


virotype[®] BVDV RT-PCR Kit Gebrauchsinformation

Zum Nachweis von RNA des Bovinen
Virusdiarrhoe-Virus

Die deutsche Gebrauchsinformation ist nach § 11 Absatz 2 TierGesG
zugelassen. Zulassungs-Nr.: FLI-B 451

 24 Reaktionen (Katalog-Nr. VT280373)

 96 Reaktionen (Katalog-Nr. VT280375)

 480 Reaktionen (Katalog-Nr. VT280377)



INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Deutscher Platz 5b,
04103 Leipzig, Deutschland

Inhalt

Kit-Inhalt.....	3
Verwendungszweck.....	3
Symbole.....	4
Qualitätskontrolle.....	4
Lagerung.....	5
Sicherheitshinweise.....	5
Einleitung.....	6
Testprinzip.....	6
RNA-Extraktion.....	7
Zusätzlich benötigte Materialien.....	9
Wichtige Hinweise.....	10
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen.....	10
Protokoll: Real-time RT-PCR zum Nachweis der RNA des Bovinen Virusdiarrhoe-Virus.....	12
Wichtige Hinweise vor Beginn.....	12
Vorbereitungen.....	12
Durchführung.....	13
Auswertung.....	16
Interpretation der Ergebnisse.....	16
Änderungsindex.....	19

Kit-Inhalt

virotype BVDV RT-PCR Kit	(24)	(96)	(480)
Katalog-Nr.	VT280373	VT280375	VT280377
Anzahl der Reaktionen	24	96	480
PCR Mix (PCR-Mix, gelber Deckel), enthält Primer, Sonden und interne Kontrolle	1 x 500 µl	2 x 1000 µl	6 x 1650 µl
Enzyme Mix (Enzym-Mix, grüner Deckel)	1 x 6,5 µl	1 x 26 µl	2 x 65 µl
Positive Control (Positivkontrolle, roter Deckel)	1 x 25 µl	1 x 150 µl	2 x 150 µl
Negative Control (Negativkontrolle, blauer Deckel)	1 x 25 µl	1 x 150 µl	1 x 300 µl
Gebrauchsinformation	1	1	1

Verwendungszweck

virotype BVDV RT-PCR Kit ist ein real-time RT-PCR Kit, vorgesehen zum Nachweis der RNA des Bovinen Virusdiarhoe-Virus in Proben vom Rind. Der Kit ermöglicht den Nachweis des Erregers in Vollblut, Plasma, Serum, Milch und Ohrgewebeproben (Einzel- und Poolproben).

Der Kit besitzt die Zulassung des Friedrich-Loeffler-Instituts nach § 11 Absatz 2 TierGesG mit der Zulassungsnummer FLI-B 451.

Nur für den tierärztlichen Gebrauch.

Symbole



Legaler Hersteller



Chargennummer



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer



Vor Licht schützen



Für Proben vom Rind

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von INDICAL wird jede Charge des Tests virotype BVDV RT-PCR Kits nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Lagerung

Die Komponenten des virotype BVDV RT-PCR Kits sind bei -30°C bis -15°C zu lagern – unter diesen Lagerbedingungen sind sie mindestens bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Vermeiden Sie wiederholtes Auftauen und Einfrieren (> 2x), da dadurch die Sensitivität des Assays verringert werden kann. Falls die Komponenten nur gelegentlich verwendet werden, frieren Sie sie aufgeteilt in Aliquots ein.

Sicherheitshinweise

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern entnehmen (safety data sheets, SDS). Diese erhalten sie von Ihrem lokalen Vertriebsmanager oder per Email von **compliance@indical.com**.

Alle Reste von Proben und mit Proben in Berührung gekommene Gegenstände sind als potenziell infektiöse Materialien zu entsorgen bzw. zu dekontaminieren.

Einleitung

Die Bovine Virusdiarrhoe (BVD) und die Mucosal Disease (MD) werden durch das Bovine Virusdiarrhoe-Virus (BVDV I, II) ausgelöst. BVDV ist ein einzelsträngiges RNA-Virus und gehört zur Gattung Pestivirus, wie auch das Virus der klassischen Schweinepest und das Border Disease Virus.

BVD zählt weltweit zu den wirtschaftlich bedeutendsten Infektionskrankheiten des Rindes. Eine BVDV-Infektion kann in Abhängigkeit vom Immunstatus der Tiere zu unterschiedlich schweren gastrointestinalen und respiratorischen Erkrankungen sowie zu reproduktiven Problemen führen. Letztere entstehen durch die transplazentare Infektion des Fötus, die zu Aborten, Missbildungen und bei Infektion immuntoleranter Feten zur Geburt persistent infizierter Kälber (PI-Tiere) führt.

PI-Tiere (Virämiker) entstehen ausschließlich pränatal. Eine postnatale Infektion mit dem BVDV führt zur transienten Virämie, die die Bildung neutralisierender Antikörper induziert. Unentdeckte PI-Tiere gelten als die wichtigsten Faktoren für die Verbreitung des BVDV, da sie zeitlebens hohe Konzentrationen an Virus ausscheiden und somit durch eine Infektion trächtiger Rinder zur Entstehung weiterer PI-Tiere beitragen.

Dem rechtzeitigen Auffinden solcher PI-Tiere kommt daher eine entscheidende Bedeutung bei der Bekämpfung der Seuche zu.

Testprinzip

Beim Nachweis von Pathogenen mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden spezifische Bereiche aus dem Genom des Pathogens amplifiziert. Bei der real-time RT-PCR wird das entstandene Amplifikat

mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen detektiert. Diese sind in der Regel an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das Amplifikat binden. Die Beobachtung des Verlaufs der Fluoreszenzintensität während der PCR in Echtzeit („real-time PCR“) ermöglicht den Nachweis des sich anreichernden Produkts, ohne die Reaktionsgefäße danach wieder öffnen zu müssen.

Der virotype BVDV RT-PCR Kit enthält alle Reagenzien, die für den Nachweis der BVDV-RNA notwendig sind, einschließlich Positiv- und Negativkontrolle. Mit diesem Kit werden reverse Transkription und PCR im gleichen Reaktionsgefäß durchgeführt, welches die Kontaminationsgefahr verringert.

Im Kit werden zwei spezifische Primer-Sonden-Kombinationen verwendet: eine für Pestiviren (FAM™ -Fluoreszenzsignal) und eine für die interne Kontrolle (HEX™ -Fluoreszenzsignal). Durch diese interne Kontrolle werden falsch-negative Ergebnisse ausgeschlossen.

RNA-Extraktion

virotype BVDV RT-PCR Kit ist ein hochsensitives real-time RT-PCR System zum Nachweis der RNA des Bovinen Virusdiarrhoe-Virus aus folgenden Probenmaterialien vom Rind: Vollblut, Plasma, Serum, Milch und Ohrgewebe. Nach Möglichkeit sollte EDTA-Plasma verwendet werden, da hier der Abbau der viralen RNA minimiert ist. Aufgrund der hohen Sensitivität des Tests können Blutproben (Vollblut, Plasma, Serum) in Pools aus bis zu 50 Einzelproben, Milchproben in Pools aus bis zu 100 Einzelproben und Ohrgewebeproben in Pools aus bis zu 25 Einzelproben getestet werden. Die optimale Poolgröße hängt jedoch von der BVDV-Prävalenz im untersuchten Gebiet und vom Alter der Tiere ab.

Vor der real-time RT-PCR muss die virale RNA aus dem Ausgangsmaterial extrahiert werden. INDICAL bietet für die RNA- und DNA-Extraktion aus Tierproben validierte Produkte an.

- QIAamp® cador® Pathogen Mini Kit
- cador® Pathogen 96 QIAcube® HT Kit¹
- MagAttract® 96 cador® Pathogen Kit

Die folgenden Extraktionskits können weiterhin über QIAGEN bezogen werden

- QIAamp® Viral RNA Mini Kit
- RNeasy® Fibrous Tissue Mini Kit

Falls die real-time PCR nicht unmittelbar nach der Extraktion durchgeführt wird, lagern Sie die RNA bei -20°C, bzw. bei -70°C für längere Zeit.

Zur schnellen Präparation von Ohrgewebeproben (Stanzproben von ø 2-3 mm) ohne RNA-Extraktion wird virotype Tissue Lysis Reagent empfohlen. Die Lyseansätze können bei -20°C oder bis zu 12 h bei 2-8°C gelagert werden.

Bei Verwendung von Kits auf Basis von Spinsäulen kann die RNA-Extraktion mit Hilfe des QIAcube® automatisiert werden.

¹ nicht empfohlen für die RNA-Extraktion aus Milchproben

Zusätzlich benötigte Materialien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (safety data sheets, SDS) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

- Pipetten (verstellbar)
- Nuklease-freie, aerosolgeschützte Pipettenspitzen mit Filter
- Sterile 1,5 ml Eppendorf®-Reaktionsgefäße
- Nuklease-freie (RNase/DNase-frei) Verbrauchsmaterialien
- Kühlvorrichtung oder Eis
- Tischzentrifuge mit Rotor für 1,5 ml Reaktionsgefäße
- Real-time Thermocycler mit geeigneten Fluoreszenzkanälen
- Geeignete Software für den gewählten Thermocycler
- Geeignete PCR-Streifen und Deckel oder optische 96-well Mikrotiterplatte mit optischer Verschlussfolie oder optischem Deckel für den gewählten Thermocycler

Wichtige Hinweise

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgendes sollte vom Anwender immer beachtet werden:

- Nuklease-freie Pipettenspitzen mit Filter verwenden
- Positivmaterial (Proben, Positivkontrollen, sowie Amplifikate) separat von allen anderen Reagenzien lagern und verarbeiten und in einem räumlich getrennten Bereich zum Reaktionsgemisch hinzufügen
- Alle Komponenten vor Testbeginn auf Eis auftauen lassen.
- Nach dem Auftauen die Komponenten durch Umdrehen mischen und anschließend kurz anzentrifugieren.
- Die Komponenten des Testkits nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Proben und Kontrollen während des Ansetzens auf Eis oder in einem Kühlblock halten.

Negativkontrolle

Bei jedem PCR-Lauf sollte mindestens eine Negativkontrolle mitgeführt werden. Hierdurch können etwaige Kontaminationen im Reaktionsansatz entdeckt werden.

Hinweis: Die als interne Kontrolle verwendete RNA wird auch in der Negativkontrolle detektiert, da sie im Reaktionsgemisch als Amplifikationskontrolle enthalten ist (siehe Abschnitt „Interne Kontrolle“).

Positivkontrolle

Bei PCR-Ansätzen mit unbekanntem Proben wird empfohlen, eine Positivkontrolle im PCR-Lauf mitzuführen, das heißt eine Probe, von der bekannt ist, dass sie die interessierende virale RNA enthält. Mit einer Positivkontrolle wird die Funktionalität des Pathogentests nachgewiesen, also zum Beispiel das korrekte Ansetzen des Reaktionsgemisches. Setzen Sie 5 µl der im virotype BVDV RT-PCR Kit mitgelieferten Positivkontrolle ein, um die erfolgreiche Amplifikation der Zielsequenz zu überprüfen.

Interne Kontrolle

Die als interne Kontrolle (IC) verwendete RNA ist bereits in den gelieferten Reagenzien enthalten, so dass sie während des Ansetzens der Reaktion nicht mehr separat zu jeder Probe hinzugefügt werden muss. Durch die interne Kontrolle kann eine mögliche PCR-Inhibition erkannt werden.

Protokoll: Real-time RT-PCR zum Nachweis der RNA des Bovinen Virusdiarrhoe-Virus

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie bitte den Abschnitt "Wichtige Hinweise" auf Seite 10, bevor Sie mit der Durchführung beginnen.
- Führen Sie bei jedem PCR-Lauf mindestens eine Positivkontrolle (Positive Control) und eine Negativkontrolle (Negative Control) mit.
- Lesen Sie das Protokoll vollständig durch, bevor Sie mit der Durchführung beginnen, und stellen Sie sicher, dass Sie mit der Bedienung des gewählten real-time Thermocyclers vertraut sind.
- RNA ist instabil. Führen Sie das Protokoll ohne Unterbrechungen durch.

Vorbereitungen

- Alle Komponenten auf Eis auftauen lassen und vor Licht schützen.
- Während des Ansetzens der PCR die Reagenzien auf Eis halten.
- Den Enzym-Mix erst unmittelbar vor Gebrauch aus dem Gefrierschrank mit -20°C nehmen, auf Eis halten und direkt nach Gebrauch wieder zurück nach -20°C geben.
- Die Reagenzien vor dem Gebrauch kurz anzentrifugieren.

Durchführung

1. Master-Mix gemäß Tabelle 1 ansetzen.

Der Master-Mix enthält alle Komponenten, die für die PCR benötigt werden, mit Ausnahme der Probe. Setzen Sie ein Volumen des Master-Mix an, das um mindestens 10% größer ist als das Volumen, das für die Gesamtzahl der durchzuführenden PCR-Reaktionen erforderlich ist.

Die für den Master-Mix benötigten Volumina für verschiedene Anzahlen an Reaktionen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1. Ansetzen des Reaktionsgemisches

Komponente	Anzahl der Reaktionen			
	1	24	96	480
PCR-Mix (gelber Deckel)	19,75 µl	493,75 µl	1896 µl	9480 µl
Enzym-Mix (grüner Deckel)	0,25 µl	6,25 µl	24 µl	120 µl
Gesamtvolumen	20 µl	500 µl	1920 µl	9600 µl

2. 20 µl des Master-Mix in jedes Reaktionsgefäß pipettieren. Dann 5 µl der RNA-Probe hinzugeben (Tabelle 2).

Führen Sie Positiv- und Negativkontrolle mit.

Positivkontrolle: Anstelle der RNA-Probe 5 µl der Positivkontrolle (Positive Control) einsetzen.

Negativkontrolle: Anstelle der RNA-Probe 5 µl der Negativkontrolle (Negative Control) einsetzen.

Tabelle 2. Ansetzen des Reaktionsgemisches

Komponente	Volumen
Master-Mix	20 µl
Probe	5 µl
Gesamtvolumen	25 µl

- Die Reaktionsgefäße mit den passenden Deckeln verschließen.
- In der Software des Thermocyclers die Filter für die Reporter gemäß Tabelle 3 einstellen.

Tabelle 3. Filtereinstellungen für den Reporter

Pathogen/ interne Kontrolle	Reporter	Rotor-Gene Q
BVDV	FAM	grün
Interne Kontrolle	HEX/ JOE ¹	gelb
Passive Referenz ²	ROX	-

1 Verwenden Sie die für den gewählten Thermocycler geeignete Einstellung

2 Interne Referenz für Applied Biosystems® 7500

- Das in Tabelle 4 gezeigte real-time RT-PCR-Protokoll verwenden.

Tabelle 4. Real-time RT-PCR Protokoll für BVDV

Schritt	Temperatur	Zeit	Anzahl der Zyklen
Reverse Transkription	50°C	20 min	1
Initiale Aktivierung	95°C	15 min	1
3-Schritt-Cycling			
Denaturierung	95°C	30 s	
Annealing*	57°C	45 s	40
Extension	68°C	45 s	

* Erfassung der Fluoreszenzdaten. PCR-Laufzeit ca. 2h 38min (Rotor-Gene Q)

Auswertung

Interpretation der Ergebnisse

Für eine gültige Messung müssen das FAM- und das HEX-Signal der Positivkontrolle einen C_T -Wert² kleiner als 36 ergeben ($C_T < 36$). Die Negativkontrolle darf kein FAM-Signal, aber ein HEX-Signal < 36 aufweisen.

Bei der Arbeit mit unbekanntem Proben sind die im Folgenden beschriebenen Ergebnisse möglich. Eine Zusammenfassung der möglichen Resultate finden Sie auch in Tabelle 5 auf Seite 18.

Das Testergebnis ist positiv für BVDV und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt ein Signal sowohl im FAM- als auch im HEX-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal sowohl im FAM- als auch im HEX-Kanal.
- Die Negativkontrolle zeigt ein Signal im HEX-Kanal mit einem C_T -Wert < 36 .

Bei sehr hohen Ausgangskonzentrationen an BVDV-RNA in der Probe kann es durch Konkurrenz mit der internen Kontrolle (IC) zu einem schwächeren oder ausbleibenden HEX-Signal kommen.

Wenn der erhaltene C_T -Wert für das FAM-Fluoreszenzsignal unter 30 liegt, stammt die Probe mit hoher Wahrscheinlichkeit von einem persistent infizierten Tier (PI-Tier).

² C_T , Threshold cycle (Schwellenzyklus) – Zyklus, in dem die Amplifikationskurve den Schwellenwert überschreitet, ab dem also erstmals ein klarer Anstieg der Fluoreszenz detektierbar ist

Das Testergebnis ist negativ für BVDV und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt ein Signal nur im HEX-Kanal, jedoch kein Signal im FAM-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal sowohl im FAM- als auch im HEX-Kanal.
- Die Negativkontrolle zeigt ein Signal im HEX-Kanal, jedoch kein Signal im FAM-Kanal.

Die Detektion eines HEX-Signals bedeutet, dass die PCR erfolgreich abgelaufen ist, da die interne Kontrolle amplifiziert wurde.

Eine diagnostische Aussage ist nicht möglich und der Test ist ungültig, wenn folgende Situation auftritt:

- Die Probe zeigt weder im FAM- noch im HEX-Kanal ein Signal.

Wenn weder im FAM-Kanal (BVDV) noch im HEX-Kanal (IC) ein Signal detektiert wurde, ist eine diagnostische Aussage nicht möglich. Das Ausbleiben eines Signals für die interne Kontrolle weist auf eine Inhibition der PCR und/oder andere Probleme hin.

Zur Prüfung, ob eine Inhibition vorliegt, empfehlen wir, die jeweiligen RNA-Einzelproben 1:5 in Nuklease-freiem Wasser zu verdünnen.

Überprüfen Sie, ob bei der Positivkontrolle im FAM-Kanal ein Fluoreszenzsignal detektiert wurde. Ein Ausbleiben des Signals für die Positivkontrolle weist auf einen Fehler hin, beispielsweise einen Fehler beim Ansetzen des Master-Mix oder eine fehlerhafte Programmierung des PCR-Gerätes.

Tabelle 5. Tabelle zur Interpretation der Ergebnisse*

Ergebnis der Probe	FAM (BVDV)	HEX (IC)
BVDV-positiv	X	X
BVDV-positiv (stark positiv)	X	
BVDV-negativ		X
uneindeutig		

* Die Ergebnisse können entsprechend interpretiert werden, vorausgesetzt, dass sowohl Positiv- als auch Negativkontrolle mitgetestet wurden. Die Positivkontrolle muss ein Signal sowohl im FAM- als auch im EX-Kanal zeigen. Die Negativkontrolle sollte im HEX-Kanal ein Signal zeigen. Eine ausführliche Erklärung aller möglichen Resultate finden Sie im Abschnitt „Auswertung“ ab Seite 16.

INDICAL bietet zum Nachweis von veterinärmedizinisch relevanten Pathogenen eine Auswahl verschiedener ELISA-Kits sowie real-time PCR und real-time RT-PCR Kits an.

Weitere Informationen zu den Produktgruppen bactotype, cador, cattletype, flocktype, pigtype und virotype finden Sie im Internet unter www.indical.com.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie in der jeweiligen INDICAL Kit-Gebrauchsinformation.

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarungen für den virotype BVDV RT-PCR Kit

Mit der Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Anwender des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den mit dem Produkt zur Verfügung gestellten Protokollen, dieser Gebrauchsinformation und mit den Komponenten, die im Kit geliefert werden, verwendet werden. INDICAL gewährt im Rahmen seiner Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zum Kit gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zum Kit gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der in mit dem Produkt zur Verfügung gestellten Protokollen, dieser Gebrauchsinformation sowie in zusätzlichen, unter www.indical.com verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen. Einige dieser zusätzlichen Protokolle wurden von Anwendern für andere Anwender zur Verfügung gestellt. Diese Protokolle wurden von INDICAL nicht vollständig getestet und optimiert. INDICAL gewährt auf diese Protokolle keine Garantie und übernimmt auch keine Garantie dafür, dass sie die Rechte Dritter nicht verletzen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt INDICAL keinerlei Garantie dafür, dass dieser Kit und/oder die mit ihm durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieser Kit und seine Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. INDICAL lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Anwender des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen könnten oder solche erleichtern könnten. INDICAL kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihm bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines seiner geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder dessen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen können im Internet unter www.indical.com nachgelesen werden.

Warenzeichen/Markenamen: bactotype[®], cador[®], cattletype[®], flocktype[®], pigtype[®], virotype[®] (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); MagAttract[®], QIAamp[®], QIAcube[®], RNeasy[®] (QIAGEN GmbH); Applied Biosystems[®] 7500 (Applied Biosystems); FAM[™], HEX[™], JOE[™], ROX[™] (Life Technologies Corporation); Eppendorf[®] (Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH). Lizenzierte Sonden sind durch Integrated DNA Technologies, Inc. hergestellt. Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass die in dieser Gebrauchsinformation verwendeten Markenamen oder Warenzeichen ungeschützt sind, auch wenn sie nicht als Markenname oder Warenzeichen gekennzeichnet sind.

HB-1577-002 © 2018 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle Rechte vorbehalten.

Änderungsindex

Gebrauchsinformation	Version	Änderung
HB-1577-002	Mai 2018	INDICAL-Design

INDICAL
BIOSCIENCE

Ordering: www.indical.com/contact
Technical Support: support@indical.com
Website: www.indical.com