

Onar®EUB

Eubacteria Detection Kit for conventional PCR with internal inhibition control

Inhaltsverzeichnis

1. Reagenzien und Materialien	2
1.1 Inhalt der Packung	2
1.2 Lagerung und Stabilität der Reagenzien	2
1.3 Benötigte Geräte und Materialien	2
2. Anwendungsgebiete und Testprinzip	3
3. Durchführung	3
3.1 Gewinnung des Probenmaterials	3
3.2 Rehydratisierung der Reagenzien	4
3.3 Programmierung des Thermocyclers	4
3.4 Ansatz des PCR-Reaktionsmixes (Mastermix)	4
3.5 Agarosegel-Lauf	5
3.6 Gelauswertung	5
Übersicht des Testablaufs	7
Anlage	14

Contents

1. Reagents and Materials	8
1.1 Kit Components	8
1.2 Stability and Storage	8
1.3 Supplemental Requirements	8
2. Application and Test Principle	9
3. Test Protocol	9
3.1 Preparation of Sample Material	9
3.2 Rehydration of the Reagents	10
3.3 Thermal Profile	10
3.4 The PCR Mastermix	10
3.5 Agarose Gel Run	11
3.6 Gel Evaluation	11
Scheme of the protocol	13
Appendix	14

1. Reagenzien und Materialien

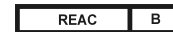
1.1 Inhalt der Packung

Arbeitsanleitung

Primer/Nucleotide Mix

Primer und Desoxynukleotidtriphosphate dATP, dCTP, dGTP und dUTP; portioniert für 25 Tests, lyophilisiert

roter Verschluss



PCR 10x Reaction Buffer

PCR 10x Reaktionspuffer, 500 µl

blauer Verschluss



Positive Control DNA

DNA-Fragmente des *Bacillus subtilis*-Genoms, mittels PCR hergestellt, nicht infektiös, lyophilisiert

grüner Verschluss



Internal Control DNA

Interne Kontrolle, DNA-Fragmente, mittels PCR hergestellt, nicht infektiös, lyophilisiert

gelber Verschluss



1.2 Lagerung und Stabilität der Reagenzien

Alle Reagenzien werden bei Raumtemperatur versendet und müssen bei +2°C bis +8°C gelagert werden. Häufiges Auftauen und Einfrieren der Reagenzien sollte vermieden werden. Werden wenige Proben regelmäßig getestet, sollten die Kontrollen und der *Primer/Nucleotide Mix* nach dem Auflösen aliquotiert und eingefroren werden. Bei vorschriftsmäßiger Lagerung ist der Kit bis zu dem im *Guarantee Certificate* (online: <http://www.minerva-biolabs.com/>) angegebenen Datum haltbar.

1.3 Benötigte Geräte und Materialien

PCR-Thermocycler und Mineralöl bei Verwendung eines Thermocyclers ohne Heizdeckel

PCR-Reaktionsgefäße

DNA-Elektrophoreseapparatur und Materialien zur Agarosegel-Elektrophorese

Mikrozentrifuge, Mikroliterpipetten und Filterspitzen

deionisiertes, DNA-freies Wasser

DNA-freie Polymerase

Onar®EUB sollte ausschließlich mit EUB-Polymerase durchgeführt werden.

Prinzipiell kann der Kit mit jeder Polymerase durchgeführt werden. Polymerasen verschiedener Hersteller sind häufig mit bakterieller DNA verunreinigt, welche zu falsch-positiven Ergebnissen führt. Daher empfehlen wir ausdrücklich die Verwendung unserer DNA-freien EUB-Polymerase (Bestell-Nr. 54-0100 für 100 Units, Bestell-Nr. 54-0500 für 500 Units).

2. Anwendungsgebiete und Testprinzip

Der Onar®EUB Eubakterien-Detektionskit ist ein Nukleinsäure-Amplifikationstest auf Basis der Polymerase-Kettenreaktion. Die PCR-Methode erlaubt eine schnelle und sensitive Detektion von Eubakterienkontaminationen in biologischen Proben. Mit Onar®EUB sind 52 fg Eubakterien-DNA, entsprechend 12 Eubakterien-Genomen (gültig für *B. subtilis*) pro Probenvolumen, detektierbar. Die mitgelieferten Primer erlauben der EUB-Polymerase die Vervielfältigung eines Abschnitts der 16S rRNA-Region des Eubakteriengenoms. Das amplifizierte PCR-Produkt hat eine Größe von 466-468 bp (eine Ausnahme bildet *Micrococcus luteus* mit 447 bp) und kann direkt im Agarosegel sichtbar gemacht werden. Das gewählte Template ist innerhalb der Eubakterien hochkonserviert. Unter anderem werden folgende Bakterienarten detektiert: *Pseudomonas*, *Actinomyces*, *Escherichia*, *Serratia*, *Porphyromonas*, *Fusobacteria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Enterococcus*, *Mycobacterium*, *Legionella*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus*.

Das Testsystem beinhaltet außerdem eine Interne Kontrolle, die im PCR-Ansatz mitgeführt werden kann. Die Interne Kontrolle liefert in einer erfolgreich durchgeführten PCR ein 210 bp großes Produkt, welches im Agarosegel unterhalb der Bande einer Eubakterien-positiven Probe erscheint.

Onar®EUB ist ausschließlich für Forschungszwecke bestimmt und darf nicht für die klinische Diagnostik eingesetzt werden.

3. Durchführung

3.1 Gewinnung des Probenmaterials

1. Antibiotika können die Eubakterienkonzentration unter die Nachweisgrenze des Testes von $2,4 \times 10^3$ Eubakterien/ml drücken. Daher sollten die Zellen vor dem Test für mindestens eine Passage in Antibiotikafreiem Medium kultiviert werden. Zellkulturüberstände sollten bei 90 bis 100 % Konfluenz getestet werden.
2. Zur Probenvorbereitung ist grundsätzlich eine DNA-Extraktion mit einem handelsüblichen DNA-Extraktionskit (z.B. QIAamp®, Qiagen) empfehlenswert, um Inhibitoren der PCR sicher zu entfernen und einen quantitativen Aufschluss der im Probenmaterial enthaltenen Eubakterien zu erreichen.
3. Die Probe sollte eine Gesamt-DNA-Last von 300 µg/ml nicht überschreiten.
4. Die Lagerung der Extrakte ist bei mindestens –18 °C über einen Zeitraum von einem Jahr möglich.
5. Die hohe Empfindlichkeit der PCR-Methode erhöht die Gefahr falsch-positiver Ergebnisse, z.B. durch Kreuzkontaminationen oder unsauberes Arbeiten. Alle Arbeiten sollten unter Beachtung der geltenden Laborregeln durchgeführt werden.

3.2 Rehydratisierung der Reagenzien

1. Lyophilisate für 5 Sekunden bei 13.000 Umdrehungen/min zentrifugieren
2. Zugabe von deionisiertem, DNA-freiem Wasser
 - Primer/Nucleotide Mix* (roter Deckel, je Portion á 25 Tests) 65 µl
 - Positive Control DNA* (grüner Deckel) 300 µl
 - Internal Control DNA* (gelber Deckel) 300 µl
3. mindestens 5 Minuten bis 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
4. kurz vortexen, erneut für 5 Sekunden bei 13000 Umdrehungen/min zentrifugieren



Nach erfolgter Rehydratisierung müssen die Reagenzien auf Eis gehalten und bei mindestens -18°C gelagert werden.

3.3 Programmierung des Thermocyclers

Die Durchführung der Programmierung Ihres Cyclers entnehmen Sie bitte dem Handbuch des Gerätes.

Programm:

- 1 Zyklus 94°C für 2 min
- 35 Zyklen 94°C für 30 sec
- 55°C für 30 sec
- 72°C für 30 sec
- 1 Zyklus 72°C für 10 min
- auf 4°C bis 8°C abkühlen

3.4 Ansatz des PCR-Reaktionsmixes (Mastermix)

Das Gesamtvolumen des Ansatzes für eine Reaktion beträgt 25 µl. Für jede Testreihe muss eine Negativkontrolle und eine Positivkontrolle mitgeführt werden. Der *10x Reaction Buffer* ist herstellungsbedingt getrübt, diese Eigenschaft beeinflusst das Testergebnis nicht. Der Mastermix wird in einem 1,5 ml-Reaktionsgefäß angesetzt und vorsichtig gemischt.

Pipettierschema für:	1 Reaktion	5 Reaktionen	25 Reaktionen*
Wasser	12,0 µl	60,0 µl	300 µl
<i>10x Reaction Buffer</i> (blauer Deckel)	2,5 µl	12,5 µl	62,5 µl
<i>Primer/Nucleotide Mix</i> (roter Deckel)	2,5 µl	12,5 µl	62,5 µl
<i>Internal Control DNA</i> (gelber Deckel)	2,5 µl	12,5 µl	62,5 µl
EUB-Polymerase (2 U/µl)	0,5 µl	2,5 µl	12,5 µl

*entspricht dem Inhalt eines *Primer/Nucleotide Mix*-Röhrchens

Der Mastermix wird á 20 µl auf die PCR-Reaktionsgefäße verteilt und mit 5 µl deionisiertem Wasser oder Elutionspuffer des DNA-Extraktionskits als Negativkontrolle, bzw. 5 µl Probe oder 5 µl Positivkontrolle (Röhrchen mit grünem Deckel) versetzt. Diese Pipettierreihenfolge sollte eingehalten und die Reaktionsgefäße nach jedem Pipettieren sofort geschlossen werden.

Der Ansatz wird vorsichtig gemischt, kurz zentrifugiert, die Reaktionsgefäße in den Block des Thermocyclers gestellt und das Thermocycler-Programm gestartet.

3.5 Agarosegel-Lauf

- 1,5 %iges Standard-Agarosegel, ca. 5-7 mm dick, mit 5 mm-Kamm
- 5 µl jedes PCR-Reaktionsansatzes, gemischt mit Brom-Phenolblau-Ladepuffer, pro Bahn auftragen (es sollte nur Brom-Phenolblau in geringer Konzentration als Laufmarker verwendet werden)
- Elektrophorese nach 2-3 cm Wegstrecke stoppen (je nach Elektrophoresekammer z.B. nach 20-30 Minuten bei 100 V)

3.6 Gelauswertung

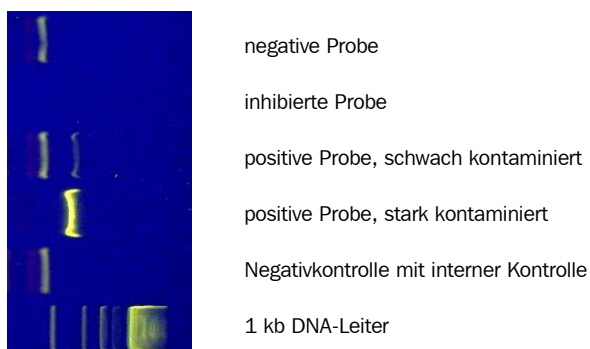
Bei Verwendung der Internen Kontrolle wird eine fehlerfreie PCR durch eine Bande bei 210 bp angezeigt. Bei Zunahme der Konzentration an Eubakterien-DNA ($> 5 \times 10^6$ Partikel/ml) nimmt die Intensität der Internen Kontrolle durch die übermäßige Bildung des Eubakterien-Amplikons ab.

Relevante Amplikongrößen:

Interne Kontrolle	210 bp
Eubakterien	466-468 bp
<i>Micrococcus luteus</i>	447 bp

Ergebnisse einer erfolgreichen PCR:

Negativkontrolle	Bande bei 210 bp
Positivkontrolle	Bande bei 468 bp, aber auch zusätzliche Bande bei 210 bp möglich



Findet bei den Kontrollansätzen keine Amplifikation statt, kann dies folgende Ursachen haben:

- Kontroll-DNA enthaltende Röhrchen wurden vor Rehydratisierung nicht herunter zentrifugiert
- Programmierfehler
- Pipettierfehler

Zur Fehleranalyse sollten zuerst das Thermocycler-Programm sowie das Pipettierschema überprüft werden. Anschließend empfiehlt sich die Durchführung von Probeläufen mit einer Positiv- und einer Negativkontrolle. Bei Verwendung anderer DNA-Polymerasen als der empfohlenen ist zu beachten, dass es zu falsch-positiven Ergebnissen durch DNA-Verunreinigungen in den Polymerasen kommen kann.

Interpretation möglicher Bandenmuster der Proben:

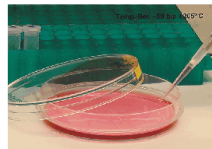
Bande bei 210 bp	negative Probe
Bande bei ca. 467 bp, mit zusätzlicher Bande bei 210 bp	positive Probe mit schwacher Kontamination
starke Bande bei ca. 467 bp	positive Probe mit starker Kontamination
keine Bande	Inhibition der PCR durch Bestandteile in der Probe

Vereinzelt kann es zur Bildung unspezifischer PCR-Produkte kommen, die als schwache, meist diffuse Banden unterschiedlicher Größen im Gel sichtbar werden. Diese Banden, hervorgerufen durch unspezifisches Annealing, bedeuten keine Kontamination, solange sie nicht die oben angegebenen Größen aufweisen. Primerdimere können eine diffuse Bande bei 80-90 bp bilden.

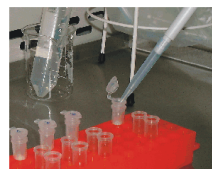
Wurde das Probenmaterial direkt zur Testung eingesetzt, kann es zu einer Inhibition der PCR durch das Probenmaterial gekommen sein. Es muss dann eine DNA-Extraktion mit einem handelsüblichen Extraktionskit durchgeführt und die Probe erneut getestet werden. Im Anhang finden Sie eine Liste von DNA-Extraktionskits, die mit diesem PCR-Kit validiert wurden.

Übersicht des Testablaufs

Probe



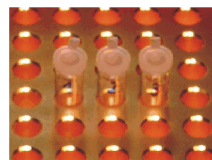
**DNA
Aufreinigung**



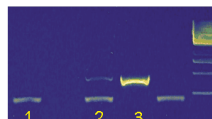
**Vorbereitung
der Reaktion**



PCR



Analyse



1. negative Probe
2. positive Probe, schwach kontaminiert
3. positive Probe stark kontaminiert

1. Reagents and Materials

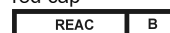
1.1 Kit Components

Instruction manual

Primer/Nucleotide Mix

primer set and deoxynucleotide triphosphates dATP, dCTP, dGTP and dUTP; aliquoted for 25 reactions, lyophilized

red cap



PCR 10x Reaction Buffer

500 µl

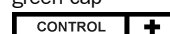
blue cap



Positive Control DNA

DNA-fragment of *Bacillus subtilis* genome, prepared by PCR, non-infectious, lyophilized

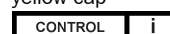
green cap



Internal Control DNA

DNA-fragment prepared by PCR, non-infectious, lyophilized

yellow cap



1.2 Stability and Storage

Kit components are stable during shipping. Upon receipt, store at +2 to +8°C. After rehydration of the *Primer/Nucleotide Mix* and the controls, store below –18°C and avoid repeated freezing and thawing. For repeated testing of low sample numbers controls and *Primer/Nucleotide Mix* should be aliquoted after rehydration. By following these recommendations, the kit is stable until the expiration date stated on the Guarantee Certificate (online: <http://www.minerva-biolabs.com/>).

1.3 Supplemental Requirements

PCR thermal cycler

mineral oil, if required for the particular thermal cycler used

PCR reaction tubes

agarose gel electrophoresis apparatus

micro centrifuge, micropipettes and filtered tips

deionized, DNA-free water

DNA-free Polymerase

Onar®EUB should be performed only with EUB-Polymerase

In general the kit can be performed with any polymerase. However, polymerases of different manufacturers can be contaminated with bacterial DNA leading to false-positive results. Therefore we strictly recommend the use of only DNA-free EUB-Polymerase from Minerva Biolabs (Catalog No. 54-0100 for 100 units or 54-0500 for 500 units).

2. Application and Test Principle

Onar®EUB utilizes the polymerase chain reaction (PCR), thereby providing the highest sensitivity for the detection of eubacteria contamination in cell cultures and other cell culture derived biologicals. Detection requires as little as 52 fg of eubacteria DNA corresponding to 12 eubacteria per sample volume. The primer set is specific to the 16S rRNA coding region in the eubacteria genome. This allows for detection of common airborne contaminants in cell cultures including: *Pseudomonas*, *Actinomyces*, *Escherichia*, *Serratia*, *Porphyromonas*, *Fusobacteria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Enterococcus*, *Mycobacterium*, *Legionella*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus*. Eukaryotic DNA is not amplified by Onar®EUB. Only one protocol is needed for the detection of eubacteria and can be performed within 3 hours.

Onar®EUB also provides internal control DNA, which can be added to the reaction. When running the PCR with the internal control DNA, a successfully executed reaction is indicated by a 210 bp band on the agarose gel.

Onar®EUB is intended for research use only. Not for clinical diagnostics or testing of human samples.

3. Test Protocol

3.1 Preparation of Sample Material

1. Antibiotics can maintain the eubacteria contamination at a level beneath the detection limit of the test (2.4×10^3 eubacteria/ml). Therefore, prior to testing, the cells should be pre-cultured in the absence of antibiotics for at least one passage.
2. DNA extraction with a commercially available DNA extraction kit (e.g. QIAamp®, Qiagen) is always advisable when preparing the samples in order to remove inhibitors of the PCR safely and to lyse eubacteria completely. The obtained DNA extract can be used directly for the Onar®EUB test avoiding inhibition. Please look at the list of tested DNA extraction kits
3. The sample should not contain more than 300 µg/ml DNA.
4. The extract can be stored at a temperature of at least –18 °C for a period of one year.
5. To avoid false positive results, we recommend the use of deionized, DNA-free water, aerosol-preventive filter tips and gloves.

3.2 Rehydration of the Reagents

1. centrifuge tubes with lyophilized components (5 sec at maximum speed)
2. add appropriate amount of deionized, DNA-free water:

<i>Primer/Nucleotide Mix</i> (red cap, per portion of 25 reactions)	65 µl
<i>Positive Control DNA</i> (green cap)	300 µl
<i>Internal Control DNA</i> (yellow cap)	300 µl

3. incubate for 5 minutes at room temperature
4. vortex and centrifuge again



Keep reagents on ice and store below -18°C after rehydration.

3.3 Thermal Profile

The programming process of your cycler is explained in the manual of the instrument.

programme:

1 cycle	94°C for 2 min
35 cycles	94°C for 30 sec
	55°C for 30 sec
	72°C for 30 sec
1 cycle	72°C for 10 min
	cool down to 4°C to 8°C

3.4 The PCR Mastermix

Total volume per reaction is 25 µl. When setting up reactions, calculations should also include positive and negative controls. Pipet mastermix into a 1.5 ml reaction tube and mix gently.

Pipetting schemes for :	1 reaction	5 reactions	25 reactions*
Water	12.0 µl	60.0 µl	300 µl
<i>10x Reaction Buffer</i> (blue cap)	2.5 µl	12.5 µl	62,5 µl
<i>Primer/Nucleotide Mix</i> (red cap)	2.5 µl	12.5 µl	62,5 µl
<i>Internal Control</i> (yellow cap)	2.5 µl	12.5 µl	62,5 µl
EUB-Pol. (2 U/µl)	0.5 µl	2.5 µl	12,5 µl

* the equivalent of the content of one red-capped vial

Aliquot 20 µl of master mix into each PCR reaction tube.

Add 5 µl of DNA-free water to PCR reaction tube as negative control. After pipetting the negative control, the tube must be sealed before proceeding with the samples. Add 5 µl of sample (as described above) to PCR reaction tube per sample being tested. Also pipetting of the samples and sealing the tubes must be completed before proceeding with the positive control (green cap, 5 µl) in order to avoid cross contamination.

3.5 Agarose Gel Run

- 1.5% standard agarose gel, approx. 5-7 mm thick, with 5 mm-comb
- load 5 µl of each PCR reaction, mixed with bromophenol blue loading buffer per lane (only bromophenol blue in a low concentration should be used as a run marker)
- stop electrophoresis after 2-3 cm run distance (depending on the electrophoresis chamber used e.g. run for 20 to 30 minutes at 100 V)

3.6 Gel Evaluation

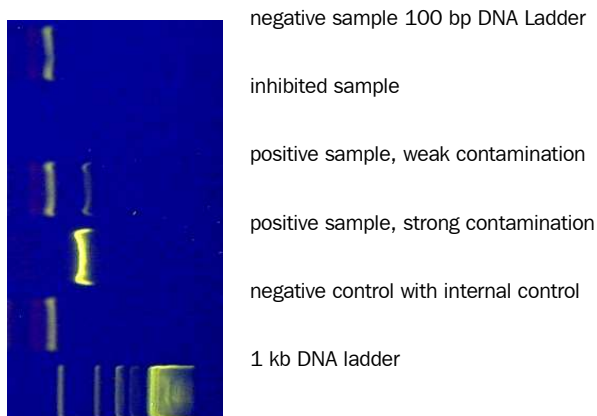
If internal control DNA was used, a distinct 210 bp band should appear in every lane indicating a successfully executed PCR. This band may fade out with increased amounts of amplicons formed, caused by eubacteria DNA loads of $> 5 \times 10^6$ copies/ml. The initial concentration of positive control DNA exceeds 5×10^6 copies/ml in order to account for DNA loss resulting from repeated freezing and thawing.

Relevant amplicon sizes:

Internal control	210 bp
Eubacteria	466-468 bp
<i>Micrococcus luteus</i>	447 bp

Results of a successfully performed PCR:

negative control	band at 210 bp
positive control	band at 468 bp, possibly additional band at 210 bp



No amplification of control DNA may be due to the following reasons:

- control DNA tubes have not been spun down before rehydration
- programming mistake
- pipetting mistake

Before rerun of a negative and a positive control please check thermocycler protocol and pipetting scheme. When using polymerases other than the EUB-Polymerase, please be aware that false-positive results may occur due to DNA contaminants of the polymerase used.

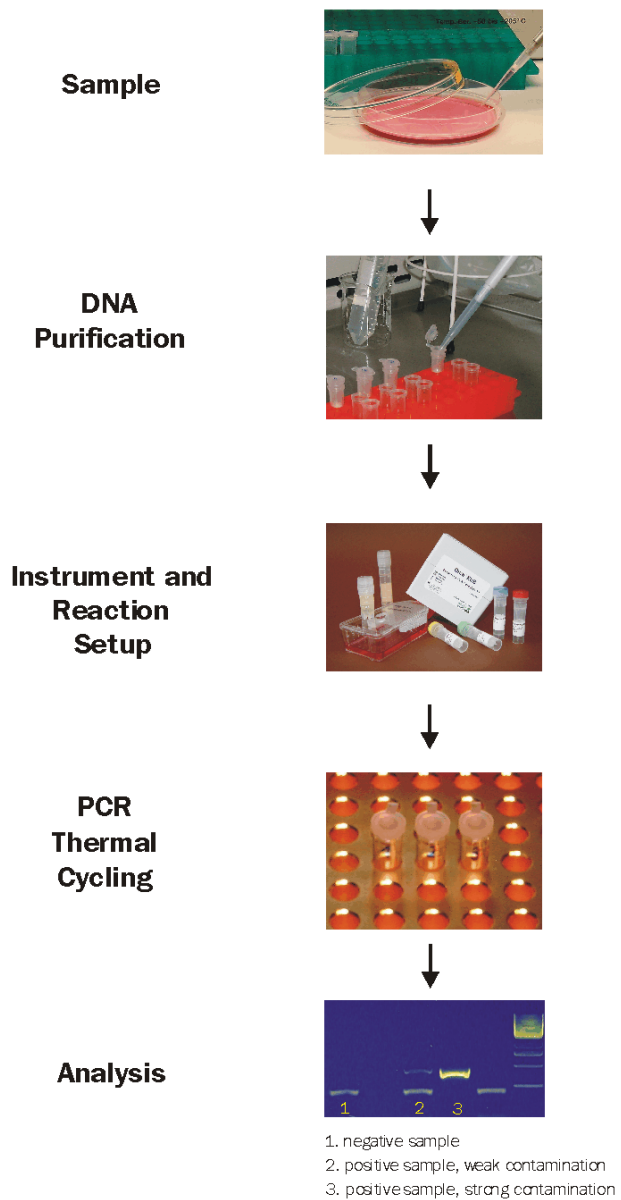
Interpretation of possible band patterns:

band at 210 bp	negative sample
band at approx. 467 bp and at 210 bp	eubacteria-positive sample with weak contamination
strong band at approx. 467 bp	eubacteria-positive sample, highly contaminated
no band	PCR inhibition

With Onar®EUB designed for high sensitivity and therefore prone to nonspecific annealing, bands of various length that are less intensive can be produced, but do not indicate positive results. Possible primer self-annealing produces another band of 80-90 bp in length, but also does not affect the precision or results of the test.

If the PCR of a sample is inhibited, PCR inhibitors can easily be removed from the sample by performing a DNA extraction with a commercially available kit. A list of recommended DNA extraction kits is provided in the appendix.

Scheme of the protocol



Appendix

Limited Product Warranty

This warranty limits our liability for replacement of this product. No warranties of any kind, express or implied, including, without limitation, implied warranties of merchantability or fitness for a particular purpose, are provided. Minerva Biolabs shall have no liability for any direct, indirect, consequential, or incidental damages arising out of the use, the results of use, or the inability to use this product.

Notice to Purchaser

This product is optimized for use in the Polymerase Chain Reaction („PCR”) covered by patents owned by Hoffmann-La Roche, Inc., and F. Hoffmann-La Roche Ltd. („Roche”). No license under these patents to use the PCR process is conveyed expressly or by implication to the purchaser of this product. Minerva Biolabs does not encourage or support the unauthorized or unlicensed use of the PCR process. Use of this product is restricted to persons that either have a license to perform PCR or are not required to obtain a license.

Trademarks

VenorGeM, Onar, Mynox and Mycoplasma Off are registered trademarks of Minerva Biolabs. QIAamp is a registered trademark of Qiagen.

Minerva Biolabs' International Distributors

Argentina

Genbiotech SRL
Tel: +54-11-4552 6873
Fax: +54-11-4552 6873
Email: info@genbiotech.com.ar
Web: www.genbiotech.com.ar

Australia

Biocene Pty. Ltd.
Tel: +61 2 9882 3800
Fax: +61 2 9882 3233
E-mail: jenny@biocene.com

Austria

BioProducts
Tel: +43 2268 61 65 11
Fax: +43 2268 61 65 44
E-mail: info@bioproducts.at
Web: www.bioproducts.at

Belgium, Luxemburg

Lucron Bioproducts bvba
Tel: +32 92 82 05 31
Fax: +32 92 82 05 32
E-mail: info@lucronbioproducts.com
Web: www.lucronbioproducts.com

Canada

Medicorp Inc.
Tel: +1 514 7331 900
Fax: +1 514 7331 212
Email: mktg@medicorp.com
Web: www.medicorp.com

China

Vian-Saga Biological Technology Ltd.
Tel: +86 10 8411 8493
Fax: +86 10 8411 8494
Email: Michael@vian-saga.com

Croatia

Gorea Plus d.o.o.
Tel: +385-1-3369 610
Fax: +385-1-3369 611
Email: management@gorea-plus
Web: www.gorea-plus.hr

Czech Republic

BIO-Consult Laboratoriers spol. sro.
Tel: +42 2 4447 1239
Fax: +42 2 4447 1239
Email: info@bioconsult.cz
Web: www.bioconsult.cz

Finland

Immuno Diagnostic Oy
Tel: +358 3 615 370
Fax: +358 3 682 2039
Email: info@immunodiagnostic.fi
Web: www.immunodiagnostic.fi

France

Biovalley
Tel: +33 1 6007 2020
Fax: +33 1 6007 5051
Email: biovalley@biovalley.fr
Web: www.biovalley.fr

Great Britain

Cambio Ltd.
Tel: +44 1954 210 200
Fax: +44 1954 210 300
E-mail: support@cambio.co.uk
Web: www.cambio.co.uk

Greece

Bioanalytica S.A.
Tel: +30 210 6400 318
Fax: +30 210 5220 926
Email: bioanalyt@bioanalytica.gr
Web: www.bioanalytica.gr

Varelas S.A.

Tel: +30 210 5281 901
Fax: +30 210 5220 926
Email: varelas@otenet.gr

Hungary

Ferol Ltd.
Tel: +36-1-220 8848
Fax: +36-1-221 0229
Email: ferol@biolab.hu
Web: www.biolab.hu

India

Zelle Biotechnology Pvt. Ltd.
Tel: +91-22-2685 8741 / 42
Fax: +91-22-2685 8744
Email: info@zellebiotech.com
Web: www.zellebiotech.com

Ireland

Medical Supply Company
Tel: +353 1 8224 222
Fax: +323 1 8224 100
Email: dmclade@medical-supply.ie
Web: www.medical-supply.ie

Unitech Ltd.

Tel: +353-1-4048 345
Fax: +353-1-4048 333
Email: info@unitech.ie
Web: www.united-drug.ie

Israel

Origolab Ltd.
Tel: +972-2-566 9285
Fax: +972-2-561 2120
Email: origolab@netmedia.net.il

Italy

Biospa
Tel: +39-02-891 391
Fax: +39-02- 891 20996
Email: biospa@spaspa.it
Web: www.spaspa.it/biospa.htm

Japan

Funakoshi Co., Ltd.
Tel: +81-3-5684 1615
Fax: +81-3-5684 1775
Email: info@funakoshi.co.jp
Web: www.funakoshi.co.jp

Korea

Bio and Information Corp.
Tel: +82-31-7139 439
Fax: +82-31-7139 438
Email: sales@bioninfo.com
Web: www.bioninfo.com

Morebio Inc.

Tel: +82-2-4062 942
Fax: +82-2-4062 942
Email: info@morebio.co.kr
Web: www.morebio.co.kr

Lithuania

Interlux
Tel: +370-5-2786 850
Fax: +370-5-2796 728
Email: spirit@interlux.lt
Web: www.interlux.lt

Malaysia

Helix Biotech
Tel: +60-3-9076 8010
Fax: +60-3-9076 8007
Email: helixbio@tm.net.my
Web: helixbiot.com

Netherlands

Lucron Bioproducts BV
Tel.: +31 485 51 16 75
Fax: +31 485 51 20 52
Email: Lucron@lucron.nl
Web: www.lucronbioproducts.com

New Zealand

Medical & Scientific Ltd.
Tel: +64 96 34 10 36
Fax: +64 96 34 51 46
Email: nzms@nzms.co.nz
Web: www.nzms.co.nz

Northern Ireland

Ulster Anaesthetics Ltd.
Tel: +44-28-9044 8800
Fax: +44-28-9044 9400
Email: info@ua-ltd.co.uk

Norway

E. Pedersen & Sonn
Tel: +47-22-955 959
Fax: +47-22-955 940
Email: bkp@eped.com
Web: www.eped.com

Poland

STI
Tel: +48 61 641 77 59
Fax: +48 61 641 77 58
Email: office@sti.biz.pl
Web: www.sti.biz.pl

Portugal

Quilaban Lda.
Tel: +21 923 63 50
Fax: +21 923 63 89
Email: quilaban@quilaban.pt
Web: www.quilaban.pt

Russia

Rusbiolink
Tel: 7-903-7761 045
Tel: 7-495-7274 435
Email: mail@rusbiolink.com
Web: www.rusbiolink.com

Slovenia

Kemomed d.o.o.
Tel: +386 4 201 50 50
Fax: +386 4 201 50 55
E-mail: info@kemomed.si
Web: www.kemomed.si

Spain

Labclinics
Tel: +34 3 446 47 00
Fax: +34 3 348 10 39
E-mail: info@labclinics.com
Web: www.labclinics.com

Sweden

ANL-Produkter AB
Tel: +46-8-990 090
Fax: +46-8-992 040
Email: info@anl.se
Web: www.anl.se

Switzerland

Socochim SA
Tel: (fr) +41-21-7210 450
Tel: (dt) +41-61-8510 540
Fax: +41-21-7210 451
Email: info@socochim.ch
Web: www.socochim.ch

Taiwan

Only Science Co., Ltd.
Tel: +886-2-2758 5926
Fax: +886-2-2758 6305
Email: cychen@onlyscience.com.tw
Web: www.onlyscience.com.tw

Thailand

Biomed Diagnostics Co. Ltd.
Tel: +66-2-8796 026
Fax: +66-2-8796 065
Email: somboon@biomedthain.com

Turkey

Genomed Saglik Hizmetleri A.S.
Tel: +90 212 248 20 00
Fax: +90 212 220 15 64
Email: muratyzici@genomedtr.com

United Arab Emirates

Mix Max Trading CCC
Tel: +971-4-3535 756
Fax: +971-4-3538 891
Email: manoj@mixmaxe.com
Web: www.mixmaxe.com

USA (only VenorGeM)

Sigma Aldrich
Tel: +1-314-771 5750
Fax: +1-314-771-5757
Email: sigma@sial.com
Web: www.sigmaaldrich.com

Products for Contamination Control

Polymerases

53-0050	MB TAQ DNA Polymerase	50	units
53-0100	MB TAQ DNA Polymerase	100	units
53-0200	MB TAQ DNA Polymerase	200	units
53-0250	MB TAQ DNA Polymerase	250	units
54-0100	EUB Polymerase, DNA-free	100	units
54-0500	EUB Polymerase, DNA-free	500	units

Diagnostic Kits for conventional PCR

11-1025	Venor®GeM Mycoplasma Detection Kit	25	tests
11-1050	Venor®GeM Mycoplasma Detection Kit	50	tests
11-1100	Venor®GeM Mycoplasma Detection Kit	100	tests
11-1250	Venor®GeM Mycoplasma Detection Kit	250	tests
12-1025	Onar®EUB Eubacteria Detection Kit	25	tests
12-1050	Onar®EUB Eubacteria Detection Kit	50	tests
12-1100	Onar®EUB Eubacteria Detection Kit	100	tests
12-1250	Onar®EUB Eubacteria Detection Kit	250	tests

Diagnostic Kits for real-time PCR

11-4025	Venor®GeM-qEP Mycoplasma ssp. Detection Kit	25	tests
11-4100	Venor®GeM-qEP Mycoplasma ssp. Detection Kit	100	tests
11-4250	Venor®GeM-qEP Mycoplasma ssp. Detection Kit	250	tests
11-6025	Venor®GeM-qDual Mycoplasma Detection Kit with external Inhibition control	25	tests
11-6100	Venor®GeM-qDual Mycoplasma Detection Kit with external Inhibition control	100	tests

Genomic DNA Extracts 100 µl each

51-0101	<i>Legionella pneumophila</i> , ATCC 33152	+/- 10 ng / 100 µl
51-1514	<i>Legionella pneumophila subsp. fraseri</i> , DSMZ 7514	+/- 10 ng / 100 µl
51-1515	<i>Legionella pneumophila subsp. pascuella</i> , DSMZ 7515	+/- 10 ng / 100 µl
51-1368	<i>Legionella bozemanii</i> , NC 011368	+/- 10 ng / 100 µl
51-1370	<i>Legionella dumoffii</i> , NC 011370	+/- 10 ng / 100 µl
51-1723	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , NC 001723	+/- 10 ng / 100 µl
51-0566	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , DSMZ 20566	+/- 10 ng / 100 µl
51-0792	<i>Clostridium acetobutylicum</i> , DSMZ 792	+/- 10 ng / 100 µl
51-5571	<i>Bordetella pertussis</i> , DSMZ 5571	+/- 10 ng / 100 µl
51-3415	<i>Bordetella parapertussis</i> , DSMZ 13415	+/- 10 ng / 100 µl
51-0177	<i>Ureaplasma urealyticum</i> , NC 10177	+/- 10 ng / 100 µl
51-0111	<i>M. hominis</i> , NC 010111	+/- 10 ng / 100 µl
51-0112	<i>M. orale</i> , NC 010112	+/- 10 ng / 100 µl
51-0113	<i>M. salivarium</i> , NC 010113	+/- 10 ng / 100 µl
51-0115	<i>M. gallisepticum</i> , NC 010115	+/- 10 ng / 100 µl
51-0116	<i>Acholeplasma laidlawii</i> , NC010116	+/- 10 ng / 100 µl
51-0117	<i>M. fermentans</i> PG19, NC 010117	+/- 10 ng / 100 µl
51-0119	<i>M. pneumoniae</i> , NC010119	+/- 10 ng / 100 µl
51-0129	<i>M. arginini</i> , NC 010129	+/- 10 ng / 100 µl
51-0130	<i>M. hyorhinae</i> , NC 010130	+/- 10 ng / 100 µl
51-0162	<i>M. arthritidis</i> , NC 010162	+/- 10 ng / 100 µl
51-0195	<i>M. genitalium</i> , NC 010195	+/- 10 ng / 100 µl
51-1746	<i>M. penetrans</i> , NC 11746	+/- 10 ng / 100 µl

Quantification Standards 100 µl each

52-0101	<i>Legionella pneumophila</i> DNA Standard	1x10 ⁶ genomes/µl
52-0119	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> DNA Standard	1x10 ⁶ genomes/µl
52-0112	<i>Mycoplasma orale</i> DNA Standard	1x10 ⁶ genomes/µl
52-0116	<i>Acholeplasma laidlawii</i> DNA Standard	1x10 ⁶ genomes/µl

DNA Remover™

15-2025	DNA Decontamination Reagent, spray bottle	250	ml
15-2200	DNA Decontamination Reagent, refill bottles	4x 500	ml