

Gebruiksaanwijzing (protocolblad) QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit

Protocol Complex400_OBL_V4_DSP

Versie 2



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik

Voor gebruik met QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit



937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Duitsland

R1

Het protocolblad is in elektronische vorm beschikbaar. U kunt deze vinden onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com.

Algemene informatie

De QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit is bedoeld voor gebruik in de in-vitrodiagnostiek.

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Monstermateriaal	Ademhalings- en urogenitale monsters
Naam protocol	Complex400_OBL_V4_DSP
Standaard assaycontrolezet	ACS_Complex400_OBL_V4_DSP
Bewerkbaar	Volume eluaat: 60, 85 en 110 µl
Vereiste softwareversie	Versie 4.0 of hoger
Vereiste softwareconfiguratie voor IVD-gebruik	Standaardprofiel 1

De lade 'Sample' (Monster)

Monstertype	Urine, urogenitale uitrijkjes (in transportmedia, bijv. PreservCyt [®] , UTM, eNAT [™]) en uitstrijkjes van de luchtwegen (gedroogde uitstrijkjes of in transportmedia, bijv. UTM, eNAT)
Monstervolume	Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis; zie voor meer informatie de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com .
Verwerkt monstervolume	Zie de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com .
Primaire monsterbuizen	Zie de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com .
Secondaire monsterbuizen	Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis; zie voor meer informatie de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com .
Inzetten	Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis; zie voor meer informatie de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com .
Overige	Buffer AVE-mengsel van carrier-RNA vereist; gebruik van interne controle is optioneel

De lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia en verbruiksartikelen)

Positie A1 en/of A2	Reagenscartridge (RC)
Positie B1	n.v.t.
Tiprekhouder 1-17	Wegwerpbaar filtertips, 200 µl
Tiprekhouder 1-17	Wegwerpbaar filtertips, 1500 µl
Verpakkingsdooshouder 1-4	Verpakkingsdozen met monsterbereidingscartridges
Verpakkingsdooshouder 1-4	Verpakkingsdozen met 8-Rod Covers

n.v.t. = niet van toepassing.

De lade 'Waste' (Afval)

Verpakkingsdooshouder 1-4	Lege verpakkingsdozen
Afvalzakhouder	Afvalzak
Houder afvalvloeistoffen	Afvalvloeistoffen

De lade 'Eluate' (Eluaatlade)

Elutierek (het wordt aangeraden om slot 1, de koelpositie, te gebruiken)

Zie voor meer informatie de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com.

Benodigde plastic artikelen

Plastic artikelen	Een batch 24 monsters*	Twee batches 48 monsters*	Drie batches 72 monsters*	Vier batches 96 monsters*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	96	96	128	128
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	128	192	224	288
Sample prep cartridges [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Voor het uitvoeren van meerdere voorraadscans zijn extra wegwerpbare filtertips nodig. Bij gebruik van minder dan 24 monsters per batch zijn minder wegwerpbare filtertips per run nodig.

[†] Er zitten 32 filtertips in een filtertiprek.

^{††} Het aantal benodigde filtertips is inclusief tips voor 1 voorraadscan per reagenscartridge.

[§] Er zitten 28 monsterbereidingscartridges in een verpakkingsdoos.

[¶] Er zitten twaalf 8-Rod Covers in een verpakkingsdoos.

Opmerking: de gegeven aantallen filtertips kunnen afwijken van de aantallen die op het aanraakscherm worden weergegeven. Dit is afhankelijk van de instellingen. Wij raden aan om het maximaal mogelijke aantal tips te plaatsen.

Geselecteerd elutievolume

Geselecteerd elutievolume (µl)*	Aanvankelijk elutievolume (µl) [†]
60	90
85	115
110	140

* Het elutievolume dat op het touchscreen is geselecteerd. Dit is het minimaal toegankelijke eluaatvolume in de laatste elutiebus.

[†] Het aanvankelijke volume van de elutieoplossing is nodig om er zeker van te zijn dat het daadwerkelijke eluaatvolume gelijk is aan het geselecteerde volume.

Bereiding van het Buffer AVE-mengsel van carrier-RNA (CARRIER) voor interne controle

Geselecteerd elutievolume (µl)	Stockvolume carrier-RNA (CARRIER) (µl)	Volume interne controle (µl)*	Volume Buffer AVE (AVE) (µl)	Uiteindelijk volume per monster (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* De berekening van de hoeveelheid interne controle is gebaseerd op de aanvankelijke elutievolume. Extra dood volume is afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis; zie voor meer informatie de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com.

Opmerking: de waarden die in de tabel worden weergegeven, zijn voor het voorbereiden van het Buffer AVE-mengsel van carrier-RNA (CARRIER) voor interne controle voor een vervolgcassay waarvoor 0,1 µl interne controle/µl eluaat benodigd is.

Lysering zonder instrument

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

De QIASymphony complexe protocollen bestaan uit 4 stappen: lyseren, binden, wassen en elueren. Voor monsters is het handig om de lysering handmatig uit te voeren, bijvoorbeeld voor de inactivatie van pathogenen in een bioveiligheidskast. Het Complex400_OBL_V4_DSP-protocol maakt het uitvoeren van handmatige lysering op een vergelijkbare manier als met het Complex400_V4_DSP-protocol mogelijk. Voorbehandelde monsters worden overgebracht naar de QIASymphony SP en verwerkt met het Complex400_OBL_V4_DSP-protocol.

Opmerking: Het Complex400_OBL_V4_DSP-protocol vereist Buffer ACL en Buffer ATL (ATL). Buffer ACL (cat.nr. 939017) en Buffer ATL (ATL) (cat.nr. 939016) maken geen deel uit van de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit en moeten afzonderlijk worden besteld.

Handmatige lysering

1. Pipetteer 40 µl proteïnase K, 165 µl Buffer ATL (ATL), 120 µl carrier-RNA-mengsel voor interne controle en 315 µl Buffer ACL in een 2 ml Sarstedt-buis (cat.nr. 72.693 of 72.694).

Opmerking: Er kan een stockoplossing van deze oplossing worden gemaakt als er meer dan één monster moet worden verwerkt door middel van handmatige lysering. Vermenigvuldig het volume dat nodig is voor één monster met het totale aantal monsters dat moet worden verwerkt en tel daar het aanvullend volume dat overeenkomt met 2 extra monsters bij op. Draai de buis enkele keren om om te mengen, breng voor ieder monster 640 µl over naar een 2 ml Sarstedt-buis en ga vervolgens voor ieder monster verder met stap 4.

2. Sluit het deksel en meng door de buis 5 keer om te draaien.
3. Centrifugeer de buis kort om eventuele druppeltjes aan de onderkant van de dop te verwijderen.
4. Voeg 400 µl monster toe aan de buis, sluit het deksel en meng gedurende 10 sec met een puls-vortexmixer.
5. Incubeer de buis gedurende 15 minuten bij 68 °C.
6. Centrifugeer de buis kort om eventuele druppeltjes aan de onderkant van de dop te verwijderen.
7. Plaats de inzetstukken voor de juiste monsterbuizen in een buizendrager en laad de monsterbuizen (zonder doppen).

Bereiding van monstermateriaal

Zorg dat er geen schuim wordt gevormd in of op de monsters. Afhankelijk van het uitgangsmateriaal kan een voorbehandeling van het monster nodig zijn. Monsters moeten vóór het starten van de run op kamertemperatuur (15-25 °C) worden gebracht.

Opmerking: de stabiliteit van monsters is sterk afhankelijk van verschillende factoren, en houdt verband met de specifieke latere toepassing. Deze stabiliteit is voor de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits vastgesteld in combinatie met typische latere toepassingen. Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gebruiksaanwijzing voor de specifieke latere toepassing die in het laboratorium wordt gebruikt te raadplegen en/of de gehele workflow te valideren om de juiste opslagomstandigheden te bepalen.

Raadpleeg voor algemene aanbevelingen omtrent afname, transport en opslag de goedgekeurde CLSI-richtlijn MM13-A 'Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods' (Afname, transport, voorbereiding en opslag van specimen voor moleculaire methoden). Bovendien moeten de instructies van de fabrikant voor het geselecteerde monsterafnamehulpmiddel/de geselecteerde kit worden gevolgd tijdens de voorbereiding, opslag, transport en algemene hantering van monsters.

Urine

Urine kan maximaal 6 weken worden opgeslagen bij 2 tot 8 °C. Voor langdurige bewaring wordt aangeraden om dit in te vriezen bij -20 °C of -80 °C. Urine kan worden verwerkt zonder verdere voorbehandeling. Het systeem is geoptimaliseerd voor pure urinemonsters die geen conserveermiddelen bevatten. Monsters kunnen worden gecentrifugeerd om de gevoeligheid voor bacteriële pathogenen te verhogen. De pellet kan opnieuw worden gesuspenderd in minstens 400 µl Buffer ATL (ATL) (cat.nr. 939016) nadat de supernatant is verwijderd. Gebruik 400 µl van het voorbehandelde materiaal als monster ter voorbereiding van de lysering zonder instrument.

Isolatie van genomisch DNA uit grampositieve bacteriën

DNA-purificatie kan voor sommige grampositieve bacteriën worden verbeterd door enzymatische voorbehandeling alvorens het monster over te brengen naar de QIASymphony SP en het Complex400_OBL_V4_DSP-protocol te starten.

1. Pelletiseer de bacteriën door 10 minuten te centrifugeren bij 5000 x g.
2. Suspendeer de bacteriële pellet in 400 µl van de geschikte enzymenoplossing (20 mg/ml lysozym of 200 µg/ml lysostafine in 20 mM tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100).
3. Incubeer gedurende 30 minuten bij 37 °C.
4. Centrifugeer het buisje kort om eventuele druppeltjes aan de onderkant van de dop te verwijderen.
5. Gebruik 400 µl van het voorbehandelde materiaal als monster ter voorbereiding van de lysering zonder instrument.

Viskeuze of slijmerige monsters

Sommige monsters kunnen viskeus zijn en moeten mogelijk vloeibaar worden gemaakt om deze te kunnen pipetteren. Monsters met geringe viscositeit vereisen geen aanvullende voorbereiding. Monsters met gemiddelde of hoge viscositeit moeten op de volgende manier worden voorbereid:

1. Verdun het monster 1:1 met 0,3% (w/v) dithiothreitol (DTT).
Opmerking: De oplossing met 0,3% (w/v) DTT kan eerder worden gemaakt en worden opgeslagen in aliquots bij -20 °C. Ontdooide aliquots moeten na gebruik worden weggegooid.
2. Incubeer bij 37 °C totdat de viscositeit van het monster geschikt is voor pipetteren.
3. Gebruik 400 µl van het voorbehandelde materiaal als monster ter voorbereiding van de lysering zonder instrument.

Wattenstaafjes met opgedroogde lichaamsvloeistoffen en -afscheiding

1. Dompel de tip van het gedroogde wattenstaafje onder in 650 µl Buffer ATL (ATL) (cat.nr. 939016) en incubeer 15 minuten bij 56 °C. Meng voortdurend. Vortex minstens 10 seconden en na incubatie indien mengen niet mogelijk is.
2. Verwijder het wattenstaafje en pers er alle vloeistof uit door het wattenstaafje tegen de binnenkant van de buis te drukken.
3. Gebruik 400 µl van het voorbehandelde materiaal als monster ter voorbereiding van de lysering zonder instrument.
Opmerking: Dit protocol is geoptimaliseerd voor wattenstaafjes van katoen of polyetheen. Het kan nodig zijn het volume Buffer ATL (ATL) aan te passen indien er andere wattenstaafjes worden gebruikt, om ervoor te zorgen dat er minstens 400 µl beschikbaar is als monstermateriaal.

Ademhalings- of urogenitale wattenstaafjes

Urogenitale uitrijkjes (in transportmedia, bijv. PreservCyt, UTM, eNAT) en uitstrijkjes van de luchtwegen (gedroogde uitstrijkjes of in transportmedia, bijv. UTM, eNAT) kunnen maximaal 6 uur bewaard worden bij 2-8 °C. Voor langere opslag wordt het aanbevolen om ze bij -20 °C of -80 °C te bevriezen.

Opslagmedia voor ademhalings- of urogenitale wattenstaafjes kunnen zonder voorbehandeling worden gebruikt. Druk het wattenstaafje tegen de zijkant van de buis om de vloeistof eruit te persen indien het wattenstaafje nog niet is verwijderd. Overtollig slijm in het specimen moet nu worden verwijderd door dit op het wattenstaafje te verzamelen. Overgebleven vloeistof uit het slijm en het wattenstaafje moet vervolgens worden verwijderd door het wattenstaafje tegen de binnenkant van de buis te drukken. Als laatste stap moeten het wattenstaafje en het slijm worden verwijderd en weggegooid. Maak het monster vloeibaar (zie het gedeelte Viskeuze of slijmerige monsters) indien de monsters viskeus zijn alvorens deze over te brengen naar de QIASymphony SP. Pipetteer indien er niet genoeg startmateriaal beschikbaar is Buffer ATL (ATL) in het transportmedium om het vereiste minimale startvolume aan te passen en vortex het monster 15-30 seconden in de buis (voer deze stap uit voordat het wattenstaafje wordt verwijderd indien het transportmedium het wattenstaafje bevat). Gebruik 400 µl van het materiaal als monster ter voorbereiding van de lysering zonder instrument.

Beperkingen en interfererende stoffen

Er werd geen significante negatieve invloed opgemerkt voor potentiële interfererende stoffen (zie voor informatie het toepasselijke document Prestatiekenmerken dat te vinden is onder het tabblad Resources (Hulpmiddelen) van toepassingen de productpagina op www.qiagen.com).

Opmerking: de testen werden uitgevoerd met behulp van typische latere toepassingen, waarbij de kwaliteit van de geëxtraheerde nucleïnezuren werd beoordeeld. Verschillende latere toepassingen kunnen echter verschillende eisen met betrekking tot zuiverheid hebben (d.w.z. afwezigheid van potentieel versturende stoffen), zodat het bepalen en testen van relevante stoffen ook plaats moet vinden als onderdeel van de ontwikkeling van latere stoffen voor elke workflow waarvoor de Qiasymphony DSP Virus/Pathogen-kits gebruikt worden.





Bewaring van eluaten

Opmerking: de stabiliteit van eluaat is sterk afhankelijk van verschillende factoren, en houdt verband met de specifieke latere toepassing. Deze stabiliteit is voor de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits vastgesteld in combinatie met typische latere toepassingen. Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gebruiksaanwijzing voor de specifieke latere toepassing die in het laboratorium wordt gebruikt te raadplegen en/of de gehele workflow te valideren om de juiste opslagomstandigheden te bepalen.

Voor kortdurende opslag van maximaal 24 uur adviseren wij om gezuiverde nucleïnezuren te bewaren bij 2-8 °C. Voor langdurige opslag van langer dan 24 uur adviseren wij om ze te bewaren bij -20 °C.

Symbolen

Dit document bevat de volgende symbolen. Raadpleeg de handleiding voor een volledige lijst met symbolen die worden gebruikt in de gebruiksaanwijzing, op de verpakking of op de labels.

Symbol	Symboldefinitie
	Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese regelgeving 2017/746 inzake in-vitrodiagnostische medische hulpmiddelen.
	In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel
	Catalogusnummer
Rn	'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer
	Fabrikant

Revisiegeschiedenis

Revisie	Beschrijving
R1, juni 2022	<p>Versie 2, revisie 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Update naar versie 2 voor naleving van IVDR• Uitbreiding van Bereiding van monstermateriaal gedeelte• Toevoeging van gedeelte Beperkingen en interfererende stoffen• Toevoeging van gedeelte Bewaring van eluaten• Toevoeging van gedeelte Symbolen

Raadpleeg voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules de handleiding of gebruikershandleiding van de desbetreffende QIAGEN®-kit. Handleidingen en gebruikershandleidingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); eNAT™ [Copan Italia S.P.A.]; PreservCyt® (Hologic, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). De gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, moeten altijd als wettelijk beschermd worden beschouwd, zelfs als ze niet specifiek als zodanig zijn aangegeven.
06/2022 HB-3028-S04-001 © 2022 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.