

virotype[®] PEDV/TGEV RT-PCR Kit

Gebrauchsinformation

Zum simultanen Nachweis der RNA von
PEDV und TGEV

Die deutsche Gebrauchsinformation ist nach § 11 Absatz 2 TierGesG
zugelassen. Zulassungs-Nr.: FLI-C 001



96 Reaktionen (Katalog-Nr. VT283605)



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	8
Wichtige Hinweise	9
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	9
Protokoll: Real-time RT-PCR zum simultanen Nachweis der RNA von PEDV und TGEV	11
Wichtige Hinweise vor Beginn	11
Vorbereitungen	11
Durchführung	12
Auswertung	15
Interpretation der Ergebnisse	15
Änderungsindex	19

Kit-Inhalt

virotype PEDV/TGEV RT-PCR Kit	(96)
Katalog-Nr.	VT283605
Anzahl der Reaktionen	96

Master Mix (Master-Mix, orangefarbener Deckel), enthält Enzyme, Primer und Sonden	2 x 980 µl
Positive Control (Positivkontrolle, roter Deckel)	1 x 150 µl
Negative Control (Negativkontrolle, blauer Deckel)	1 x 150 µl
Gebrauchsinformation	1

Verwendungszweck

virotype PEDV/TGEV RT-PCR Kit ist ein real-time Multiplex RT-PCR Testkit, vorgesehen für den simultanen Nachweis der RNA des *Porcine Epidemic Diarrhea Virus* (PEDV) und des *Transmissible Gastroenteritis Virus* (TGEV). Es können Kot- und Gewebeproben, Oral Fluid, sowie Tupferproben vom Schwein (Einzel- und Poolproben) verwendet werden.

Der Kit besitzt die Zulassung des Friedrich-Loeffler-Instituts nach § 11 Absatz 2 TierGesG mit der Zulassungsnummer FLI-C 001.

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 Schwein

Qualitätskontrolle

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

Lagerung

Die Komponenten des virotype PEDV/TGEV 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

Der virotype PEDV/TGEV RT-PCR Kit ist ein hochsensitives und spezifisches Produkt zum simultanen Nachweis der RNA des *Porcine Epidemic Diarrhea Virus* (PEDV) und des *Transmissible Gastroenteritis Virus* (TGEV) aus Kot- und Gewebeprobe, Oral Fluid, sowie Tupferproben vom Schwein (Einzel- und Poolproben).

PEDV ist ein umhülltes RNA-Virus, welches zur Gattung *Alphacoronavirus* der Familie der *Coronaviridae* gehört. Das Virus verursacht akute Durchfallerkrankungen und Dehydrierung bei Schweinen, welche zu erheblicher Sterblichkeit bei neugeborenen Ferkeln (bis zu 100%) und somit zu großen wirtschaftlichen Verlusten führt. PED ist eine hochansteckende Erkrankung, die vor allem über den oro-fäkalen Übertragungsweg verbreitet wird.

Aufgrund der hohen Ähnlichkeit der durch PEDV und TGEV verursachten klinischen Symptome können beide Erreger nur mit Hilfe von labor diagnostischen Verfahren unterschieden werden. Das TGEV-Virus wird ebenfalls der Familie der *Coronaviridae* zugeordnet.

Die hohe Sensitivität des virotype PEDV/TGEV RT-PCR Kits ermöglicht den Nachweis der Pathogene sowohl in Einzel- als auch in Poolproben.

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 PEDV/TGEV RT-PCR Kit enthält alle Reagenzien, die für den Nachweis der RNA von PEDV und TGEV 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 drei spezifische Primer-Sonden-Kombinationen verwendet: eine für PEDV-RNA (FAM™ -Fluoreszenzsignal), eine für TGEV-RNA (Quasar® 670/ Cy®5 -Fluoreszenzsignal) und eine für die heterologe, interne Kontrolle (HEX™ -Fluoreszenzsignal). Durch diese interne Kontrolle werden falsch-negative Ergebnisse ausgeschlossen.

Mit der Positivkontrolle, die PEDV/TGEV-RNA enthält, wird die Funktionalität des Pathogentests nachgewiesen, also zum Beispiel das korrekte Ansetzen des Reaktionsgemisches.

RNA-Extraktion

Der virotype PEDV/TGEV RT-PCR Kit kann zum simultanen Nachweis der RNA des *Porcine Epidemic Diarrhea Virus* (PEDV) und des *Transmissible Gastroenteritis Virus* (TGEV) verwendet werden. Es können Kot- und Gewebeproben, Oral Fluid, sowie Tupferproben vom Schwein getestet werden. Bei geeigneter Probenqualität können bis zu 5 Einzelproben gepoolt werden.

Vor der real-time RT-PCR muss die 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 Kit
- MagAttract® 96 cador® Pathogen Kit

Die folgenden Extraktionskits können weiterhin über QIAGEN bezogen werden

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

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

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
- 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.

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 PEDV/TGEV RT-PCR Kit mitgelieferten Positivkontrolle ein, um die erfolgreiche Amplifikation der Zielsequenz zu überprüfen.

Interne Kontrolle

Die als interne Kontrolle 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 simultanen Nachweis der RNA von PEDV und TGEV

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie bitte den Abschnitt "Wichtige Hinweise" auf Seite 9, 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
- Die Reagenzien vor dem Gebrauch kurz anzentrifugieren.

Durchführung

1. 20 µl des Master-Mix in jedes Reaktionsgefäß pipettieren. Dann 5 µl der extrahierten RNA-Probe hinzugeben (Tabelle 1).

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 1. Ansetzen des Reaktionsgemisches

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

2. Die Reaktionsgefäße mit den passenden Deckeln verschließen.
3. In der Software des Thermocyclers die Filter für die Reporter gemäß Tabelle 2 einstellen.

Hinweis: Bei Verwendung des Rotor-Gene® Q einen festen Verstärkungswert (Gain) von +4 für den grünen Kanal, +1 für den gelben Kanal und +5 für den roten Kanal einstellen. Dies sorgt für die optimale Fluoreszenzverstärkung für den Nachweis von PEDV, TGEV und interner Kontrolle.

Tabelle 2. Filtereinstellungen für den Reporter

Pathogen/ interne Kontrolle	Reporter	Rotor-Gene Q
PEDV	FAM	grün
TGEV	Quasar 670 ¹ / Cy5	rot
Interne Kontrolle	HEX/ JOE ²	gelb
Passive Referenz ³	ROX	-

1 Der Reporterfarbstoff Quasar 670 hat Anregungs-/Emissionsmaxima von 644/670nm, welches die Detektion im gleichen Kanal wie Cy5 erlaubt, sodass er in den meisten real-time Thermocyclern eingesetzt werden kann.

2 Verwenden Sie die für den gewählten Thermocycler geeignete Einstellung

3 Interne Referenz für Applied Biosystems® 7500

4. Das in Tabelle 3 gezeigte real-time PCR-Protokoll verwenden.

Tabelle 3. Real-time RT-PCR Protokoll für PEDV/TGEV

Schritt	Temperatur	Zeit	Anzahl der Zyklen
Reverse Transkription	50°C	10 min	1
Initiale Aktivierung	95°C	10 min	1
2-Schritt-Cycling			
Denaturierung	95°C	15 s	40
Annealing/Extension*	60°C	45 s	

* Erfassung der Fluoreszenzdaten. PCR-Laufzeit ca. 1h 46min (Rotor-Gene Q)

5. Falls weitere virotype-Tests simultan durchgeführt werden (z. B. virotype PRRSV, virotype Influenza A und/oder virotype CSFV), das in Tabelle 4 gezeigte real-time RT-PCR Protokoll verwenden.

Tabelle 4. Real-time RT-PCR Protokoll bei mehreren simultan durchgeführten Tests

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-, das Quasar 670/ Cy5- und das HEX-Signal der Positivkontrolle einen C_T -Wert¹ kleiner als 35 ergeben ($C_T < 35$). Die Negativkontrolle darf kein FAM- und kein Quasar 670/ Cy5-Signal, aber ein HEX-Signal aufweisen.

Bei der Arbeit mit unbekanntem Proben sind die im Folgenden beschriebenen Ergebnisse möglich. Eine Zusammenfassung der möglichen Ergebnisse der Proben finden Sie auch in Tabelle 5 auf Seite 17.

Das Testergebnis ist positiv für PEDV 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 Probe zeigt kein Signal im Quasar 670/ Cy5-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal in allen Kanälen.
- Die Negativkontrolle zeigt kein Signal im FAM- und Quasar 670/ Cy5-Kanal.

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

¹ 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 positiv für TGEV und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt ein Signal sowohl im Quasar 670/ Cy5- als auch im HEX-Kanal.
- Die Probe zeigt kein Signal im FAM-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal in allen Kanälen.
- Die Negativkontrolle zeigt kein Signal im FAM- und Quasar 670/ Cy5-Kanal.

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

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

- Die Probe zeigt ein Signal nur im HEX-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal in allen Kanälen.
- Die Negativkontrolle zeigt kein Signal im FAM- und Quasar 670/ Cy5-Kanal.

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

- Die Probe zeigt weder im FAM, Quasar 670/ Cy5- noch im HEX-Kanal ein Signal.

Wenn weder im FAM-Kanal (PEDV), im Quasar 670/ Cy5-Kanal (TGEV) noch im HEX-Kanal (IC) ein Signal detektiert wurde, ist das Testergebnis uneindeutig. 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 extrahierten RNA-Einzelproben 1:5 in Nuklease-freiem Wasser zu verdünnen, oder die RNA-Extraktion bzw. den gesamten Test mit frischem Probenmaterial zu wiederholen.

Überprüfen Sie, ob bei der Positivkontrolle im FAM- und Quasar 670/ Cy5-Kanal ein Fluoreszenzsignal detektiert wurde. Ein Ausbleiben des Signals für die Positivkontrolle weist auf einen Fehler hin, beispielsweise einen Fehler beim Ansetzen des Reaktionsgemisches oder eine fehlerhafte Programmierung des PCR-Gerätes.

Tabelle 5. Tabelle zur Interpretation der Ergebnisse*

Ergebnis der Probe	FAM (PEDV)	Quasar 670/ Cy5 (TGEV)	HEX (IC)
PEDV-positiv	X		X
PEDV-positiv (stark positiv)	X		
TGEV-positiv		X	X
TGEV-positiv (stark positiv)		X	
PEDV/TGEV- negativ			X
uneindeutig			

* Die Ergebnisse können entsprechend interpretiert werden, sofern Positiv- und Negativkontrolle die erwarteten Ergebnisse zeigen. Die Positivkontrolle muss ein Signal sowohl im FAM-, Quasar 670/ Cy5-, als auch im EX-Kanal zeigen. Die Negativkontrolle darf kein Signal im FAM- und Quasar 670/ Cy5-Kanal zeigen, aber im HEX-Kanal. Eine vollständige Erklärung aller möglichen Ergebnisse der Proben finden Sie im Abschnitt „Auswertung“ ab Seite 15.

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, cadov, 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 PEDV/TGEV 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/Markennamen: 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); Cy®5 (GE Healthcare); Quasar® (Biosearch Technologies, Inc.); 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 Markennamen oder Warenzeichen ungeschützt sind, auch wenn sie nicht als Markenname oder Warenzeichen gekennzeichnet sind.

HB-1934-002 © 2018 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle Rechte vorbehalten.

Änderungsindex

Gebrauchsinformation	Version	Änderung
HB-1934-002	Mai 2018	INDICAL-Design

INDICAL
BIOSCIENCE

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