

December 2017

Protocolblad QIASymphony[®] SP

Protocol Complex800_V6_DSP

Dit document is het *QIASymphony SP-protocolblad*, R2, voor Complex800_V6_DSP voor QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, versie 1.

Algemene informatie

De QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit is bedoeld voor gebruik in de in vitro diagnostiek.

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Monstermateriaal	Ademhalings- en urogenitale monsters
Naam protocol	Complex800_V6_DSP
Standaard assaycontrolezet	ACS_Complex800_V6_DSP_default_IC
Bewerkbaar	Volume eluaat: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Vereiste softwareversie	Versie 4.0 of hoger

De lade 'Sample' (Monsterlade)

Monstertype	Ademhalingsmonsters (BAL, gedroogde uitstrijkjes, transportmedia, aspiraten, sputum) en urogenitale monsters (urine, transportmedia)
Monstervolume	Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis, raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie
Primaire monsterbuizen	Raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie.
Secondaire monsterbuizen	Raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie.
Inzetten	Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis, raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie
Overige	AVE-buffermengsel van carrier-RNA vereist; gebruik van interne controle is optioneel

De lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia- en verbruiksartikelenlade)

Positie A1 en/of A2	Reagenscartridge (Reagent cartridge, RC)
Positie B1	Buffer-ATL (ATL)
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-staafhulzen

De lade 'Waste' (Afvallade)

Verpakkingsdooshouder 1-4	Lege verpakkingsdozen
Afvalzakhouder	Afvalzak
Houder afvalvloeistoffenfles	Afvalvloeistoffenfles

De lade 'Eluate' (Eluaatlade)

Elutierek (het wordt aangeraden om slot 1, de koelpositie, te gebruiken)	Raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie
--	---

Benodigde plastic artikelen

	Eén batch, 24 monsters*	Twee batches, 48 monsters*	Drie batches, 72 monsters*	Vier batches, 96 monsters*
Wegwerpbare filtertips, 200 µl†	34	60	86	112
Wegwerpbare filtertips, 1500 µl†	123	205	295	385
Monsterbereidingscartridges‡	18	36	54	72
8-staafhulzen¶	3	6	9	12

* Voor het gebruik van meer dan een interne controle per batch en het uitvoeren van meer dan een inventarisscan zijn aanvullende 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 voorraadscaan per reagenscartridge.

§ Er zitten 28 monsterbereidingscartridges in een verpakkingsdoos.

¶ Er zitten twaalf 8-staafhulzen 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, bijvoorbeeld het aantal gebruikte interne controles per batch.

Geselecteerd elutievolume

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

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

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

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

Geselecteerd elutievolume (µl)	Stockvolume carrier-RNA (CARRIER) (µl)	Volume interne controle (µl)*	Volume AVE-buffer (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 monsterbuisje. Raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie.

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

Buizen met AVE-buffermengsel (AVE) van carrier-RNA (CARRIER) voor interne controle worden in een buizendrager geplaatst. De buizendrager met het AVE-buffermengsel (AVE) van carrier-RNA (CARRIER) als interne controlebuffer moet in slot A van de lade 'Sample' worden geplaatst.

Afhankelijk van het aantal monsters dat moet worden verwerkt, wordt het aangeraden om buizen van 2 ml (Sarstedt, cat.nrs. 72.693 of 72.694) of 14 ml 17 x 100 mm polystyreen rondbodembuizen (Becton Dickinson, cat.nr. 352051) te gebruiken voor het verdunnen van de interne controle, zoals wordt beschreven in de onderstaande tabel. Het volume mag over 2 of meer buizen worden verdeeld.

Het volume van het interne controlemengsel berekenen

Buistype	Naam op QIASymphony-aanraakscherm	Volume van het AVE-buffermengsel (AVE) van carrier-RNA (CARRIER) voor interne controle per buis berekenen
Microbuis van 2 ml met dop; microbuis 2 ml, PP, MET STARAND, (Sarstedt, cat.nr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microbuis van 2 ml met dop; microbuis 2 ml, PP, ZONDER STARAND, (Sarstedt, cat.nr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Buis 14 ml, 17 x 100 mm polystyreen rondbodem (Becton Dickinson, cat.nr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Gebruik deze vergelijking voor het berekenen van het vereiste volume van het interne controlemengsel (n = aantal monsters; $120 \mu\text{l}$ = volume van AVE-buffermengsel (AVE) van carrier-RNA (CARRIER) voor interne controle; $360 \mu\text{l}$ = vereist dood volume per buis). Bijvoorbeeld voor 12 monsters ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Vul de buis niet met meer dan 1,9 ml (d.w.z., maximaal 12 monsters per buis). Gebruik aanvullende buizen indien er meer dan 12 monsters worden verwerkt en zorg ervoor dat het dood volume per buis wordt toegevoegd.

† Gebruik deze vergelijking voor het berekenen van het vereiste volume van het AVE-buffermengsel (AVE) van carrier-RNA (CARRIER) voor interne controle (n = aantal monsters; $120 \mu\text{l}$ = volume van AVE-buffermengsel (AVE) van carrier-RNA

(CARRIER) voor interne controle; 600 µl = vereist dode volume per buis). Bijvoorbeeld voor 96 monsters (n = 96): (96 x 120 µl) + 600 µl = 12120 µl.

Raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor vereiste inzetten.

FIX-laboratoriummateriaal gebruiken

Het gebruik van vloeistofniveaudetectie (VND) voor monsteroverdracht, maakt het gebruik van primaire en secundaire buizen mogelijk. Dit vereist echter bepaalde dode volumes in de betreffende buizen. Om dode volumes te minimaliseren, moeten er secundaire buizen worden gebruikt zonder vloeistofniveaudetectie. Er is bepaald FIX-laboratoriummateriaal beschikbaar (bijv. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt) dat ook kan worden geselecteerd op het aanraakscherm van de QIASymphony SP. Dit buis-/rektype brengt opzuigrestricties met zich mee. Het monster wordt op een bepaalde hoogte in de buis opgezogen. Deze hoogte wordt bepaald door het volume van het monster dat moet worden overgebracht. Daarom is het belangrijk om ervoor te zorgen dat het volume dat in de tabel wordt vermeld, wordt gebruikt. Lijsten met laboratoriummateriaal kunnen worden gedownload op www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Monsterbuizen die met of zonder vloeistofniveaudetectie kunnen worden gebruikt en vereiste monstervolumes worden vermeld op www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Gebruik geen volumes die hoger of lager zijn dan het vereiste volume. Dit kan leiden tot fouten tijdens de monstervoorbereiding.

Buizen die geschikt zijn voor vloeistofniveaudetectie en buizen die dat niet zijn kunnen tijdens één batch/run worden verwerkt.

Bereiding van monstermateriaal

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

Urine

Urine kan worden verwerkt zonder verdere voorbehandeling. Breng het monster over naar een 2 ml Sarstedt-buis (cat.nr. 72.693 of 72.694) en plaats het monster in de buizendrager. Er kunnen hiervoor ook primaire buizen worden gebruikt. Het vereiste minimale startvolume kan afwijken. Dit is afhankelijk van de gebruikte primaire buis. Compatibele primaire en secundaire buisafmetingen, inclusief het minimale vereiste startvolume voor ieder protocol, zijn vermeld op www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. 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 gesuspendeerd in minstens 800 µl buffer-ATL (ATL) (cat.nr. 939016) nadat de supernatant is verwijderd. Breng het monster over naar een 2 ml Sarstedt-buis (cat.nr. 72.693 of 72.694). Plaats het monster in de buizendrager en verwerk het monster met behulp van het Complex800_V6_DSP-protocol en het vereiste FIX-laboratoriummateriaal.

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 Complex800_V6_DSP-protocol te starten.

1. Pelletiseer de bacteriën door 10 minuten te centrifugeren bij 5000 x g.
2. Suspendeer de bacteriële pellet in 900 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 bij 37 °C gedurende 30 minuten (± 2 minuten).
4. Centrifugeer het buisje kort om eventuele druppeltjes aan de onderkant van de dop te verwijderen.
5. Breng het monster over naar een 2 ml Sarstedt-buis (cat.nr. 72.693 of 72.694), plaats het monster in de buizendrager en ga verder met het Complex800_V6_DSP-protocol met het vereiste FIX-laboratoriummateriaal.

Viskeuze of slijmerige monsters

Sommige monsters (bijv. sputum, ademhalingsaspiraten) 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. vermeng het monster in de verhouding 1:1 met Sputasol*† (Oxoid, cat.nr. SR0233) of 0,3% (w/v) DTT.

Opmerking: De oplossing met 0,3% (w/v) DTT kan eerder worden gemaakt en worden opgeslagen in aliquots bij -20 °C. Ontdooide aliquots na gebruik weggooien.

2. Incubeer bij 37 °C totdat de viscositeit van het monster geschikt is voor pipetteren.

* Sputasol (Oxoid, cat.nr. SR0233, www.oxoid.com) of dithiothreitol (DTT).

† Dit is geen volledige lijst van leveranciers.

3. Breng minstens 900 µl van het monster over naar een 2 ml Sarstedt-buis (cat.nr. 72.693 of 72.694). Verwerk het monster met behulp van het Complex800_V6_DSP-protocol.

Wattenstaafjes met opgedroogde lichaamsvloeistoffen en -afscheiding

1. Dompel de tip van het gedroogde wattenstaafje onder in 1150 µl buffer-ATL (ATL) (cat.nr. 939016) en incubeer 15 minuten (\pm 1 minuut) bij 56 °C. Meng voortdurend. Vortex minstens 10 seconden voor 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. Breng minstens 900 µl van het monster over naar een 2 ml Sarstedt-buis (cat.nr. 72.693 of 72.694). Verwerk het monster met behulp van het Complex800_V6_DSP-protocol.

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 900 µl beschikbaar is als monstermateriaal.

Ademhalings- of urogenitale wattenstaafjes opgeslagen in transportmedia

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 'Viskeuze of slijmerige monsters' hierboven) 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). Breng het monster over naar een 2 ml Sarstedt-buis (cat.nr. 72.693 of 72.694) en plaats het monster in de buizendrager. Er kunnen hiervoor ook primaire buizen worden gebruikt. Het vereiste minimale startvolume kan afwijken. Dit is afhankelijk van de gebruikte primaire buis. Compatibele primaire en secundaire buizen, inclusief het minimale vereiste startvolume voor ieder protocol, zijn vermeld op www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Revisiegeschiedenis

Revisiegeschiedenis document	
R2 12/2017	Wijziging voor QIAsymphony-software versie 5.0

Zie 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 dienst van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group). Gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd. 12/2017 HB-0301-S30-002 © 2017 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

Bestellen www.qiagen.com/shop | Technische ondersteuning support.qiagen.com | Website www.qiagen.com