

Handleiding

IndiMag[®] Pathogen Kit

Voor de geautomatiseerde zuivering van viraal RNA, viraal DNA en bacterieel DNA van dierlijke monsters met behulp van het IndiMag 48-, KingFisher™ Flex-, BioSprint[®] 96- of een gelijkwaardig werkstation



IndiMag Pathogen Kit w/o plastics (cat.nr. SP947257),
voorheen MagAttract[®] 96 cador[®] Pathogen Kit w/o plastics (384)



IndiMag Pathogen Kit (cat.nr. SP947457),
voorheen MagAttract 96 cador Pathogen Kit (384)



Geproduceerd door QIAGEN[®] GmbH
voor INDICAL BIOSCIENCE
INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Deutscher Platz 5b,
04103 Leipzig, Duitsland

Inhoud

Inhoud van de kit	4
Geschikte werkstations en protocollen	5
Werkstations	5
Protocollen	5
Opslag	7
Beoogd gebruik.....	7
Symbolen	8
Veiligheidsinformatie	8
Kwaliteitsbeheer	9
Inleiding	10
Uitgangspunt en procedure	11
Beschrijving van de protocollen.....	13
Protocol voor de zuivering van nucleïnezuur	13
Voorbehandelingen	15
Door de gebruiker te verstrekken apparatuur en reagentia	17
Belangrijke waarschuwingen	18
Uitgangsmateriaal	18
Aantal resulterende nucleïnezuren	21
Carrier RNA en interne controles gebruiken.....	21
Nucleïnezuren bewaren.....	22
RNA verwerken.....	23
Reagentia bereiden	23
Protocol: zuivering van pathogene nucleïnezuren uit vloeistofmonsters ..26	
Wat u moet weten voor u begint.....	26

Wat u moet doen voordat u begint	27
Procedure voor gebruik met het IndiMag 48-werkstation	28
Procedure voor gebruik met een magnetische-deeltjesprocessor (zoals KingFisher Flex, BioSprint 96 of gelijkwaardig)	30
Problemen oplossen.....	32
Bestelinformatie	36
Wijzigingsindex	40

Inhoud van de kit

IndiMag Pathogen Kit	w/o plastics	
Cat.nr.	SP947257	SP947457
Aantal preparaten	384	384
Buffer VXL ¹	2 x 30 ml	2 x 30 ml
Buffer ACB ^{1,2}	2 x 60 ml	2 x 60 ml
Proteinase K (proteïnase K)	2 x 6 ml	2 x 6 ml
Carrier RNA (poly A) (drager-RNA [poly A])	2 x 310 µg	2 x 310 µg
MagAttract Suspension G (MagAttract-suspensie G) ³	1 x 13 ml	1 x 13 ml
Buffer AW1 (concentraat) ^{1,4}	2 x 75,5 ml	2 x 75,5 ml
Buffer AW2 (concentraat) ⁴	2 x 54 ml	2 x 54 ml
Buffer AVE ³	1 x 125 ml	1 x 125 ml
Large 96-Rod Cover (grote huls voor 96 staven)	-	4
S-Block (monsterblok)	-	20
96-Well Microplate MP (microtiterplaat met 96 putjes)	-	4
Quick-Start Protocol (snelstartprotocol) (PCard)	2	2

1 LET OP: bevat chaotropische zouten. Tref passende veiligheidsmaatregelen in het laboratorium en draag handschoenen wanneer u deze buffer verwerkt. Niet compatibel met desinfectiemiddelen die bleek bevatten. Zie de veiligheidsinformatie op pagina 9.

2 Voeg vóór het eerste gebruik isopropanol toe volgens de instructies op de fles om een werkzame oplossing te verkrijgen.

3 LET OP: bevat natriumazide.

4 Voeg vóór het eerste gebruik ethanol (96-100%) toe volgens de instructies op de fles om een werkzame oplossing te verkrijgen.

Geschikte werkstations en protocollen

Werkstations

Onder andere de onderstaande werkstations kunnen met de IndiMag Pathogen Kit (SP947457) worden gebruikt:

- KingFisher Flex
- KingFisher 96
- BioSprint 96
- MagMax™ Express 96

Onder andere de onderstaande werkstations kunnen met de IndiMag Pathogen Kit w/o plastics (SP947257) worden gebruikt:

- IndiMag 48
- KingFisher
- KingFisher mL
- KingFisher Duo
- BioSprint 15
- MagMax Express

Protocollen

Volg het MagAttract 96 cador Pathogen Kit Instrument Protocol (v2) (protocol inzake het gebruik van instrumenten met de MagAttract 96 cador Pathogen Kit). Tabel 1 op pagina 6 bevat een overzicht van de verschillende scriptnamen, die afhangen van de respectievelijke apparaten en softwaresystemen die worden gebruikt.

Let op: op het IndiMag 48-werkstation is het protocol 'Pathogen' standaard al geïnstalleerd.

Tabel 1: Scriptnamen, afhankelijk van het apparaat en softwaresysteem dat wordt gebruikt.

Apparaat	Software	Scriptnaam
BioSprint 96	BioSprint	BS96 cador v2.kf2
BioSprint 15	BioSprint	BS15 cador.kf2
KingFisher Duo	BindIt	KF_Duo_96_cador.bdz
KingFisher Flex	BindIt	KF_Flex_cador_v2.bdz
KingFisher 96	BindIt	KF_96_cador_v2.bdz
KingFisher 96	KingFisher	KF96 cador v2.kf2
KingFisher mL	KingFisher	KFmL cador.kf2

Neem voor meer informatie of bij technische vragen contact op met het ondersteuningsteam van INDICAL via **support@indical.com**.

Opslag

Alle buffers en reagentia zijn stabiel tot en met de uiterste gebruiksdatum die op de doos van de kit staat vermeld, als ze op kamertemperatuur worden bewaard (15-25°C) zonder dat de prestaties worden beïnvloed.

Gevriesdroogd Carrier RNA kan op kamertemperatuur worden bewaard tot en met de uiterste gebruiksdatum die op de doos van de kit staat. Gevriesdroogd Carrier RNA moet vóór gebruik worden opgelost in Buffer AVE en vervolgens aan het Buffer VXL-mengsel worden toegevoegd, zoals beschreven in 'Reagentia bereiden' op pagina 23. De oplossing van Carrier RNA/Buffer AVE/Buffer VXL-mengsel moet vers worden bereid. Niet-gebruikt Carrier RNA dat in Buffer AVE is opgelost, moet direct in aliquots opnieuw worden ingevroren bij -30 tot -15°C. De aliquots van Carrier RNA mogen maximaal drie keer opnieuw worden ingevroren.

Proteinase K kan op kamertemperatuur (15-25°C) worden bewaard. We raden u aan dit reagens bij 2-8°C te bewaren als u het voor lange tijd wilt opslaan of als de omgevingstemperatuur van de opslagruimte regelmatig hoger is dan 25°C.

Beoogd gebruik

De IndiMag Pathogen Kit is bedoeld voor de geautomatiseerde extractie van pathogene nucleïnezuren (viraal RNA, viraal DNA en bacterieel DNA) uit volbloed, serum, plasma, andere lichaamsvloeistoffen, uitstrijkjes, spoelingen en weefselhomogenaat van dieren met behulp van het IndiMag 48-, KingFisher Flex-, Biosprint 96- of een gelijkwaardig werkstation.

Voor toepassingen in de moleculaire biologie.

Symbolen



Wettelijke fabrikant



Partijnummer



Uiterste gebruiksdatum



Temperatuurgrenzen voor opslag



Handleiding



Catalogusnummer



Materiaalnummer

Veiligheidsinformatie

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's). U kunt een exemplaar aanvragen bij uw lokale verkoopvertegenwoordiger of door een e-mail te sturen naar compliance@indical.com.



**LET OP: oplossingen met bleek of zuur mogen
NIET rechtstreeks in contact komen met
monsterbereidingsafval.**

Buffer VXL en Buffer AW1 bevatten guanidiniumchloride en Buffer ACB bevat guanidiniumthiocyanaat, dat een extreem reactieve verbinding kan vormen als het met bleek wordt gecombineerd.

Als u vloeistof morst dat een van deze buffers bevat, reinig de morsvlek dan met water en een reinigingsmiddel dat geschikt is voor laboratoria. Als de gemorste vloeistof potentieel besmettelijke agentia bevat, reinigt u het aangetaste gebied eerst met water en een reinigingsmiddel dat geschikt is voor laboratoria en vervolgens met 1% (v/v) natriumhypochloriet.

Kwaliteitsbeheer

In overeenstemming met het ISO-gecertificeerde kwaliteitsbeheersysteem van INDICAL wordt elke partij van de IndiMag Pathogen Kit tegen vooraf vastgestelde specificaties getest om een consistente kwaliteit van het product te waarborgen.

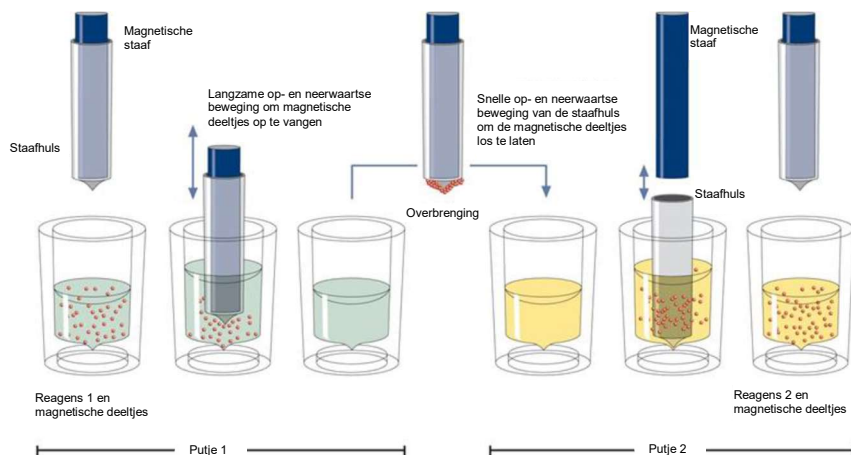
Inleiding

Dankzij de magnetische-korreltechnologie kunnen hoogwaardige nucleïnezuren worden gezuiverd die geen eiwitten, nucleasen en andere onzuiverheden bevatten. De gezuiverde nucleïnezuren kunnen direct voor daaropvolgende toepassingen worden gebruikt, zoals voor amplificaties of andere enzymatische reacties.

Met de IndiMag Pathogen Kit kan virus RNA, virus DNA en bacterieel DNA snel uit een breed scala aan dierlijke monstertypen worden gezuiverd (zie Tabel 2 op pagina 15) met behulp van het IndiMag 48-, KingFisher Flex-, BioSprint 96- of een gelijkwaardig werkstation (zie 'Uitgangsmateriaal' op pagina 18). Specifieke combinaties van monstertypen en pathogenen moeten echter door de gebruiker worden gevalideerd.

Uitgangspunt en procedure

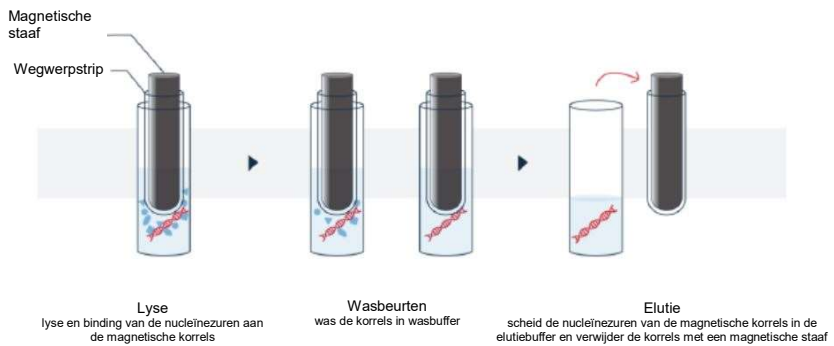
De IndiMag Pathogen Kit maakt gebruik van MagAttract's technologie van magnetische deeltjes voor de zuivering van nucleïnezuren. Bij deze technologie worden de snelheid en doeltreffendheid van de op silica gebaseerde zuivering van nucleïnezuren gecombineerd met de handige verwerking van magnetische deeltjes (Afbeelding 1, pagina 11).



Afbeelding 1. Schematische weergave van het magnetische-korrelprincipe. Een monster met magnetische deeltjes wordt als volgt in het werkstation verwerkt: Stap 1) een magnetische staaf, met daaromheen een staafhuls, wordt in een putje met daarin het monster gestoken (zie putje 1 in de afbeelding) en trekt de magnetische deeltjes aan. Stap 2) de huls van de magnetische staaf wordt boven een ander putje gehouden (zie putje 2 in de afbeelding) en de magnetische deeltjes worden losgelaten. Tijdens de monsterverwerking worden stap 1 en 2 verscheidene keren herhaald.

De zuiveringsprocedure is zodanig opgezet dat potentieel besmettelijke monsters op handige en reproduceerbare wijze worden verwerkt (Afbeelding 2, pagina 12).

Afhankelijk van het uitgangsmateriaal kunnen monsters in één stap worden gelyseerd in de aanwezigheid van chaotropische zouten en Proteinase K, waarbij er nucleïnezuren vrijkomen die zich binden aan het silica-oppervlak van de magnetische deeltjes van MagAttract. DNA en RNA dat zich aan de magnetische deeltjes bindt, kan daarna eenvoudig worden gewassen en aan de lucht worden gedroogd. In Buffer AVE worden de hoogwaardige nucleïnezuren geëluëerd. Het resulterende aantal nucleïnezuren varieert, afhankelijk van het monsterstype en de monsteropslag.



Afbeelding 2. Schematische weergave van de protocolstappen

Beschrijving van de protocollen

In deze handleiding zijn twee protocollen beschreven. Met het eerste protocol worden de nucleïnezuren in de monsters gezuiverd met het IndiMag 48-werkstation; met het tweede protocol worden de monsters gezuiverd met het KingFisher Flex-, BioSprint 96- of een gelijkwaardig werkstation.

Voor sommige monsters is een voorbehandeling nodig voorafgaand aan de zuivering van de nucleïnezuren; Tabel 2 op pagina 15 geeft een overzicht van welke voorbehandelingsprotocollen geschikt zijn voor verschillende combinaties uitgangsmaterialen en pathogenen.

Het duurt ongeveer 34 minuten om een monster te zuiveren, exclusief de noodzakelijke voorafgaande stappen, zoals het vullen van het S-Block of de 96-well microplates. De lyse- en bindoplossingen die tijdens de procedure worden gebruikt, zijn respectievelijk Buffer VXL en Buffer ACB. Besteed bijzondere aandacht aan de informatie onder 'Veiligheidsinformatie' op pagina 8.

Protocol voor de zuivering van nucleïnezuur

Het protocol 'zuivering van pathogene nucleïnezuren uit vloeistofmonsters' (pagina 26) is geoptimaliseerd voor de zuivering van viraal RNA, viraal DNA en DNA van gemakkelijk te lyseren bacteriën uit maximaal 200 µl vloeistof. Enkele geschikte uitgangsmaterialen voor **directe verwerking** aan de hand van deze methode zijn:

- volbloed
- serum
- plasma
- orale vloeistoffen

- vloeistoffen uit lichaamsholtes
(zoals peritoneaal, synoviaal en cerebrospinaal vocht)
- vloeibare extracten van uitstrijkjes
(zoals nasale, faryngeale en cloacale* uitstrijkjes)
- spoelingsvloeistoffen
(zoals vloeistof van bronchoalveolaire lavages)
- andere vloeistoffen, zoals suspensies van urine of ontlasting*

* Voor de verwerking van monsters met een hoge remmerspiegel, zoals urine en ontlasting, is mogelijk een lager monstervolume of een aanvullend aantal metingen nodig. Neem contact op met het ondersteuningsteam van INDICAL voor meer aanbevelingen over de voorbehandeling (support@indical.com).

Voorbehandelingen

De in deze handleiding vermelde voorbehandelingen zijn geoptimaliseerd voor specifieke combinaties uitgangsmaterialen en doelpathogenen. De keuze voor een bepaalde voorbehandeling is afhankelijk van het doel van de workflow; na de voorbehandeling moeten de nucleïnezuren worden gezuiverd.

In Tabel 2 op pagina 15 vindt u een overzicht van de verschillende voorbehandelingen en de respectievelijke toepassingen.

Voor sommige voorbehandelingen zijn mogelijk aanvullende componenten nodig; deze worden in de voorbehandelingsprotocollen vermeld.

Tabel 2: Voorbehandelingsprotocollen voor vloeistof- en weefselmonsters

Monster	Target	Voorbehandeling	Handleiding
Vloeistoffen (zoals volbloed, serum, plasma, vloeistof van uitstrijkjes of spoelingen, voorbehandeld weefsel)	Viraal RNA, viraal DNA, DNA van gemakkelijk te lyseren bacteriën ¹	-	-
Volbloed of voorbehandeld weefsel	DNA van moeilijk te lyseren bacteriën ¹	Voorbehandeling B1 voor moeilijk te lyseren bacteriën in volbloed of voorbehandeld weefsel	HB-2533
Serum, plasma, uitstrijkjes, spoelvloeistof, vloeistof uit lichaamsholtes, urine	DNA van moeilijk te lyseren bacteriën ¹	Voorbehandeling B2 voor moeilijk te lyseren bacteriën in lichaamsvloeistoffen ²	HB-2534
Weefsel (zoals de lever, milt, nier, lymfeklieren)	Pathogene nucleïnezuren	Voorbehandeling T1 Mechanische weefseldisruptie	HB-2535
	Viraal DNA ³ , bacterieel DNA ⁴	Voorbehandeling T2 Enzymatische vertering van het weefsel	HB-2536

Snelle gedeeltelijke weefseldisruptie	Viraal RNA, viraal DNA, DNA van gemakkelijk te lyseren bacteriën ¹	Voorbehandeling T3	HB-2537
Weefsel met een hoog lipiden- en/of nucleasegehalte (zoals de hersenen en de alvleesklier)	Viraal RNA, viraal DNA, DNA van gemakkelijk te lyseren bacteriën ¹	Voorbehandeling T4	HB-2538
Ontlasting	Viraal RNA en DNA	Voorbehandeling F1 Suspensiemethode zonder lyse	HB-2513
	Bacterieel DNA ¹ en viraal DNA	Voorbehandeling F2 Suspensiemethode met lyse	HB-2514
	<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> -DNA (MAP-DNA)	Voorbehandeling F-MAP	HB-2503
Filterkaarten		Voorbehandeling C1	HB-2520
Uitstrijkjes (tracheaal, orofaryngraal, bloed)		Voorbehandeling S1	HB-2516

1 Grampositieve bacteriën zijn moeilijk te lyseren vanwege hun harde celwand. Veel gramnegatieve bacteriën zijn makkelijk te lyseren, maar sommigen niet, dus deze monsters kunnen ook het beste worden voorbehandeld met voorbehandeling B1 of B2.

2 Niet geschikt voor volbloed.

3 Niet geschikt voor viraal RNA, omdat de integriteit van het RNA niet voldoende wordt behouden door de lyse-omstandigheden.

4 Volg voorbehandelingsprotocol B1 voor moeilijk te lyseren bacteriën.

Ga voor meer informatie over voorbehandelingen naar de website www.indical.com/handbooks of neem contact op met het ondersteuningsteam van INDICAL via support@indical.com.

Door de gebruiker te verstrekken apparatuur en reagentia

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.

- IndiMag 48-, KingFisher Flex-, BioSprint 96-werkstation of een gelijkwaardig werkstation
 - Indien van toepassing: magnetische kop voor gebruik met de Large 96-Rod Cover
 - Pipetten en pipetpunten met aerosolbarrière voor eenmalig gebruik (20-1000 µl)
 - Meerkanaals pipet en pipetpunten met aerosolbarrière voor eenmalig gebruik (1000 µl)
 - Multidispenser
 - Ethanol (96-100%)*
 - Isopropanol
 - Fosfaatgebufferde zoutoplossing (phosphate-buffered saline, PBS), eventueel benodigd voor het verdunnen van monsters
 - Vortexmixer
 - Zacht doekje en 70% ethanol of een ander desinfectiemiddel om de gebruikte werktafel te reinigen
- Let op:** voor informatie over reiniging en onderhoud van het extractieapparaat leest u de betreffende gebruiksaanwijzing

* Gebruik geen gedenatureerde alcohol die andere substanties bevat, zoals methanol of methylethylketon.

Belangrijke waarschuwingen

Uitgangsmateriaal

De protocollen in deze handleiding zijn geoptimaliseerd voor de zuivering van virale en bacteriële nucleïnezuren uit gemakkelijk te lyseren monstertypen met een lage tot gemiddelde complexiteit. Het IndiMag Pathogen-protocol bevat tevens een speciale stap waarbij een efficiënte lyse en binding in één keer wordt gecombineerd voor een snelle en simpele monsterverwerking. Een speciale disruptie- en/of lyse-voorbehandeling is wellicht nodig voor monstertypen met een hogere complexiteit, zoals weefsel, ontlasting en bepaalde pathogenen die moeilijk te lyseren zijn, waaronder grampositieve bacteriën. De gebruiker dient zelf vooraf vast te stellen welke voorbehandeling voor welk materiaal geschikt is. In de onderstaande paragrafen staat algemene informatie over aanbevolen monstertypen. Neem voor meer informatie contact op met het ondersteuningsteam van INDICAL via **support@indical.com**.

Zeer viskeuze vloeistoffen moeten mogelijk eerst zodanig worden behandeld dat de viscositeit wordt verminderd om zo pathogene nucleïnezuren efficiënter te kunnen extraheren. Neem voor aanbevelingen contact op met het ondersteuningsteam van INDICAL via **support@indical.com**.

Het herhaaldelijk ontdooien en opnieuw invriezen van monsters moet worden vermeden, aangezien hierdoor het resulterende totale aantal nucleïnezuren en de kwaliteit van deze nucleïnezuren kunnen worden aangetast.

Dierlijk volbloed

Voor de zuivering van nucleïnezuur kunnen bloedmonsters worden gebruikt die EDTA, citraat of heparine als antistollingsmiddel bevatten. De monsters mogen zowel vers als bevroren zijn, mits ze niet vaker dan één keer eerder zijn ontdooid. Het meermaals ontdooiden en opnieuw invriezen van monsters kan leiden tot de denaturatie en precipitatie van eiwitten, hetgeen resulteert in een mogelijke vermindering in virale titers en daarmee in een verminderd aantal resulterende nucleïnezuren.

Na de bloedafname en -centrifugering kunnen monsters van volbloed maximaal 6 uur bij 2-8°C worden bewaard. Voor langdurige opslag raden we aan aliquots in te vriezen bij -30 tot -15°C of bij -70°C.

We raden u aan om 50-200 µl bloed te gebruiken met niet-genucleëerde rode bloedcellen. Een buitengewoon verhoogd aantal cellen vanwege een ontstekingsziekte of neoplastische ziekte kan leiden tot een sterk verhoogd aantal nucleïnezuren in een monster. In dat geval kan een kleiner monstervolume van maximaal 50 µl tot betere resultaten in latere tests leiden, met name bij een RT-PCR. Als u minder dan 200 µl bloed gebruikt, vult u het monstervolume met PBS of 0,9% NaCl aan tot 200 µl.

In het geval van bloedmonster met genucleëerde rode bloedcellen (zoals monsters van vogels of vissen), gebruikt u minder dan 50 µl bloed en vult u het monstervolume met PBS of 0,9% NaCl aan tot 200 µl.

Dierlijk(e) serum, plasma, andere lichaamsvloeistoffen, uitstrijkjes en spoelingen

Bevroren plasma of serum mag niet vaker dan één keer zijn ontdooid voordat het wordt verwerkt.

Er kan maximaal 200 µl serum, plasma, ander lichaamsvloeistof, bovenstaande vloeistof van een uitstrijkje of spoelvloeistof worden verwerkt.

Voor de verwerking van monsters met een hoge remmerspiegel, zoals suspensies van urine en ontlasting, is mogelijk een lager monstervolume en/of een extra voorbehandeling nodig om de remmers te elimineren. Voor een lager monstervolume gebruikt u 25-50 µl monster en vult u het volume met PBS of 0,9% NaCl aan tot 200 µl.

Voor de extractie van bacterieel DNA kan het monstervolume tot meer dan 200 µl worden verhoogd, zoals 1,5 ml voor een gevoeligere detectie van bacteriën. Gramnegatieve bacteriën in celvrije vloeistoffen kunnen door middel van centrifugering van grotere volumes worden geconcentreerd. Resuspendeer pellets in PBS en gebruik 200 µl als uitgangsvolume. Zie Voorbehandeling B2 voor de extractie van DNA uit moeilijk te lyseren bacteriën.

Dierlijk weefsel

Wanneer u weefselmonsters verwerkt, is de mechanische of enzymatische disruptie van de weefselstructuur een voorwaarde voor het loskomen van de cellen, voor het daaropvolgend vrijkomen van nucleïnezuren en voor de permeabiliteit van het membraan van de stof.

De verschillende weefseltypen kunnen sterk verschillen in textuur en rigiditeit, celtypen, nucleïnezuren van de gastheer en remmende stoffen. Daarnaast kan de lokalisatie van pathogene nucleïnezuren in het weefsel verschillen naar gelang het weefseltype, het pathogeen en de fase van de infectie. Bij het ondersteuningsteam van INDICAL zijn extra voorbehandelingen voor weefselmonsters verkrijgbaar, waaronder een snel protocol en aanbevelingen voor de verwerking van moeilijke weefsels.

Als aanvangsgewicht kan er maximaal 25 mg vers of bevroren weefsel worden gebruikt. In het geval van weefsel met een hoog aantal cellen

voor een bepaalde massa weefsel (zoals weefsel van de alveesklier), moet er minder aanvangsmateriaal (5-10 mg) worden gebruikt.

Opmerking: vaste deeltjes die in het homogenaat achterblijven, kunnen zich voegen met de magnetische deeltjes van MagAttract, waardoor het aantal resulterende nucleïnezuren lager uitvalt.

Aantal resulterende nucleïnezuren

Bij monsters met weinig cellen (zoals serum en plasma) kan het aantal resulterende nucleïnezuren minder dan 1 µg zijn; dergelijke monsters zijn dus moeilijk te kwantificeren door middel van spectrofotometrie. Daarnaast bevat eluaat met Carrier RNA mogelijk veel meer Carrier RNA dan doel-nucleïnezuur. Met de IndiMag Pathogen Kit wordt totaal nucleïnezuur verkregen. Daarom wordt cellulair DNA en RNA samen met viraal RNA, viraal DNA en bacterieel DNA uit de cellen in het monster gezuiverd en kunnen deze niet van elkaar worden onderscheiden met spectrofotometriemetingen. We raden u aan gebruik te maken van een kwantitatieve amplificatiemethode, zoals kwantitatieve realtime PCR of realtime RT-PCR, om het aantal pathogene nucleïnezuren vast te stellen.

Carrier RNA en interne controles gebruiken

Carrier RNA

We raden aan Carrier RNA toe te voegen aan vloeistoffen met weinig cellen, zoals serum, plasma, uitstrijkjes en spoelvloeistof. Dit verbetert de adsorptie van viraal RNA en DNA aan de magnetische deeltjes, wat vooral belangrijk is als er weinig doelmoleculen zijn. Bovendien zorgt een bovenmatige hoeveelheid Carrier RNA ervoor dat de kans dat viraal RNA degradeert lager wordt in het zeldzame geval dat RNasen niet worden gedenateerd door de chaotropische zouten en

wasmiddelen in de lysebuffer. Als u geen Carrier RNA gebruikt, kan dit ertoe leiden dat er minder virale nucleïnezuren worden verkregen.

Interne controle

Het gebruik van een interne controle, zoals intype IC-DNA en intype IC-RNA, is optioneel en afhankelijk van het amplificatiesysteem dat wordt gebruikt. Als de IndiMag Pathogen Kit met een amplificatiesysteem wordt gebruikt waarin een interne controle is geïmplementeerd, moet deze interne controle mogelijk tijdens de zuiveringsprocedure worden ingebracht om de doeltreffendheid van de monsterbereiding en de daaropvolgende tests te kunnen bewaken.

Voeg onbeschermde nucleïnezuren van de interne controle (zoals plasmide-DNA of in-vitro getranscribeerd RNA) alleen toe aan het VXL-mengsel. De nucleïnezuren van deze interne controle mogen niet rechtstreeks in contact komen met het monster.

De hoeveelheid interne controle die wordt toegevoegd, is afhankelijk van het testsysteem en het elutievolume. De gebruiker moet controleren of de juiste hoeveelheid nucleïnezuren van de interne controle wordt toegevoegd. Raadpleeg de gebruiksinstructies van de fabrikant voor het vaststellen van de optimale concentratie interne controle of neem contact op met het ondersteuningsteam van INDICAL (support@indical.com) voor meer informatie.

Nucleïnezuren bewaren

Voor een kortdurige opslag van maximaal 24 uur raden we aan het gezuiverde virale RNA en DNA bij 2-8°C te bewaren. Voor opslag langer dan 24 uur raden we aan de gezuiverde nucleïnezuren bij -30 tot -15°C te bewaren, of zelfs bij -70°C in het geval van RNA.

RNA verwerken

RNasen zijn zeer stabiele en actieve enzymen die over het algemeen geen cofactoren nodig hebben om te kunnen functioneren. Gebruik alleen plastic of glazen artikelen als u eerst een eventuele Rnase-besmetting hebt geëlimineerd; RNasen zijn namelijk moeilijk te inactiveren en slechts een minieme hoeveelheid is voldoende om RNA te vernietigen. Pas op dat u tijdens of na de zuiveringsprocedure niet per ongeluk RNasen in het RNA-monster inbrengt.

Reagentia bereiden

Voorraadoplossing Carrier RNA

Gevriesdroogd Carrier RNA moet vóór gebruik eerst worden opgelost in Buffer AVE. Voeg 310 µl Buffer AVE toe aan het buisje met 310 µg gevriesdroogd Carrier RNA om een voorraadoplossing van 1 µg/µl te krijgen. Voeg deze oplossing aan het Buffer VXL-mengsel toe conform Tabel 3 op pagina 27. Niet-gebruikt Carrier RNA dat in Buffer AVE is opgelost, moet in aliquots opnieuw worden ingevroren bij -30 tot -15°C. De aliquots van Carrier RNA mogen maximaal drie keer opnieuw worden ingevroren.

Proteinase K

De IndiMag Pathogen Kit bevat gebruiksklaar Proteinase K, dat in een speciaal geformuleerde opslagbuffer wordt geleverd.

De Proteinase K-oplossing heeft een activiteit van 600 mAU/ml.

Proteinase K is tot minstens 1 jaar na levering stabiel bij opslag op kamertemperatuur (15-25°C). We raden u aan om Proteinase K bij 2-8°C te bewaren als u het langer dan één jaar wilt bewaren of als de omgevingstemperatuur van de opslagruimte regelmatig hoger is dan 25°C.

Buffer ACB

Buffer ACB wordt geleverd als concentraat. Voeg vóór het eerste gebruik isopropanol (100%) toe volgens de instructies op de fles. Zet een vinkje in het selectievakje op het etiket van de fles ter indicatie dat er isopropanol aan is toegevoegd. Meng goed nadat u de isopropanol hebt toegevoegd.

MagAttract Suspension G

Schud de fles met MagAttract Suspension G heen en weer en meng 3 minuten in een vortexmixer (vóór het eerste gebruik) of 1 minuut (voor elk later gebruik) om er zeker van te zijn dat de magnetische silicadeeltjes volledig zijn geresuspendeerd.

Buffer AW1

Buffer AW1 wordt geleverd als concentraat. Voeg vóór het eerste gebruik ethanol (96-100%) toe volgens de instructies op de fles. Zet een vinkje in het selectievakje op het etiket van de fles ter indicatie dat er ethanol aan is toegevoegd. Gereconstitueerd Buffer AW1 kan maximaal 1 jaar op kamertemperatuur (15-25°C) worden bewaard. Meng goed nadat u het ethanol hebt toegevoegd.

Buffer AW2

Buffer AW2 wordt geleverd als concentraat. Voeg vóór het eerste gebruik ethanol (96-100%) toe volgens de instructies op de fles. Zet een vinkje in het selectievakje op het etiket van de fles ter indicatie dat er ethanol aan is toegevoegd. Meng goed nadat u het ethanol hebt toegevoegd.

Buffer AVE hanteren

Buffer AVE wordt RNase-vrij geleverd. Deze buffer bevat natriumazide: een antimicrobieel middel dat voorkomt dat RNase-producerende organismen kunnen groeien. Aangezien de buffer echter geen stoffen bevat die RNasen afbreken, worden de RNasen die als gevolg van een onjuiste hantering in het monster worden ingebracht, niet actief geremd. Pas bij het hanteren van Buffer AVE goed op dat er geen besmetting met RNasen ontstaat. Houd u aan de algemene voorzorgsmaatregelen voor het hanteren van RNA: trek dus regelmatig nieuwe handschoenen aan en houd buisjes zo veel mogelijk gesloten.

Protocol: zuivering van pathogene nucleïnezuren uit vloeistofmonsters

Dit protocol is bedoeld voor de zuivering van viraal RNA, viraal DNA en DNA van gemakkelijk te lyseren bacteriën uit vloeistoffen of voorbehandelde weefsels met behulp van het IndiMag 48-, KingFisher Flex-, BioSprint 96- of een gelijkwaardig werkstation en de IndiMag Pathogen Kit.

Wat u moet weten voor u begint

- Zorg dat u weet hoe u het werkstation correct bedient. Raadpleeg de betreffende gebruiksaanwijzing voor de gebruiksinstructies.
- Lees voorafgaand aan de procedure 'Belangrijke waarschuwingen' (pagina 18).
- Controleer of Buffer ACB, Buffer AW1, Buffer AW2 en Carrier RNA volgens de instructies in de paragraaf 'Reagentia bereiden' (pagina 23) zijn bereid.
- Controleer of Buffer VXL of Buffer ACB geen wit precipitaat bevat. Incubeer Buffer VXL of Buffer ACB indien nodig 30 minuten op 37°C en schud regelmatig heen en weer om het precipitaat op te lossen.
- Bij gebruik van de IndiMag Pathogen Kit (SP947457): de 96-rod covers worden in sets van 2 stuks geleverd. Hebt u een nieuw setje van 2 stuks geopend, bewaar de tweede 96-rod cover dan op een ander S-Block of andere plaat. Zorg ervoor dat de 96-rod covers niet worden gebogen.

Wat u moet doen voordat u begint

- Ontdooi de monsters en equilibreer ze op kamertemperatuur (15-25°C).
- Als het monstervolume kleiner is dan 200 µl, vult u het met PBS of 0,9% NaCl aan tot een eindvolume van 200 µl.
- Bereid het Buffer VXL-mengsel conform Tabel 3 op pagina 27 voor gebruik in stap 3 van de procedure. Voeg MagAttract Suspension G pas toe als u zeker weet dat het reagens volledig is geresuspendeerd. Meng 3 minuten in een vortexmixer vóór het eerste gebruik of 1 minuut voor elk later gebruik.

Belangrijk: voeg Proteinase K niet rechtstreeks aan het Buffer VXL-mengsel toe! Hierdoor kunnen klontjes of precipitaten ontstaan. Volg de onderstaande procedure (pipetteer Proteinase K in de putjes, gevolgd door het monster en als laatste het Buffer VXL-mengsel).

Tabel 3: Bereiding van het Buffer VXL-mengsel

Reagens	Aantal monsters*		
	1	48	96
Buffer VXL	100 µl	4,8 ml	9,6 ml
Buffer ACB	400 µl	19,2 ml	38,4 ml
MagAttract Suspension G	25 µl	1,2 ml	2,4 ml
Carrier RNA (1 µg/µl)	1 µl	48 µl	96 µl

* Het bereide volume is 105% van het benodigde volume om te compenseren voor pipetteerfouten en eventuele verdamping. Gooi het teveel aan buffer weg.

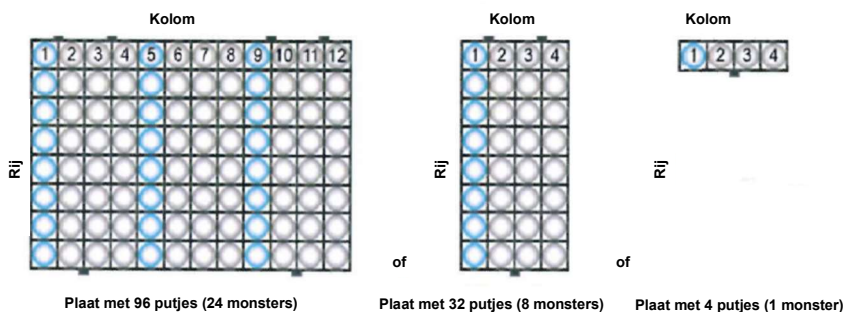
Procedure voor gebruik met het IndiMag 48-werkstation

1. Etiketteer en bereid platen met 4/32/96 putjes (kolom 2-4) conform Tabel 4.

Tabel 4: Opstelling van het instrument en reagensvolumes

Kolom	Toe te voegen artikel	Volume per putje
1	Lysaat	Lysaat*
2	Wasbeurt 1	Buffer AW1
3	Wasbeurt 2	Buffer AW2
4	Elutie	Buffer AVE

* Bestaat uit 20 µl Proteinase K, 200 µl monster en 500 µl Buffer VXL-mengsel



2. Zorg dat u genoeg Buffer VXL-mengsel bereidt volgens Tabel 3 op pagina 27.
3. Pipetteer 20 µl Proteinase K in het onderste putje van de eerste kolom en voeg 200 µl monster toe.

Opmerking: bij een monstervolume van minder dan 200 µl vult u het volume met PBS aan tot 200 µl.

4. Meng het Buffer VXL-mengsel 30 seconden goed door en voeg 500 µl ervan toe aan elk monster in de plaat met diepe putjes.
5. Plaats de bereide platen vervolgens direct in het IndiMag 48-werkstation, zet de strips op de hulzen van de magnetische staaf in de juiste positie en begin met het geschikte protocol.

Let op: op het IndiMag 48-werkstation is het protocol 'Pathogen' standaard al geïnstalleerd.

Procedure voor gebruik met een magnetische-deeltjesprocessor (zoals KingFisher Flex, BioSprint 96 of gelijkwaardig)

1. Etiketmeer en bereid 4 platen met 96 diepe putjes (S-Block) en 1 96-well microplate (sleuf 2-6) conform Tabel 5.

Tabel 5 Opstelling van het instrument en reagensvolumes

Sleuf	Plaatsingsbericht	Indeling	Toe te voegen artikel	Volume per putje
6	Plaats staafhuls	Plaat met 96 diepe putjes	Deksel voor kam voor 96 punten	—
5	Plaats elutie	Microtiterplaat met 96 putjes	Buffer AVE	100 µl
4	Plaats wasbeurt 3	Plaat met 96 diepe putjes	Ethanol (96-100%)	750 µl
3	Plaats wasbeurt 2	Plaat met 96 diepe putjes	Buffer AW2	700 µl
2	Plaats wasbeurt 1	Plaat met 96 diepe putjes	Buffer AW1	700 µl
1	Plaats lysaat	Plaat met 96 diepe putjes	Lysaat*	720 µl

* Bestaat uit 20 µl Proteinase K, 200 µl monster en 500 µl Buffer VXL-mengsel

2. Zorg dat u genoeg Buffer VXL-mengsel bereidt volgens Tabel 3 op pagina 27.
3. Pipetteer 20 µl Proteinase K onderaan een nieuw putje van de plaat met 96 diepe putjes of het S-Block en voeg er 200 µl monster aan toe.

Opmerking: bij een monstervolume van minder dan 200 µl vult u het volume met PBS aan tot 200 µl.

4. Meng het Buffer VXL-mengsel 30 seconden goed door en voeg 500 µl ervan toe aan elk monster in de plaat met 96 diepe putjes.
5. Plaats de bereide platen vervolgens direct in de processor en begin met het betreffende protocol.

Opmerking: Tabel 1 op pagina 6 bevat een overzicht van de verschillende apparaten en de overeenkomende scriptnamen.

Problemen oplossen

Dit gedeelte kan nuttig zijn bij het oplossen van eventuele problemen.

Neem voor meer informatie of hulp contact op met het ondersteuningsteam van INDICAL via support@indical.com.

Opmerkingen en suggesties		
Weinig resulterend DNA en RNA		
1	MagAttract Suspension G is niet volledig geresuspendeerd	Zorg dat de MagAttract Suspension G volledig is geresuspendeerd voordat deze aan het Buffer VXL-mengsel wordt toegevoegd. Meng ten minste 3 minuten in een vortexmixer vóór het eerste gebruik of 1 minuut vóór elk later gebruik.
2	Buffer VXL-mengsel is niet correct bereid	Controleer of het Buffer VXL-mengsel met aanvullende reagentia in de juiste hoeveelheden is bereid volgens de instructies op de bufferfles. Voer de DNA-zuiveringsprocedure opnieuw uit met nieuwe monsters.
3	Buffer AW1 of Buffer AW2 is onjuist bereid	Controleer of het Buffer AW- of Buffer AW2-concentraat met het juiste volume 96-100% ethanol is verdund volgens de instructies op de fles. Gebruik geen gedenatureerde alcohol, die andere substanties bevat, zoals methanol of methylethylketon. Voer het zuiveringsprotocol opnieuw uit met nieuwe monsters.
4	Reagentia zijn in de verkeerde volgorde op de werktafel geplaatst	Controleer of alle reagentia in de juiste volgorde op de BioSprint 96-werktafel zijn geplaatst. Voer het zuiveringsprotocol opnieuw uit met nieuwe monsters.

<p>5 Lyse van onvoldoende monster</p>	<p>Het Proteinase K is te lang op een te hoge temperatuur bewaard. Voer de zuiveringsprocedure opnieuw uit met nieuwe monsters en vers Proteinase K (zie de opslagaanbevelingen op pagina 7).</p> <p>Bij sommige DNA-virussen en bacteriën kan een verwarmde lyse leiden tot een verbeterde doeltreffendheid van de lyse. Hiertoe is een lyseprotocol zonder gebruik van het werkstation beschikbaar. Neem contact op met het ondersteuningsteam van INDICAL via support@indical.com.</p>
<p>6 Carrier RNA is niet toegevoegd aan Buffer VXL of gedegradieerd Carrier RNA</p>	<p>Zie de aanbevelingen voor de bereiding, opslag en toevoeging van Carrier RNA.</p>
<p>7 Het mengsel van Buffer VXL/Proteinase K/Carrier RNA is niet voldoende gemengd</p>	<p>Meng goed door met behulp van een grote pipet.</p>
<p>8 RNase-besmetting in Buffer AVE</p>	<p>Pas op dat u geen RNases inbrengt; hierdoor kan viraal RNA gaan degraderen. RNase-besmetting kan ontstaan als buisjes met Buffer AVE veelvuldig worden geopend. Als er sprake is van RNase-besmetting vervangt u de geopende flacon met Buffer AVE door een nieuwe flacon. Voer de zuiveringsprocedure opnieuw uit met nieuwe monsters.</p>
<p>9 Nucleïnezuren in monsters waren al gedegradieerd vóór zuivering</p>	<p>De monsters zijn vaker dan één keer ontdooid en vervolgens opnieuw ingevroren of zijn te lang op kamertemperatuur bewaard (15-25°C). Gebruik altijd verse monsters of monsters die maximaal één keer eerder zijn ontdooid. Voer het zuiveringsprotocol opnieuw uit met nieuwe monsters.</p>
<p>De prestaties van het DNA of RNA in latere toepassingen zijn niet goed</p>	
<p>1 Weinig of geen DNA of RNA in het eluaat</p>	<p>Zie 'Weinig resulterend DNA en RNA' (hierboven) voor mogelijke oorzaken hiervan. Voeg indien mogelijk een grotere hoeveelheid eluaat aan de</p>

		reactie toe.
2	Overheveling van magnetische deeltjes	<p>Overheveling van magnetische deeltjes in het eluaat heeft geen invloed op de meeste latere toepassingen. De overheveling van magnetische deeltjes kan worden beperkt door de microtiterplaat met eluaat 1 minuut in een geschikte magneet te plaatsen (zoals type-A-magneet voor 96 putjes of een magneet voor 12 buisjes) en het eluaat vervolgens over te brengen naar een schone microtiterplaat.</p> <p>Als er geen geschikte magneet voorhanden is, kunt u de microtiterplaat met het eluaat ook 1 minuut lang op volle snelheid laten centrifugeren om de overgebleven magnetische deeltjes te pelleren. Breng de bovenstaande vloeistof daarna over naar een schone microtiterplaat.</p>
3	Overmatig eluaat in de amplificatiereactie	Stel het maximumvolume van het eluaat vast dat geschikt is voor uw amplificatiereactie. Pas het eluaatvolume dat aan de amplificatiereactie wordt toegevoegd dienovereenkomstig aan.
4	Gedegradeerd RNA	Mogelijk is het RNA gedegradeerd door RNasen in de oorspronkelijke monsters. Controleer of de monsters direct na de monstername of na het ophalen uit de opslag zijn verwerkt. Voer het zuiveringsprotocol opnieuw uit met nieuwe monsters.
5	Nucleïnezuren in monsters waren al gedegradeerd vóór zuivering	De monsters zijn vaker dan één keer ontdooid en vervolgens opnieuw ingevroren of zijn te lang op kamertemperatuur bewaard (15-25°C). Gebruik altijd verse monsters of monsters die maximaal één keer eerder zijn ontdooid. Voer het zuiveringsprotocol opnieuw uit met nieuwe monsters.
6	Er is geen Carrier RNA toegevoegd aan het Buffer VXL-mengsel	Reconstitueer Carrier RNA in Buffer AVE en meng met een passend volume Buffer AVE volgens de instructies in de paragraaf 'Carrier RNA en interne controles gebruiken' (pagina 21). Voer het zuiveringsprotocol opnieuw uit met nieuwe monsters.

7	Te veel of te weinig Carrier RNA in het eluaat	Stel de maximumhoeveelheid Carrier RNA vast dat geschikt is voor uw amplificatiereactie. Pas de concentratie van de Carrier RNA-oplossing die aan het Buffer VXL-mengsel wordt toegevoegd dienovereenkomstig aan.
8	Gedegradeerd Carrier RNA	In Buffer AVE gereconstitueerd Carrier RNA is niet bij -30 tot -15°C bewaard of is meerdere keren ontdooid en opnieuw ingevroren. Bereid een nieuw buisje met Carrier RNA dat in Buffer AVE is opgelost en bewaar op de juiste wijze. Voer de zuiveringsprocedure opnieuw uit met nieuwe monsters.
9	PCR-remming	Sommige monstertypen (zoals dierlijk volbloed en ontlasting) kunnen grote hoeveelheden PCR-remmende stoffen bevatten. Zonder speciale behandeling worden mogelijk niet alle remmers verwijderd. Verlaag het monstervolume en/of de hoeveelheid eluaat die aan de amplificatiereactie wordt toegevoegd.
Precipitaat in buffers		
1	Precipitaat in Buffer VXL of Buffer ACB	Er kan een precipitaat ontstaan bij opslag op een lage temperatuur of een te lange opslag. Incubeer Buffer VXL of Buffer ACB 30 minuten op 37°C en schud regelmatig heen en weer om het precipitaat op te lossen.
2	Precipitaat in monster/Buffer VXL-mengsel	Bij gebruik van een monstervloeistof die Buffer ATL bevat, zoals na een enzymatische vertering van weefsel, kan er een precipitaat ontstaan als er Buffer VXL aan het monster wordt toegevoegd. Het precipitaat heeft geen invloed op verdere protocolstappen en kan met een korte incubatie op 56°C worden opgelost.

Bestelinformatie

Productnaam	Cat.nr.
IndiMag Pathogen Kit (384) <i>voorheen MagAttract 96 cador Pathogen Kit (384)</i>	SP947457
IndiMag Pathogen Kit w/o plastics (384) <i>voorheen MagAttract 96 cador Pathogen Kit w/o plastics (384)</i>	SP947257
IndiMag 48	IN-942048
IndiMag 48 PW 1-Sample Block (368)	PW940123
IndiMag 48 PW 8-Sample Block (560)	PW940166
IndiMag 48 PW 24-Sample Block (672)	PW940187
IndiMag 48 PW Rod cover (672)	PW940237
intype IC-DNA	IC289980
intype IC-RNA	IC289970

INDICAL levert een breed scala aan gebruiksklare pathogeenspecifieke ELISA-kits, qPCR-/ RT-qPCR-assays en reagentia.

Voor een optimale workflow en voor al uw monster- en verwerkingsbehoeften biedt INDICAL daarnaast ook instrumenten en kits aan voor een efficiënte extractie van nucleïnezuren uit diverse monstertypen.

Ga naar **www.indical.com** voor meer informatie over bactotype-, cador-, cattletype-, flocktype-, IndiMag-, IndiSpin-, intype-, pigtype- en virotype-producten.

Zie de handleiding of de gebruiksaanwijzing van het betreffende QIAGEN-product voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules.

Opmerking

Opmerking

Beperkte licentie-overeenkomst voor het gebruik van de IndiMag Pathogen Kit

Door dit product te gebruiken, verklaart de koper of gebruiker van het product zich akkoord met de volgende voorwaarden:

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de protocollen die bij het product zijn meegeleverd en deze handleiding, en mag alleen worden gebruikt met de componenten in de kit. INDICAL geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten componenten van de kit te gebruiken of samen te voegen met componenten die niet bij de kit zijn meegeleverd, behalve zoals beschreven in de protocollen die bij het product zijn meegeleverd, in deze handleiding en in aanvullende protocollen die beschikbaar zijn gesteld op www.indical.com. Enkele van deze aanvullende protocollen zijn door INDICAL-gebruikers beschikbaar gesteld voor andere INDICAL-gebruikers. Deze protocollen zijn niet uitgebreid door INDICAL getest of geoptimaliseerd. INDICAL geeft geen garanties over deze protocollen en kan evenmin waarborgen dat ze geen inbreuk maken op de rechten van derden.
2. Anders dan uitdrukkelijk gesteld in licenties, garandeert INDICAL niet dat deze kit en/of het gebruik ervan geen inbreuk maakt op de rechten van derden.
3. Deze kit en de onderdelen ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, opgeknapt of doorverkocht.
4. INDICAL verwerpt uitdrukkelijk alle andere licenties, expliciet of impliciet, dan die uitdrukkelijk zijn vermeld.
5. De koper en gebruiker van de kit gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen, en niemand anders toestaan stappen te ondernemen, die kunnen leiden tot enige handeling die hierboven als verboden is vermeld, of die dergelijke handelingen mogelijk maken. INDICAL mag de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst bij de rechter afdwingen en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten, inclusief advocaatkosten, verhalen bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht in verband met de kit en/of de onderdelen ervan af te dwingen.

Zie voor bijgewerkte licentievoorwaarden www.indical.com.

Handelsmerken: bactotype[®], cadof[®], cattletype[®], flocktype[®], IndiMag[®], IndiSpin[®], intype[®], pigtype[®], virotype[®] (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); BioSprint[®], MagAttract[®], QIAGEN[®] (QIAGEN Group, Hilden, Duitsland), MagMax[™] (Life Technologies Corporation), BeadRetriever[™], KingFisher[™] (Thermo Fisher Scientific, Inc.). 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.

HB-1926-EN-004 © 2018 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle rechten voorbehouden.

Wijzigingsindex

Handleiding	Versie	Wijziging
HB-1926-EN-004	Oktober 2018	Ontwerp van INDICAL

INDICAL
BIOSCIENCE

Bestellingen: www.indical.com/contact
Technische ondersteuning:
support@indical.com
Website: www.indical.com