humant herpesvirus 2 (herpes simplex virus 2)	–	+
Humant herpesvirus 3 (varicella-zoster virus)	–	+
Humant herpesvirus 6	–	+
JC-virus	–	+
Apevirus 40	–	+
<i>Candida albicans</i>	–	+

## Nøyaktighet

Nøyaktighetsdata for *artus* BK Virus RG PCR Kit ble samlet via Rotor-Gene-instrumenter og tillater fastsettelse av assayets totalvarians. Totalvariansen består av intra-assay variabilitet (variabilitet av mangfoldige prøveresultater av samme konsentrasjon innenfor et eksperiment), inter-assay variabiliteten (variabiliteten av mangfoldige resultater i assayet generert på forskjellige instrumenter av samme type utført av forskjellige operatører i et laboratorium) og inter-parti variabiliteten (variabiliteten i assayets mangfoldige resultater ved bruk av ulike partier). Dataene ble brukt til å beregne standardavviket, variansen og varianskoeffisienten for den patogenspesifikke og internkontroll PCR-en.

Nøyaktighetsdata for *artus* BK Virus RG PCR ble samlet ved hjelp av kvantiteringsstandarder med laveste konsentrasjon (QS 4;  $1 \times 10^1$  kopier/ $\mu$ l). Testingen ble utført med 8 replikater. Nøyaktighetsdataene ble beregnet på grunnlag av amplifikasjonskurvenes  $C_T$ -verdier ( $C_T$ : terskelsyklus, se tabell 6). På grunnlag av disse resultatene utgjør den totale statistiske spredningen av en prøve med den nevnte konsentrasjonen 2,11 % ( $C_T$ ) og 3,59 % ( $C_T$ ) for

deteksjon av den interne kontrollen. Disse verdiene er basert på helheten av alle enkeltverdiene av de fastslåtte variabilitetene.

**Tabell 6. Nøyaktighetsdata på grunnlag av C<sub>T</sub>-verdier**

	C <sub>T</sub> -verdi	Standard-avvik	Variasjonskoeffisient (%)
Intra-assay variabilitet: BK Virus RG QS 4	29,45	0,17	0,56
Intra-assay variabilitet: Internkontroll	24,31	0,12	0,49
Inter-assay variabilitet: BK Virus RG QS 4	29,42	0,25	0,85
Inter-assay variabilitet: Internkontroll	23,30	0,77	3,30
Inter-parti variabilitet: BK Virus RG QS 4	30,31	0,64	2,10
Inter-parti variabilitet: Internkontroll	22,53	0,40	1,78
Totalvarians: BK Virus RG QS 4	29,80	0,63	2,11
Totalvarians: Internkontroll	23,12	0,83	3,59

## Robusthet

**Bekreftet robusthet brukes til å fastslå samlet PCR Kit. 30 BK-virus negative prøver ble tilsatt 1 virus kontroll-DNA (ca. femfoldig konsentrasjon av sensibilitetsbegrensningen). Etter ekstrahering ved (se "Oppbevaring og håndtering av reagenser**

Komponentene i *artus* BK Virus PCR Kit skal oppbevares ved -15 °C til -30 °C og er stable til oppbevaring og bruk på sikkerhet. Gjennomføring og frysing (> 2 x) skal unngås da dette kan redusere assayets sensibilitet. Hvis reagensene kun skal brukes periodisk, skal de fryses i alikvoter. Oppbevaring ved 2–8 °C skal ikke overskride en 5-timers periode.

## **Prosedyre**

DNA-isolasjon", side 9), ble disse prøvene analysert med *artus* BK Virus RG PCR Kit. Feilraten for alle 30 prøver var 0 %. Dessuten ble robustheten til den interne kontrollen vurdert ved rensing og analyse av 30 BK-virus negative prøver. Total feilrate var 0 %. Inhibisjoner ble ikke observert. Dermed er robustheten for *artus* BK Virus RG PCR Kit  $\geq 99$  %.

## **Reproduserbarhet**

Data for reproduserbarheten tillater regelmessig ytelsesvurdering av *artus* BK Virus RG PCR Kit så vel som en effektivitetssammenligning med andre produkter. Disse dataene skaffes via deltakelse i etablerte programmer som måler laboratorieteknikernes kyndighet.

## **Diagnostisk evaluering**

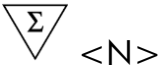











*artus* BK Virus RG PCR Kit gjennomgår for tiden en rekke evalueringsstudier.

## Referanser

QIAGEN vedlikeholder en stor, oppdatert online database med vitenskapelige publikasjoner som bruker QIAGEN-produkter. Omfattende søkealternativer lar deg finne artiklene du trenger, enten med et vanlig nøkkelordsøk eller ved å spesifisere anvendelsen, forskningsområdet, tittel, osv.

For en komplett liste med referanser, besøk QIAGENS referansedatabase online på [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp) eller ta kontakt med QIAGEN teknisk service eller din lokale forhandler.

## Symboler

	Inneholder reagenser for <N> tester
	Bruk innen
	In vitro diagnostisk medisinsk utstyr
	Katalognummer
	Partinummer
	Materialenummer
	Komponenter
	Inneholder
	Nummer
	Artikkelnummer
	Temperaturbegrensninger
	Lovlig produsent



Se informasjon i håndboken

## Kontaktinformasjon

For teknisk assistanse og mer informasjon, besøk v rt Technical Support Center (tekniske støttesenter) på [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) eller ring en av våre QIAGEN tekniske serviceavdelinger eller lokale forhandlere (se baksiden eller besøk [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Bestillingsinformasjon

Produkt	Innhold	Kat.nr.
<i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (24)	For 24 reaksjoner: Hovedblanding, magnesiumløsning, 4 kvantiteringsstandarder, internkontroll, vann (PCR-grad)	4514263
<i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (96)	For 96 reaksjoner: Hovedblanding, magnesiumløsning, 4 kvantiteringsstandarder, internkontroll, vann (PCR-grad)	4514265
<b>EASYartus BK Virus RG PCR Kits — for integrert automatisert prøverensing og patogen deteksjon, i fullt samsvar med CE-IVD</b>		
EASYartus BK Virus RG PCR Kit 1	For 48 virale nukleinsyre-prepareringer og 24 assayer: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 1 x <i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (24)	EA11423
EASYartus BK Virus RG PCR Kit 2	For 48 virale nukleinsyre-prepareringer og 48 assayer: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 2 x <i>artus</i> BK Virus RG PCR Kit (24)	EA11424
<b>EZ1 DSP Virus Kit – for automatisert, simultan rensing av viral DNA og RNA fra 1–14 human plasma-, serum- eller CSF-prøver</b>		
EZ1 DSP Virus Kit (48)	For 48 virale nukleinsyre-prepareringer: ferdigfylte reagenspatroner, engangspissholdere, engangs-filterspisser, prøverør, elusjonsrør, buffere, bærer-RNA	62724
<b>Rotor-Gene Q MDx og tilbehør</b>		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Sanntids PCR-sykler med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød), bærbar datamaskin, software, tilbehør: inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring ikke inkludert	9002022

<b>Produkt</b>	<b>Innhold</b>	<b>Kat.nr.</b>
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Sanntids PCR-sykler med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød), bærbar datamaskin, software, tilbehør: inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring	9002023
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Sanntids PCR-sykler og "smelteanalysator med høy oppløsning"-analysator med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød) pluss HRM-kanal, bærbar datamaskin, software, tilbehør: inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring ikke inkludert.	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Sanntid PCR-sykler og "smelteanalysator med høy oppløsning"-analysator med 5 kanaler (grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød) pluss HRM-kanal, bærbar datamaskin, software, tilbehør: inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring.	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Sanntids PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød), bærbar datamaskin, software, tilbehør: inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring ikke inkludert	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Sanntid PCR-instrument med 6 kanaler (blå, grønn, gul, oransje, rød, karmosinrød), innbefattet bærbar datamaskin, software, tilbehør; inkluderer 1-års garanti på deler og arbeid, installasjon og opplæring.	9002043
Loading Block 72 x 0,1 ml Tubes	Aluminiumsblokk for manuell reaksjonsoppsett med enkelkanal-pipett i 72 x 0,1 ml rør	9018901
Loading Block 96 x 0,2 ml Tubes	Aluminiumsblokk for manuell reaksjonsoppsett i standard 8 x 12 oppstilling med 96 x 0,2 ml rør	9018905

<b>Produkt</b>	<b>Innhold</b>	<b>Kat.nr.</b>
Strip Tubes and Caps, 0,1 ml (250)	250 remser med 4 rør og hetter for 1000 reaksjoner	981103
Strip Tubes and Caps, 0,1 ml (2500)	10 x 250 remser med 4 rør og hetter for 10 000 reaksjoner	981106
PCR Tubes, 0,2 ml (1000)	1000 tynnveggede rør for 1000 reaksjoner	981005
PCR Tubes, 0,2 ml (10 000)	10 x 1000 tynnveggede rør for 10 000 reaksjoner	981008

For oppdatert lisensieringsinformasjon og produkt-spesifikke fraskrivelser, se henholdsvis QIAGEN kitets håndbok eller brukerhåndbok. QIAGEN kit-håndbøker og brukerhåndbøker er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan fås fra QIAGEN teknisk service eller din lokale forhandler.



Denne siden er med hensikt ubeskrevet

Denne siden er med hensikt ubeskrevet

Kjøp av dette produktet lar kjøperen bruke det til å utføre diagnostiske tjenester for human in vitro diagnostikk. Det gis herved ingen generell patent eller annen lisens av hvilket som helst slag bortsett fra denne spesifikke bruksretten for kjøp.

Varemerker: QIAGEN®, artus®, EASYartus®, EZ1®; Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

#### **Begrenset lisensavtale**

Bruk av dette produktet betyr at kjøperen eller brukeren av *artus BK Virus RG PCR Kit* samtykker i følgende betingelser:

1. *artus BK Virus RG PCR Kit* kan utelukkende brukes i henhold til *artus BK Virus RG PCR Kit-håndbok* og anvendes kun med komponentene inkludert i kitet. QIAGEN gir ingen lisens under dets åndsverk til å bruke eller inkorporere komponentene inkludert i dette kitet med andre komponenter som ikke er inkludert i dette kitet bortsett fra det som beskrives i *BK Virus RG PCR Kit-håndbok* og i ytterligere protokoller tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
2. Andre enn de uttrykkelige nevnte lisensene, garanterer ikke QIAGEN at dette kitet og/eller dets bruk ikke krenker tredjeparts rettigheter.
3. Dette kitet og dets komponenter er lisensiert for engangsbruk og kan ikke brukes, renoveres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesielt alle andre lisenser, uttrykkelige eller underforståtte, unntatt dem som uttrykkelig nevnes.
5. Kjøperen og brukeren av kitet samtykker i at de ikke vil ta eller tillate noen andre å ta evt. skritt som kan lede til eller fasilitere tiltak som forbyr ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbudene i denne begrensede lisensavtalen ved enhver domstol, og skal bli tilkjent erstatning for alle dets forskningskostnader og rettslige kostnader, innbefattet advokathonorarer, ved ethvert søksmål for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller dets opphavsrett forbundet med kitet og/eller dets komponenter.

For oppdaterte lisensbetingelser, se [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2009/2014 QIAGEN, alle rettigheter forbeholdt.

**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)

