

Brugsanvisning til QIAamp[®] DSP Virus Kit (håndbog)



Version 2

IVD

Til in vitro-diagnostisk brug

Til brug med QIAamp[®] DSP Virus Kit

CE

REF

60704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R1 **MAT**

1127541DA

Indhold

Tilsligtet anvendelse	4
Tilsligtet bruger	4
Beskrivelse og princip	5
Lysis med QIAGEN Protease (QP)	5
Adsorption af QIAamp MinElute-membranen	5
Fjernelse af restkontaminanter	5
Elution af virale nukleinsyrer	6
Udbytte og kvalitet af virale nukleinsyrer	6
Tilsætning af interne kontroller	7
Oversigt og forklaring	9
Medfølgende materialer	10
Kit-indhold	10
Sættets komponenter	11
Nødvendige materialer, som ikke medfølger	12
Yderligere reagenser	12
Forbrugsartikler	12
Udstyr	12
Advarsler og forholdsregler	13
Sikkerhedsinformation	13
Nødoplysninger	14
Forholdsregler	15
Bortskaffelse	16

Opbevaring og håndtering af reagenser	17
Stabilitet under brug	17
Prøvetagning, -opbevaring og -håndtering	19
Vigtige bemærkninger	21
Vigtige anvisninger før start	21
Håndtering af QIAamp MinElute-kolonner	22
Klargøring af reagenser og buffere.....	22
Opsætning af QIAvac 24 Plus-vakuumsystem.....	27
Protokol: Isolering og oprensning af virale nukleinsyrer fra plasma eller serum	29
Kvalitetskontrol	33
Begrænsninger	34
Ydelseskarakteristika	35
Fejlfindingsvejledning	36
Symboler	41
Appendiks	44
Bestillingsinformation.....	45
Revisionshistorik for dokumentet	46

Tilsigtet anvendelse

QIAamp® DSP Virus Kit er beregnet til manuel isolering og oprensning af virale nukleinsyrer fra prøver med humant plasma eller serum.

QIAamp DSP Virus Kit anvender silicamembran-teknologi (QIAamp-teknologi) til isolering og oprensning af virale nukleinsyrer fra prøver med humant plasma eller serum.

Produktet er beregnet til in vitro-diagnostisk brug af professionelle brugere, såsom laboratorieteknikere og læger, der er uddannet i molekylærbiologisk teknik.

Tilsigtet bruger

Produktet er beregnet til brug af professionelle brugere, såsom laboratoriepersonale og læger, der er uddannet i molekylærbiologiske teknikker.

Beskrivelse og princip

QIAamp DSP Virus-proceduren består af 4 trin (lysering, binding, vask og eluering) og udføres vha. QIAamp MinElute®-kolonner sammen med en vakuummanifold og en standardmikrocentrifuge. Proceduren er designet til at minimere muligheden for prøve-til-prøve krydskontaminering og muliggør sikker håndtering af potentielt infektiøse prøver. Den enkle QIAamp DSP Virus-procedure er egnet til samtidig behandling af multiple prøver. QIAamp DSP Virus Kit kan anvendes til isolering af viralt RNA og DNA fra en bred række RNA- og DNA-vira. Ydelseskarakteristika for hver virusart er imidlertid ikke blevet fastlagt og skal valideres af brugeren.

Lysis med QIAGEN Protease (QP)

Prøver bliver lyseret under denatureringsforhold ved forhøjede temperaturer. Lyseringen blev udført ved tilstedeværelsen af QIAGEN Protease (QP) og lysisbuffer (AL), som sammen sikrer inaktivering af RNaser.

Adsorption af QIAamp MinElute-membranen

Bindingsforholdene justeres ved at tilsætte ethanol, der muliggør optimal binding af det virale RNA og DNA til membranen. Lysater overføres dernæst til en QIAamp MinElute-kolonne og virale nukleinsyrer adsorberes på silicagel-membranen samtidigt med, at lysatet trækkes igennem vha. vakuumtryk. Salt og pH-forhold sikrer, at protein og andre kontaminanter, som kan hæmme PCR og andre efterfølgende enzymreaktioner, ikke bliver tilbage på QIAamp MinElute-membranen.

Fjernelse af restkontaminanter

Nukleinsyrer forbliver bundet til membranen, mens kontaminanter vaskes effektivt væk under tre vasketrin.

Elution af virale nukleinsyrer

Med et enkelt trin elueres stærkt oprenset viralt RNA og DNA fra QIAamp MinElute-kolonnemembranen i elueringsbuffer (AVE), der er blevet ekvibreret ved stuetemperatur. QIAamp MinElute-kolonner muliggør elueringsmængder på 20 µl eller 60 µl. For efterfølgende applikationer, der kræver små startvolumener (f.eks. visse PCR- og RT-PCR-analyser), kan brugen af virale nukleinsyrer i 20 µl elueringsbuffer (AVE) muligvis øge analysesensiviteten.

For efterfølgende applikationer, der kræver en større startvolumen, kan elueringsmængden øges op til 60 µl. En øgning i elueringsmængden vil imidlertid nedsætte koncentrationen af nukleinsyrer i eluatet.

På grund af den resterende elueringsbuffer, der tilbageholdes af spin-kolonnemembranen efter centrifugering, kan den genvundne eluatmængde være lavere end mængden af påført elueringsbuffer på kolonnen. Mængden af genfundet eluat afhænger desuden af prøvens beskaffenhed.

Eluerede virale nukleinsyrer indsamles i elueringsrør (ET) og kan opbevares ved 2-8 °C i op til 24 timer. Ved langtidsopbevaring i mere end 24 timer anbefaler vi at opbevare oprensede nukleinsyrer ved -20 °C.

Bemærk: Eluatets stabilitet afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. Stabiliteten er blevet evalueret for QIAamp DSP Virus Kit i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Det er brugerens ansvar at konsultere brugsanvisningen til den specifikke efterfølgende anvendelse, der anvendes i laboratoriet, og/eller validere hele arbejdsgangen for at etablere passende opbevaringsbetingelser.

Udbytte og kvalitet af virale nukleinsyrer

Udbyttet af viral nukleinsyre, der isoleres fra biologiske prøver, er normalt under 1 µg. Kvantitative amplifikationsmetoder anbefales til bestemmelse af udbytte. Når nukleinsyrer, der isoleres vha. QIAamp DSP Virus-protokollen, kvantificeres, skal det huskes, at der vil være ret meget mere carrier-RNA i prøven end det virale RNA.

Carrier-RNA tjener to formål: Først forbedrer det bindingen af virale nukleinsyrer til QIAamp-membranen, specielt hvis der er meget få mål-molekyler i prøven. For det andet reducerer tilsætningen af store mængder carrier-RNA chancen for viral RNA-nedbrydning i de sjældne tilfælde, hvor RNase-molekyler ikke denatureres via de kaotropske salte og rengøringsmiddel i lysisbuffer (AL). Hvis carrier-RNA ikke bliver tilsat i lysisbuffer (AL), kan dette føre til reduceret genfindning af viralt RNA eller DNA.

Carrier-RNA kan også inkluderes i nogle interne kontrolreagenser i efterfølgende kommercielle analyser. I disse tilfælde skal du se den relevante brugsanvisning fra producenten af den efterfølgende analyse.

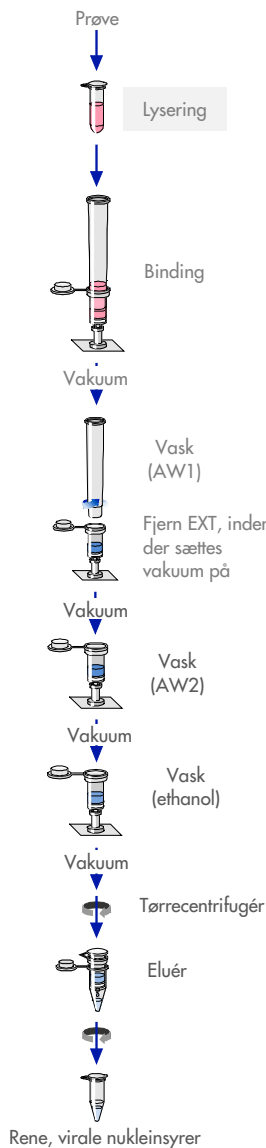
Forskellige amplifikationssystemer varierer i virkning, afhængigt af den samlede mængde nukleinsyrer, der er til stede i reaktionen. Eluater fra dette kit indeholder både virale nukleinsyrer og carrier-RNA og mængderne af carrier-RNA vil i høj grad overstige mængderne af virale nukleinsyrer. Beregninger af hvor meget eluat, der skal tilsættes til efterfølgende amplifikationer, skal derfor tage den tilsatte mængde af tilsat carrier-RNA i betragtning. For at opnå de højeste sensitivitetsniveauer af amplifikationsreaktioner, kan det være nødvendigt at justere mængden af carrier-RNA, der er tilsat lysisbuffer (AL).

Tilsætning af interne kontroller

Anvendelse af QIAamp DSP Virus-protokollen i kombination med kommercielt tilgængelige amplifikationssystemer kan kræve introduktionen af en intern kontrol i oprensningsproceduren. Intern kontrol-RNA eller -DNA skal tilsættes sammen med carrier-RNA'et til lysisbufferen. For optimal oprensningseffektivitet, skal interne kontrolmolekyler være længere end 200 nukleotider, da mindre molekyler ikke genvindes effektivt.

Se fabrikantens vejledning for at kunne bestemme den optimale koncentration. Anvendes der en anden koncentration end den anbefalede, kan det reducere amplifikationseffektiviteten.

QIAamp DSP Virus Procedure



Læs protokollen (side 29) nøje, inden du starter.
Tilsæt 75 µl QP, 500 µl prøve og 500 µl AL til LT.
Vortex i 15 sekunder.
Inkuber i 15 minutter ved 56 °C.
Tilsæt 600 µl ethanol.
Vortex i 15 sekunder.
Inkubér i 5 minutter ved stuetemperatur (15-25 °C).

Overfør lysat til QIAamp MinElute-kolonnen med påsat EXT.

Tilsæt 600 µl rekonstitueret AW1.

Fjern EXT.

Tilsæt 750 µl rekonstitueret AW2.

Tilsæt 750 µl ethanol.

Anbring QIAamp MinElute-kolonnen i WT.
Centrifugér i 1 minut ved 14.000 omdr./min.
Anbring QIAamp MinElute-kolonnen i WT.
Inkuber i 3 minutter ved 56 °C.
Anbring QIAamp MinElute-kolonnen i ET.
Tilsæt 20 µl eller 60 µl AVE.
Inkuber i 3 minutter ved stuetemperatur.
Centrifugér i 1 minut ved 14.000 omdr./min.

Oversigt og forklaring

QIAamp DSP Virus Kit anvender veletableret teknologi til samtidig isolering og oprensning af viralt DNA og RNA. QIAamp DSP Virus-proceduren kombinerer en silica-baseret membrans selektive bindingsegenskaber med minimale elueringsmængder på 20 µl eller 60 µl.


Proceduren er egnet til anvendelse sammen med plasma eller serum, som kan indeholde citrat eller EDTA. Prøver kan være enten friske, lyofiliserede eller frosne, hvis de ikke har været frosne og optøede mere end én gang.

Til vakuumproceduren i denne protokol kræves en vakuummanifold (f.eks. QIAvac 24 Plus med QIAvac Connecting System) og en vakuumpumpe, der kan frembringe et vakuum på ~800-900 mbar (f.eks. QIAGEN® Vacuum Pump). Der skal bruges en Vacuum Regulator (indgår i QIAvac Connecting System) til nem overvågning af vakuumtryk og praktisk udløsning af vakuumtrykket.

Denne procedure kan anvendes til isolering af viralt RNA og DNA fra en bred række RNA- og DNA-vira. Proceduren er designet til at minimere muligheden for prøve-til-prøve krydskontaminering og muliggøre sikker håndtering af potentielt smittefarlige prøver. Proceduren er særdeles velegnet til samtidig behandling af flere prøver. Virale nukleinsyrer elueres i elueringsbuffer (AVE), klar til anvendelse i amplifikationsreaktioner eller opbevaring ved -20 °C til senere brug.

Medfølgende materialer

Kit-indhold

QIAamp DSP Virus Katalognr. Antal klargøringer			60704 50
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (QIAamp MinElute-kolonner med vaskerør) (WT) (2 ml)	COL	50
EXT	Column Extenders (kolonneforlængere) (3 ml)	COL EXT	50
ET	Elution Tubes (elutionsrør) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
VC	VacConnectors (vakuumkonnektorer)	VAC CON	50
LT	Lysis Tubes (lysisrør) (2 ml)	LYS TUBE	50
WT	Wash Tubes (vaskerør) (WT) (2 ml)	WASH TUBE	50
AL	Lysis Buffer* (lysisbuffer)	LYS BUF	33 ml
AW1	Wash Buffer 1 (vaskebuffer 1) (AW1)* (koncentrat)	WASH BUF 1 CON	19 ml
AW2	Wash Buffer 2† (vaskebuffer 2) (AW2) (koncentrat)	WASH BUF 2 CON	13 ml
AVE	Elution Buffer† (elutionsbuffer) (lilla hætter)	ELU BUF	4 x 2 ml
PS	Protease Solvent† (proteaseopløsningsmiddel)	QPROT SOLV	4,4 ml
Carrier	Carrier-RNA (røde hætter)	CAR RNA	310
QP	QIAGEN® Protease‡	QPROT	1 hætteglas
–	Brugsanvisning (Håndbog)		1

* Indeholder guanidinhydrochlorid. Ikke kompatibel med desinfektionsmidler, der indeholder blegemiddel. Se sikkerhedsinformation på side 13.

† Indeholder natriumazid som konserveringsmiddel

‡ Genopslæmningsvolumen 4,4 ml

Sættets komponenter

Hovedkomponenterne i kittet med de aktive stoffer er forklaret nedenfor.

Reagens	Aktive indholdsstoffer	Koncentration (w/w) [%]
QIAGEN Protease (QP)	Subtilisin	≥90 til ≤100
AL	Guanidinhydrochlorid	≥30 til <50
	Maleinsyre	≥0,1 til <1
AW!	Guanidinhydrochlorid	≥50 til <70

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

Yderligere reagenser

- Ethanol (96-100 %)*

Forbrugsartikler

- Pipetter† og pipettespidser (for at forhindre krydskontaminering anbefaler vi på det kraftigste at anvende pipettespidser med aerosolskærme)
- Engangshandsker

Udstyr

- Varmeblok† til lysis af prøver ved 56 °C for 2,0 ml mikropøverør
- Mikrocentrifuge†
- Målecylinder (50 ml)
- Vortexer
- QIAvac 24 Plus-vakuumsystem (kat.-nr. 19413) eller tilsvarende†

* Der må ikke bruges denatureret alkohol, som indeholder andre stoffer, såsom metanol eller methylethylketon.

† Sørg for, at instrumenterne før anvendelse regelmæssigt kontrolleres og kalibreres efter producentens anvisninger.

Advarsler og forholdsregler

Bemærk: Alvorlige hændelser med relation til brugen af udstyret skal muligvis rapporteres til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant samt den ansvarlige myndighed i det land, hvor brugeren og/eller patienten befinder sig.

Til in vitro-diagnostisk brug.

Læs alle anvisninger omhyggeligt før anvendelse af dette kit.

Sikkerhedsinformation

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for yderligere information. Disse er tilgængelige online i et praktisk og kompakt PDF-format på adressen www.qiagen.com/safety, hvor det er muligt at finde, få vist og udskrive SDS'et for hvert QIAGEN-kit og hver kitkomponent.



FORSIGTIG: Tilsæt ikke blegemiddel eller sure opløsninger til væskeaffaldet fra prøveklargøringen.

- Lysisbuffer (AL) og vaskebuffer 1 (AW1) indeholder guanidinhydrochlorid, som kan danne højreaktive forbindelser, når de kombineres med blegemiddel. Hvis væske, der indeholder disse buffere, spildes, rengøres med egnet rengøringsmiddel til laboratorier og vand. Hvis den spildte væske indeholder potentielt smittefarlige stoffer, rengøres det påvirkede område først med rengøringsmiddel til laboratorier og vand og dernæst med 1 % (v/v) natriumhypochlorit.

- Hvis bufferflaskerne er beskadigede eller lækker, bæres der handsker og beskyttelsesbriller, når flaskerne bortskaffes, for at undgå personskade eller skade på andre.
- QIAGEN har ikke testet det flydende affald, der genereres af QIAamp DSP Virus-proceduren mht. resterende infektiøse materialer. Der skal derfor træffes universelle forholdsregler (handsker, kittel og øjenbeskyttelse) ved håndtering af potentielt smittefarligt materiale fra mennesker, når der arbejdes med dette produkt, og væskeaffald skal betragtes som smittefarligt og håndteres og bortskaffes i henhold til lokale sikkerhedsbestemmelser.
- Prøverne kan være smittefarlige. Prøve- og analyseaffald skal bortskaffes i henhold til lokale sikkerhedsprocedurer.

Nødoplysninger

CHEMTREC

USA og Canada 1-800-424-9300

Uden for USA og Canada +1 703-527-3887

Forholdsregler

Følgende fare- og sikkerhedssætninger gælder komponenter i QIAamp DSP Virus Kit.

Lysis Buffer (AL)



Indeholder: guanidinhydrochlorid og maleinsyre. Advarsel! Kan være skadelig ved indtagelse eller ved indånding. Forårsager hudirritation. Kan forårsage allergisk hudreaktion. Forårsager alvorlig øjenirritation. Bær beskyttelseshandsker/ beskyttelsestøj/ øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse. Ring til en GIFTINFORMATION eller en læge, hvis du er utilpas. Ved hudirritation eller udslet: Søg lægehjælp. Forurenede tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. Bortskaf indholdet/holderen på et godkendt genbrugssted.

Wash Buffer 1 (AW1)



Indeholder: guanidinhydrochlorid. Advarsel! Skadelig ved indtagelse eller ved indånding. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenirritation. Bær beskyttelseshandsker/ beskyttelsestøj/ øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse. Forurenede tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. Bortskaf indholdet/holderen på et godkendt genbrugssted.

QIAGEN Protease (QP)



Indeholder: subtilisin. Fare! Farlig ved indtagelse. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenskade. Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. Kan forårsage åndedrætsbesvær. Undgå indånding af pulver/ røg/ gas/ tåge/ damp/ spray. Bær beskyttelseshandsker/ beskyttelsestøj/ øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse. Anvend åndedrætsværn. VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis det kan gøres let. Fortsæt med at skylle. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Ring straks til GIFTLINJEN, eller søg læge. Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vedkommende hviler i en stilling, som letter vejrtrækningen.

Bortskaffelse

Affaldet indeholder prøver og reagenser. Dette affald kan indeholde toksisk eller smittefarligt materiale og skal bortskaffes på korrekt vis. Der henvises til de lokale sikkerhedsbestemmelser for korrekte bortskaffelsesprocedurer.

Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for yderligere information. De findes online i PDF-format på www.qiagen.com/safety, hvor sikkerhedsdatabladene for hvert QIAGEN-kit og hver kit-komponent kan læses og udskrives.

Opbevaring og håndtering af reagenser

Vær opmærksom på de udløbsdatoer og opbevaringsbetingelser, der er trykt på æsken og på etiketterne til samtlige komponenter. Brug aldrig for gamle eller ukorrekt opbevarede komponenter.

QIAamp MinElute-kolonner bør opbevares ved 2-8 °C ved ankomst. Ved korrekt opbevaring er QIAamp MinElute-kolonnerne stabile indtil den udløbsdato, der er angivet på kit-æsken.

Bemærk: For at sikre, at kitkomponenter fra forskellige kits ikke blandes, bedes du mærke QIAamp MinElute-kolonnerne med det respektive kitlotnummer.

Alle buffere kan opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C) indtil udløbsdatoen på kit-æsken.

Frysetørret carrier-RNA kan opbevares ved stuetemperatur indtil udløbsdatoen på kit-æsken.

Frysetørret QIAGEN Protease (QP) kan opbevares ved stuetemperatur indtil udløbsdatoen uden at påvirke dens ydelse.

Stabilitet under brug

Carrier-RNA kan kun opløses i elueringsbuffer (AVE), og opløst carrier-RNA skal straks tilsættes lysisbuffer (AL) som beskrevet på side 23. Denne opløsning skal forberedes frisk og er stabil ved 2-8 °C i op til 48 timer. Ubrugte portioner carrier-RNA opløst i elueringsbuffer (AVE) bør nedfryses i aliquoter ved -20 °C.

QIAGEN Protease (QP) rekonstitueret i protaseopløsning (PS) er stabil i op til 1 år, når det opbevares ved 2-8 °C, men kun indtil kittets udløbsdato. Det skal undgås at opbevare QIAGEN Protease (QP)-stamopløsning ved stuetemperatur i længere tidsperioder.

Rekonstitueret vaskebuffer 1 (AW1) og rekonstitueret vaskebuffer 2 (AW2) er stabile i 1 år, når opbevaret ved stuetemperatur, men kun indtil udløbsdatoen på kit-æskan.

Prøvetagning, -opbevaring og -håndtering

Bemærk: Prøvestabilitet afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. Den er blevet evalueret sammen med typiske efterfølgende anvendelser. Det er brugerens ansvar at konsultere brugsanvisningen til den specifikke efterfølgende anvendelse, der anvendes i laboratoriet, og/eller validere hele arbejdsgangen for at etablere passende opbevaringsbetingelser.

Vedrørende generel indsamling, transport og opbevaring henvises til godkendte CLSI-retningslinje MM13-A "Indsamling, transport, forberedelse og opbevaring af prøver til molekylære metoder". Desuden skal producentens instruktioner for den valgte prøvetagningsanordning følges under klargøring, opbevaring, transport og generel håndtering af prøver.


Oprensningsproceduren er optimeret til brug med prøver af human plasma eller serum. Blodprøver, der behandles med EDTA eller citrat som antikoagulanter, kan anvendes til klargøring af plasma. Prøver kan være enten friske eller frosne, hvis de ikke har været frosne og optøede mere end én gang. Optø nedfrosne prøver under forsigtig omrøring for at sikre grundig opblanding.

Efter prøvetagning og centrifugering kan plasma eller serum opbevares ved 2-8 °C i op til 6 timer. Ved langtidsopbevaring anbefales det at fryse dem ned ved -80 °C til -20 °C i alikvoter. Frosne plasma- eller serumprøver må ikke optøs mere end én gang. Gentagen fryse-optøning resulterer i denaturering og udfældning af proteiner, der resulterer i reducerede virale titre og derfor reduceret udbytte af virale nukleinsyrer. Kryopræcipitater, der er dannet under fryse-optøningen, vil endvidere tilstoppe QIAamp MinElute-kolonne-membranen. Hvis kryopræcipitater er synlige, bør de pelleres via centrifugering ved ca. 6800 x g i 3 minutter. Den rensede supernatant bør aspireres og behandles straks uden at forstyrre pelleten. Start oprensningsproceduren med det samme. Centrifugering ved lav g-kraft reducerer ikke virale titre.

Bemærk: Ifølge undersøgelser af typisk interferens for QIAamp DSP Virus Kit og i god overensstemmelse med ISO 20186-2:2019(E) kan heparin fra blodprøvetagningsrør påvirke renheden af de isolerede nukleinsyrer, og eventuel overførsel til eluater kan forårsage hæmninger i nogle efterfølgende anvendelser. Derfor anbefaler vi brug af blodprøver, der er behandlet med EDTA eller citrat som antikoagulant.

Vigtige bemærkninger

Vigtige anvisninger før start

- Når du har modtaget kittet, kontrolleres kittets komponenter for beskadigelse. Hvis blisterpakningerne eller bufferflaskerne er beskadigede, kontaktes QIAGEN Teknisk Service eller den lokale forhandler. I tilfælde af væskespild henvises til "Advarsler og forholdsregler" (side 13). Der må ikke anvendes beskadigede kitkomponenter, eftersom deres anvendelse kan føre til ringe ydeevne af kittet.
- Anvend altid RNase-frit udstyr.
- Udskift altid pipettespidser mellem væskeoverførsler. For at minimere krydskontaminering anbefaler vi anvendelse af pipettespidser med aerosolskærme.
- Anvend altid engangshandsker og tjek regelmæssigt, at de ikke er kontamineret med prøvemateriale.
- Bortskaf handsker, hvis de kontamineres, og som minimum ved alle de trin, der er markeret med et handskesymbol. 
- For at minimere krydskontaminering åbnes der kun ét glas ad gangen.
- Efter alle puls-vortex-trinnene centrifugeres mikrocentrifugerørerne kortvarigt for at fjerne dråber fra lågets inderside.
- Alle centrifugeringstrin udføres ved stuetemperatur (15-25 °C).
- Brugeren skal sikre, at sporbarheden af prøverne bevares under hele proceduren.
- Anvend ikke kitkomponenter fra andre kits sammen med det kit, som du i øjeblikket anvender, medmindre lotnumrene er identiske.
- Undgå, at kitreagenserne udsættes for bakteriekontaminering.
- For at minimere risikoen for infektion fra potentielt infektiøst materiale, anbefaler vi at arbejde under laminare luftstrømsforhold, indtil prøverne er lyserede.
- Proceduren giver anvisninger på behandlingen af en enkelt plasma- eller serumprøve. Op til 24 prøver kan imidlertid behandles samtidigt på QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet.

- Dette kit bør kun anvendes af personale, der er uddannet i in vitro-diagnostisk laboratoriepraksis.

Håndtering af QIAamp MinElute-kolonner

På grund af nukleinsyre-amplifikationsmetodernes høje sensitivitet skal følgende forholdsregler overholdes, når der håndteres QIAamp MinElute-kolonner for at undgå krydskontaminering mellem prøveklargøringer:

- Tilsæt forsigtigt prøven eller opløsningen i QIAamp MinElute-kolonnen. Pipetter prøven i QIAamp MinElute-kolonnen uden at gøre kolonnens kant våd.
- Udskift altid pipettespidser mellem alle væskeoverførsler. Det anbefales at bruge pipettespidser med aerosolbarriere.
- Undgå at røre QIAamp MinElute-membranen med pipettespidsen.
- Åbn kun én QIAamp MinElute-kolonne ad gangen og vær omhyggelig med at undgå aerosol-dannelse.

Klargøring af reagenser og buffere

Klargøring af RNA

Når der forberedes viralt RNA, skal der arbejdes hurtigt ved de manuelle trin af proceduren og Appendiks på side 44 læses, før der startes.

Klargøring af QIAGEN Protease (QP)

Tilsæt hele indholdet af hætteglasset med 4,4 ml protaseopløsning (PS) til hætteglasset med lyofiliseret QIAGEN Protease (QP), og bland grundigt. For at undgå, at det skummer, blandes det ved at vende hætteglasset på hovedet adskillige gange. Sørg for, at QIAGEN Protease (QP) er fuldstændigt opløst.



Tilsæt ikke QIAGEN Protease (QP) direkte til lysisbuffer (AL)*.

Tilsætning af carrier-RNA og intern kontrol i lysisbuffer (AL)*

Vi anbefaler på det kraftigste brugen af en intern kontrol, når QIAamp DSP Virus Kit anvendes sammen med diagnostiske amplifikationssystemer. Se producentens anvisninger for at få flere oplysninger. Intern kontrol og rekonstitueret carrier-RNA skal tilsættes til lysisbuffer (AL) og blandes forsigtigt ved at vende røret 10 gange. For at undgå skumning må der ikke bruges vortex. Hvis der anvendes intern kontrol, skal volumen for lysisbuffer (AL) reduceres tilsvarende (se tabel 1 for at få flere oplysninger).

Se producentens anvisninger for at fastlægge den optimale koncentration af intern kontrol. Anvendes der en anden koncentration end den anbefalede, kan det medføre forkerte resultater. Ved beregningen af den korrekte mængde intern kontrol til brug skal du tage højde for startvolumen af prøven og elueringsmængden. Husk, at QIAamp DSP Virus Kit bruger en startprøvevolumen på 500 µl.

For at klargøre carrier-RNA-opløsningen skal du tilsætte 310 µl elueringsbuffer (AVE) til røret med 310 µg lyofiliseret carrier-RNA for at opnå en opløsning på 1 µg/µl. Opløs carrier-RNA grundigt, del det op i alikvoter af passende størrelse, og opbevar det ved -20 °C. Alikvoter af carrier-RNA må ikke fryse-optøes mere end 3 gange.



Carrier-RNA opløses ikke i lysisbuffer (AL). Det skal først opløses i elueringsbuffer (AVE) og dernæst tilsættes lysisbuffer (AL). Kontrollér, at carrier-RNA er helt opløst i det korrekte volumen af elueringsbuffer (AVE), inden det blandes med lysisbuffer (AL).

* Indeholder kaotropisk salt. Benyt passende laboratoriesikkerhedsforanstaltninger og brug handsker ved håndtering. Ikke kompatibel med desinfektionsmidler, der indeholder blegemiddel. Se sikkerhedsinformation på side 14.

Beregn volumen af lysisbuffer (AL)/carrier-RNA-blanding, der er nødvendig pr. batch af prøver ved at vælge antallet af prøver der samtidig skal behandles fra tabel 1. Mængderne beregnes ud fra følgende formel:

$$n \times 0,55 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 11,2 \text{ } \mu\text{l/ml} = z \text{ } \mu\text{l}$$

hvor: **n** = antallet af prøver, der skal behandles samtidig

y = den beregnede mængde af lysisbuffer (AL)

z = mængden af carrier-RNA/elueringsbuffer (AVE), der skal tilsættes til lysisbuffer (AL)

Bland forsigtigt ved at vende bunden i vejret på røret 10 gange. For at undgå skumning må der ikke bruges vortex.

Table 1. Mængder af lysisbuffer (AL) og carrier-RNA/elueringsbuffer (AVE), der er påkrævet til QIAamp DSP Virus Procedure*

Antal prøver	Mængde AL* (ml)	Mængde carrier-RNA/AVE (µl)	Antal prøver	Mængde AL* (ml)	Mængde carrier-RNA/AVE (µl)
1	0,55	6,2	13	7,15	80,0
2	1,10	12,3	14	7,70	86,0
3	1,65	18,5	15	8,25	92,4
4	2,20	24,6	16	8,80	98,6
5	2,75	30,8	17	9,35	104,7
6	3,30	37,0	18	9,90	110,9
7	3,85	43,1	19	10,45	117,0
8	4,40	49,3	20	11,00	123,2
9	4,95	55,0	21	11,55	129,4
10	5,50	61,6	22	12,10	135,5
11	6,05	67,8	23	12,65	141,7
12	6,60	73,9	24	13,20	147,8



Prøveforberedelsesproceduren er optimeret til 5,6 µg carrier-RNA pr. prøve. Hvis mindre carrier-RNA har vist sig at være bedre til dit amplifikationssystem, overføres kun den påkrævede mængde af opløst carrier-RNA til rørene med lysisbuffer (AL). For hvert mikrogram carrier-RNA påkrævet pr. forberedelse tilsættes 5 µl Buffer AVE-opløst carrier-RNA pr. milliliter lysisbuffer (AL). Brug af mindre end 5,6 µg carrier-RNA pr. prøve skal valideres for hver særlige prøvetype og efterfølgende analyse.

* Hvis der anvendes intern kontrol, skal volumen for lysisbuffer (AL) reduceres tilsvarende.

Klargøring af vaskebuffer 1 (AW1)*

Vha. en målecylinder tilsættes 25 ml ethanol (96-100 %) til flasken med 19 ml vaskebuffer 1 (AW1)-koncentrat. Afkryds feltet på etiketten for at angive, at der er blevet tilsat ethanol. Opbevar den rekonstituerede vaskebuffer 1 (AW1) ved stuetemperatur (15-25 °C).



Bland altid den rekonstituerede vaskebuffer 1 (AW1) ved at vende flasken på hovedet adskillige gange, før proceduren startes.

Klargøring af vaskebuffer 2 (AW2) †

Vha. en målecylinder tilsættes 30 ml ethanol (96-100 %) til flasken med 13 ml vaskebuffer 2 (AW2)-koncentrat. Afkryds feltet på etiketten for at angive, at der er blevet tilsat ethanol. Opbevar den rekonstituerede vaskebuffer 2 (AW2) ved stuetemperatur (15-25 °C).



Bland altid den rekonstituerede vaskebuffer 2 (AW2) ved at vende flasken på hovedet adskillige gange, før proceduren startes.

Klargøring af elueringsbuffer (AVE)

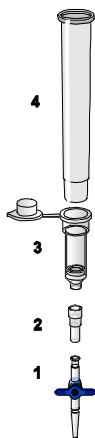
Fire rør med elueringsbuffer (AVE) er inkluderet i kittet. Sørg for ikke at kontaminere bufferen med RNaser. Hvis der udføres 4 oprensingsprocedurer eller derunder med ét kit, anbefaler vi, at du bortskaffer røret med elueringsbuffer (AVE) ved afslutningen af hver procedure.

* Indeholder kaotropisk salt. Benyt passende laboratoriesikkerhedsforanstaltninger og brug handsker ved håndtering. Ikke kompatibel med desinfektionsmidler, der indeholder blegemiddel. Se sikkerhedsinformation på side 14.

† Indeholder natriumazid som konserveringsmiddel.

Opsætning af QIAvac 24 Plus-vakuumsystem

Kontrollér, at du har opsat kolonneforlænger (EXT), QIAamp MinElute-kolonne, VacConnector (VC) og VacValve korrekt (se figur 1).



Figur 1. Samling af komponenterne til QIAamp DSP Virus Kit til vakuumbehandling af prøver:

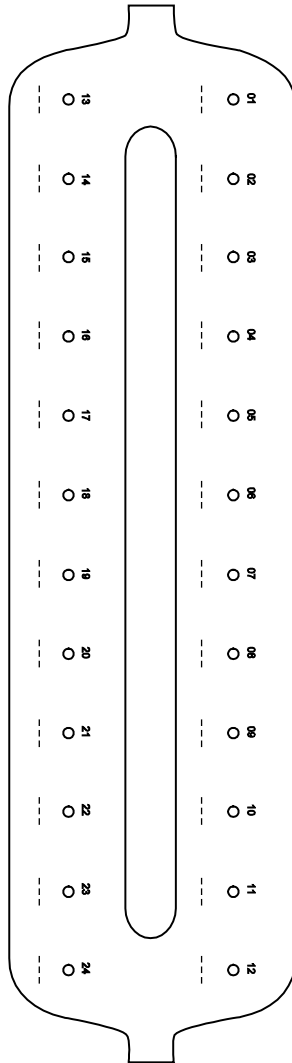
1. VacValve (følger med vakuumsystemet)
2. VacConnector (VC)
3. QIAamp MinElute-kolonne
4. Kolonneforlænger (EXT)

Vi anbefaler, at du mærker lysisrør (LT), elueringsrør (ET) og QIAamp MinElute-kolonner til brug på QIAvac 24 Plus vacuum system i henhold til skemaet i figur 2 for at undgå sammenblanding af prøver. Denne figur kan fotokopieres og mærkes med navnene på prøverne.

Dato: _____

Bruger: _____

Kørsels-ID: _____



Figur 2. Etikettersoversigt over lysisrør (LT), elueringsrør (ET) og QIAamp MinElute-kolonner til anvendelse på QIAvac 24 Plus vacuum system.

Protokol: Isolering og oprensning af virale nukleinsyrer fra plasma eller serum

Til isolering og oprensning af virale nukleinsyrer fra 500 µl EDTA- eller citratbehandlet plasma og serum.

Ting, der skal gøres før start

- Ækvilibrér prøver til stuetemperatur (15-25 °C), og sørg for, at de er blandet godt.
- Sørg for, at alle reagenser og QIAamp MinElute-kolonnerne (i lukkede blisterpakker) ækvilibreres til stuetemperatur.
- Indstil en varmeblok til 56 °C til anvendelse i trin 4 og 17.
- Sørg for, at vaskebuffer 1 (AW1), vaskebuffer 2 (AW2) og QIAGEN Protease (QP) er blevet klargjort i henhold til anvisningerne i "Vigtige anvisninger før start" på side 21.
- Hvis der har dannet sig bundfald i lysisbuffer (AL), opløses det ved inkubering ved 56 °C.
- Tilsæt carrier-RNA rekonstitueret i elueringsbuffer (AVE) eller intern kontrol til lysisbuffer (AL) i henhold til anvisningerne på side 23.
- Anvend om muligt frisk elueringsbuffer (AVE) til hver procedure (4 rør medfølger).
- For at undgå krydskontaminering indsættes en VacConnector (VC) på hver lueradapter på vakuumsystemet.
- Kvalitetskontrolprocedurer hos QIAGEN anvender test af funktionel kit-frigivelse for hvert individuelle kit-lot. Derfor må der ikke blandes reagenser fra forskellige kit-lots, og der må ikke kombineres individuelle reagenser fra forskellige reagens-lots.
- Sørg for, at affaldsflasken på vakuumsystemet er tom, og at alle koblinger er forbundet korrekt.
- Se den vedlagte håndbog for at få yderligere oplysninger om vakuumsystemets drift, særligt vedligeholdelse.

Procedure

1. Pipetter 75 µl QIAGEN Protease (QP) til et lysisrør (LT).



Kontrollér udløbsdatoen på det rekonstituerede protease før anvendelse.

2. Tilsæt 500 µl plasma eller serum til lysisrøret (LT).
3. Tilsæt 500 µl lysisbuffer (AL) (med 11,2 µg/ml carrier-RNA) til lysisrøret (LT), luk låget, og bland ved puls-vortexe i ≥ 15 sekunder.

For at sikre effektiv lysering er det væsentligt, at prøven og lysisbuffer (AL) blandes grundigt for at give en homogen opløsning.



Lysisbuffer (AL) indeholder intern kontrol. Eftersom lysisbuffer (AL) har en høj viskositet, sørges der for, at det korrekte volumen lysisbuffer (AL) tilsættes ved nøje pipettering.



Tilsæt ikke QIAGEN Protease (QP) direkte til lysisbuffer (AL).

4. Inkubér ved 56 °C i 15 minutter.
5. Centrifuger lysisrøret (LT) i ≥ 5 sekunder ved fuld hastighed for at fjerne dråber fra den indvendige side af låget.



6. Skift handsker, og åbn lysisrøret (LT) forsigtigt.
7. Tilsæt 600 µl ethanol (96-100 %) til lysisrøret (LT), luk låget, og bland grundigt ved at puls-vortexe i ≥ 15 sekunder. Inkubér i 5 minutter ved stuetemperatur (15-25 °C).
8. Centrifuger lysisrøret (LT) i ≥ 5 sekunder ved fuld hastighed for at fjerne dråber fra den indvendige side af låget.
9. Isæt QIAamp MinElute-kolonnen i VacConnector (VC) på vakuumsystemet (se figur 1 på side 27). Isæt en kolonneforlænger (EXT) i den åbne QIAamp MinElute-kolonne.



Behold vaskerøret (WT) til tørrecentrifugering i trin 16.



10. Skift handsker, og åbn kun ét rør ad gangen.

11. Tilsæt forsigtigt hele lysatet fra trin 7 til kolonneforlængerens (EXT) i QIAamp MinElute-kolonnen uden at gøre kanten våd.

12. Tænd for vakuumpumpen. Når lysatet er blevet trukket gennem QIAamp MinElute-kolonnen, åbnes ventilen på vakuumsystemet og vakuumet udløses.

Hvis der behandles flere QIAamp MinElute-kolonner samtidig, anbefaler vi at lukke VacValve på hver kolonne, når lysatet er passeret igennem for at kunne reducere varigheden af dette vakuumtrin.



Hvis lysatet ikke er passeret helt igennem membranen efter 15 minutter, skal du kassere QIAamp MinElute-kolonnen og gentage proceduren med en ny prøve.



Vakuumsystemets ventil bør anvendes til hurtig udløsning af vakuumtrykket.

13. Tilsæt 600 µl vaskebuffer 1 (AW1) til QIAamp MinElute-kolonnen. Fjern forsigtigt kolonneforlængerens (EXT), bortskaf den, og luk ventilen på vakuumsystemet. Når vaskebuffer 1 (AW1) er blevet trukket gennem QIAamp MinElute-kolonnen, åbnes ventilen og vakuumet udløses.



For at undgå krydskontaminering skal du sikre dig, at fjernede kolonneforlængere (EXT) ikke kommer hen over QIAamp MinElute-kolonner, der ligger ved siden af.

14. Tilsæt 750 µl vaskebuffer 2 (AW2) til QIAamp MinElute-kolonnen uden at gøre kanten våd. Lad låget på kolonnen stå åbent, og luk ventilen på vakuumsystemet. Når vaskebuffer 2 (AW2) er blevet trukket gennem QIAamp MinElute-kolonnen, åbnes ventilen og vakuumet udløses.

15. Tilsæt 750 µl ethanol (96-100 %) til QIAamp MinElute-kolonnen uden at gøre kanten våd. Lad låget på kolonnen stå åbent, og luk ventilen på vakuumsystemet. Når ethanol er blevet trukket gennem QIAamp MinElute-kolonnen, åbnes ventilen og vakuumet udløses.



Brug pipettespidser med aerosolbarriere til at tilsætte ethanol til QIAamp MinElute-kolonnen.

16. Luk låget på QIAamp MinElute-kolonnen, fjern den fra vakuumsystemet og bortskaf VacConnector (VC). Anbring QIAamp MinElute-kolonnen i vaskerøret (WT), som er gemt fra trin 9, og centrifuger ved fuld hastighed (ca. 20.000 x g eller 14.000 rpm) i 1 minut for at tørre membranen helt. Bortskaf vaskerøret (WT) med filtratet.



Undlades tørrecentrifugeringen, kan det føre til hæmning af den efterfølgende analyse.

17. Anbring QIAamp MinElute-kolonnen i et nyt vaskerør (WT), og inkubér med åbent låg ved 56 °C i 3 minutter, så eventuel resterende væske fordamper.
18. Anbring QIAamp MinElute-kolonnen i et nyt elueringsrør (ET), og bortskaf vaskerøret (WT). Åbn forsigtigt låget på QIAamp MinElute-kolonnen, og tilsæt 20 µl eller 60 µl elueringsbuffer (AVE) (alt efter den efterfølgende analyse) til midten af membranen.



Det er vigtigt at bruge et nyt elueringsrør for at undgå kontaminering med resterende vaskebuffer, der kan føre til hæmning af den efterfølgende analyse.



Dispensering af elueringsbufferen på midten af membranen er især vigtig ved mindre elueringsmængder for at sikre optimal genvinding af nukleinsyrer og elueringsbuffer.



Elueringsmængden kan tilpasses i henhold til kravene til den efterfølgende anvendelse. Husk, at det genvundne eluatvolumen kan være lavere end volumen af elueringsbuffer, der er påført kolonnen, på grund af resterende elueringsbuffer tilbageholdt af spin-kolonnemembranen efter centrifugering.



Sørg for, at elueringsbufferen er ekvibreret til stuetemperatur.

19. Luk låget, og inkubér ved stuetemperatur (15-25 °C) i ≥ 3 minutter. Centrifuger ved fuld hastighed (ca. 20.000 x g eller 14.000 rpm) i 1 minut for at eluere de virale nukleinsyrer.



Vend lågene på elueringsrørene, så de peger i modsat retning af rotorens rotation (hvis rotoren f.eks. drejer med uret, vendes lågene mod uret).



Følg vedligeholdelsesproceduren for vakuumsystemet efter udførelse af denne protokol (se håndbogen, der var vedlagt vakuumsystemet for yderligere oplysninger).

Kvalitetskontrol

I henhold til QIAGENs certificerede totale kvalitetshåndteringssystem testes hvert lot QIAamp DSP Virus Kit mod forudbestemte specifikationer for at sikre konstant produktkvalitet.

Begrænsninger

Systemets ydeevne er blevet fastlagt i evalueringsundersøgelser af ydelse, hvori der oprenses virale nukleinsyrer fra humane plasma- og serumprøver.

Det er brugerens ansvar at verificere systemets ydelse for procedurer, der anvendes i deres laboratorium, og som ikke er omfattet af QIAGENs evalueringsundersøgelser af ydelse.

For at minimere risikoen for en negativ indvirkning på diagnostiske resultater skal der anvendes hensigtsmæssige kontroller for efterfølgende anvendelser. Diagnostiske resultater, der genereres, skal fortolkes sammen med andre kliniske eller laboratoriemæssige resultater.

Ydelseskarakteristika

Du finder de relevante ydelseskarakteristika på fanen Resource (Ressourcer) på produktsiden på www.qiagen.com.

Fejlfindingsvejledning

Denne fejlfindingsvejledning kan være nyttig til at afhjælpe eventuelle problemer. For yderligere information henvises også til siden med hyppigt stillede spørgsmål (Frequently Asked Questions, FAQ) hos vores tekniske supportcenter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Derudover svarer personalet fra QIAGEN Teknisk Service gerne på spørgsmål vedrørende enten informationen og/eller protokollerne i denne håndbog eller prøve- og analyseteknologier (kontaktinformation: Besøg www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

Generel håndtering

- a) Tilstopning af pipettespidser under prøveoverførsel
- Nedfrosne prøver blev ikke opblandet korrekt efter optøning. Optø nedfrosne prøver under forsigtig omrøring for at sikre grundig opblanding. Kryopræcipitater, der er dannet under fryse-optøningen vil endvidere tilstoppe QIAamp MinElute-membranen. Hvis der er synlige kryopræcipitater, skal prøven klares ved centrifugering i 5 minutter ved 16.000 x g.
- b) QIAamp MinElute-kolonnen er tilstoppet
- Hvis flowhastigheden reduceres, kan det forlænge vakuumtiden.
- Alternativt skal du lukke VacValve, hvis den anvendes, og forsigtigt fjerne samlingen med kolonneforlænger, VacConnector og VacValve fra QIAamp MinElute-kolonnen uden at miste noget af lysatet i kolonneforlænger.
- Tag QIAamp MinElute-kolonnen ud fra vakuumanifolden, anbring den i et 2 ml vaskerør (WT), og centrifuger den på fuld hastighed, indtil prøven er passeret fuldstændigt gennem membranen. Udskift hele den kolonneforlænger–VacConnector–VacValve-enhed, der indeholder det resterende lysat. Tænd vakuumpumpen, åbn VacValve, og fortsæt isætning af det resterende lysat.
- Gentag ovenstående procedure, hvis QIAamp MinElute-kolonnen begynder at tilstoppe.
- Kryopræcipitater, der er dannet under fryse-optøningen vil endvidere tilstoppe QIAamp MinElute-kolonmembranen. Hvis der er synlige kryopræcipitater, skal prøven klares ved centrifugering i 5 minutter ved 16.000 x g.

Kommentarer og forslag

- Brug af isafkølet ethanol under lysering kan medvirke til at mindske risikoen for membrantilstopning. Desuden er det vigtigt at tilsætte bufferne til lysis i den korrekte rækkefølge beskrevet ovenfor. Tilsæt ikke QIAGEN Protease (QP) direkte til lysisbuffer (AL).
- c) Der er dannet bundfald i lysisbufferen
- Opløses ved inkubering af lysisbuffer (AL) ved 56 °C.
- d) Variable elueringsmængder
- Mængden af genfundet eluat afhænger af prøvens beskaffenhed.
- På grund af den resterende elueringsbuffer, der tilbageholdes af spin-kolonnemembranen efter centrifugering, kan den genvundne eluatmængde være lavere end mængden af påført elueringsbuffer på kolonnen.
- Påfør elueringsbuffer midt på membranen. Dispensering af elueringsbufferen på midten af membranen er især vigtig ved mindre elueringsmængder for at sikre optimal genvinding af nukleinsyrer og elueringsbuffer.
- e) Vakuumtrykket på ~800 til ~900 mbar er ikke opnået
- Vakuumanifolden er ikke lukket stramt nok. Tryk ned på vakuumanifoldens låg, efter at vakuummet er slået til. Kontrollér, om vakuumtrykket er opnået. Pakning på QIAvac-låg er slidt op. Kontrollér pakningen på manifolden visuelt, og udskift den eventuelt.
- VacValves er slidt op. Fjern alle VacValves, og isæt VacConnectors direkte i luer-forlængerne. Sæt QIAamp MinElute-kolonner i VacConnectors, luk låget på kolonnerne, og tilslut vakuum. Kontrollér, om vakuumtrykket er opnået. Udskift om nødvendigt VacValves.
- Forbindelsen til vakuumpumpen er utæt. Luk alle luer-forlængere med luer-hætter, og tænd vakuumpumpen. Kontrollér, om vakuumtrykket er stabilt, når pumpen er tændt (og ventilen på Vacuum Regulator er lukket). Udskift om nødvendigt forbindelserne mellem pumpe og vakuumanifold.
- Hvis vakuumtrykket stadig ikke er opnået, skal vakuumpumpen udskiftes med en kraftigere type.

Kommentarer og forslag

DNA opfører sig ikke korrekt i efterfølgende reaktioner

- a) Ufuldstændig
prøvelysis
- Hvis QIAGEN Protease (QP) har været udsat for forhøjet temperatur i længere tid, kan det miste aktivitet. Gentag proceduren med nye prøver og nyt QIAGEN Protease (QP). Sørg for at opløse QIAGEN Protease (QP) med Protease Solvent i henhold til anvisningerne ovenfor. For at undgå, at det skummer, blandes det ved at vende hætteglasset på hovedet adskillige gange. Sørg for, at QIAGEN Protease (QP) er fuldstændigt opløst. Tilsæt ikke QIAGEN Protease (QP) direkte til lysisbuffer (AL). For at sikre effektiv lysering er det væsentligt, at prøven og lysisbuffer (AL) blandes grundigt for at give en homogen opløsning. Eftersom lysisbuffer (AL) har en høj viskositet, sørges der for, at det korrekte volumen lysisbuffer (AL) tilsættes ved nøje pipettering og ved hjælp af en egnet pipette.
- b) Der er anvendt
ethanol med
procent frem for
96-100 %
- Gentag oprensningsproceduren med nye prøver og 96-100 % ethanol. Der må ikke bruges denatureret alkohol, som indeholder andre stoffer, såsom metanol eller methylethylketon.
- c) Vaskebuffer 1
(AW1) eller
vaskebuffer 2
(AW2) er klargjort
forkert
- Sørg for, at vaskebuffer 1 (AW1)- og vaskebuffer 2 (AW2)-koncentraterne er fortyndet med den korrekte mængde 96-100 % ethanol og blandet ved at vende flasken på hovedet adskillige gange, før proceduren startes.

Kommentarer og forslag















- d) Plasma- og serumprøver blev ikke klargjort, opbevaret eller blandet korrekt
- Oprensningsproceduren er optimeret til brug med prøver af human plasma eller serum. Blodprøver, der behandles med EDTA eller citrat som antikoagulans, kan anvendes til klargøring af plasma. Efter prøvetagning og centrifugering kan plasma eller serum opbevares ved 2-8 °C i op til 6 timer. Ved langtidsopbevaring anbefales det at fryse dem ned ved -80 °C til -20 °C i alikvoter.
- Frosne plasma- eller serumprøver må ikke optøs mere end én gang. Gentagen fryse-optøning resulterer i denaturering og udfældning af proteiner, der resulterer i reducerede virale titre og derfor reduceret udbytte af virale nukleinsyrer.
- Optø nedfrosne prøver under forsigtig omrøring for at sikre grundig opblanding.
- e) Lidt eller intet DNA i eluatet
- Reducer elueringsmængden, eller forøg om muligt den mængde eluat, der tilsættes til reaktionen.
- f) Der er anvendt en forkert elueringsmængde
- Fastslå den maksimale mængde eluat, der er egnet til din efterfølgende anvendelse. Reducer eller forøg mængden af eluat, der er tilsættes til efterfølgende anvendelse, tilsvarende. Elueringsmængden kan tilpasses proportionalt. Elution med mindre mængder Buffer AVE giver højere koncentrationer af nukleinsyre.
- g) Overførsel af potentielt hæmmende stof
- Sørg for at udføre tørcentrifugeringstrinnet før eluering for at forhindre potentiel hæmning af den efterfølgende analyse.
- Det er vigtigt at bruge et nyt elueringsrør for at undgå kontaminering med resterende vaskebuffer, der kan føre til hæmning af den efterfølgende analyse.
- Ifølge undersøgelser af typisk interferens for QIAamp DSP Virus Kit og i god overensstemmelse med ISO 20186-2:2019(E) kan heparin fra blodprøvetagningsrør påvirke renheden af de isolerede nukleinsyrer, og eventuel overførsel til eluater kan forårsage hæmninger i nogle efterfølgende anvendelser. Derfor anbefaler vi brug af blodprøver, der er behandlet med EDTA eller citrat som antikoagulant.











Kommentarer og forslag

- h) Carrier-RNA nedbrudt/klargjort forkert
- Carrier-RNA tjener to formål: Først forbedrer det bindingen af virale nukleinsyrer til QIAamp-membranen, specielt hvis der er meget få målmolekyler i prøven. For det andet reducerer tilsætningen af store mængder carrier-RNA chancen for viral RNA-nedbrydning i de sjældne tilfælde, hvor RNase-molekyler ikke denatureres via de kaotropiske salte og rengøringsmiddel i lysisbuffer (A1).
- Hvis carrier-RNA ikke bliver tilsat i lysisbuffer (A1), kan dette føre til reduceret genfindning af viralt RNA eller DNA.
- Carrier-RNA kan kun opløses i Buffer AVE, og opløst carrier-RNA skal straks tilsættes i lysisbuffer (A1).
- Carrier-RNA kan også inkluderes i nogle interne kontrolreagenser i efterfølgende kommercielle analyser. I disse tilfælde skal du se den relevante brugsanvisning fra producenten af den efterfølgende analyse.

Symboler

Følgende symboler findes i brugsanvisningen på emballagen og etiketten:

Symbol	Symboldefinition
	Indeholder tilstrækkeligt med reagenser til <N>-reaktioner
	Holdbarhedsdato
	Dette produkt opfylder kravene i EU-direktivet 2017/746 for medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik.
	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialenummer (dvs. etiketten på komponenten)
	Komponenter
	Volumen
	Indeholder
	Antal
	Globalt handelsvarenummer
	R står for revision af brugsanvisningen, og n står for revisionsnummeret
	Temperaturbegrænsning

Symbol	Symboldefinition
	Producent
	Læs brugsanvisningen
	Opbevares uden for sollys
	Advarsel/forsigtig
	Ved levering
	Vigtig bemærkning
	Skift handsker efter protokoltrin med dette mærke
	Åbnes ved levering, opbevar QIAamp MinElute-kolonner ved 2-8 °C
	Skriv den aktuelle dato ned efter tilsætning af ethanol til flasken
	Tilsætter
	Lyofiliseret

Symbol

Symboldefinition

RCNS

Rekonstituér i

EtOH

Ethanol

GuHCl

Guanidinhydrochlorid

MALEIC ACID

Maleinsyre

SUBT

Subtilisin



Fører til

UDI

Unikt enheds-id

Appendiks

Håndtering af RNA

Ribonukleaser (RNase) er meget stabile og aktive enzymer, som normalt ikke kræver kofaktorer, for at være aktive. RNaser er svære at inaktivere og kun små mængder er nok til at nedbryde RNA. Derfor må der ikke anvendes laboratoriematerialer af glas eller plastik uden først at eliminere en eventuel RNase-kontaminering. Vær forsigtig med ikke utilsigtet at introducere RNaser til RNA-prøven under eller efter isoleringsproceduren. For at skabe og bevare et RNase-fri miljø, når der arbejdes med RNA, skal de følgende forholdsregler overholdes under forbehandling og brug af engangs- og flegangsbeholdere og opløsninger.

Generel håndtering

Arbejdet med RNA skal altid følge principperne for korrekt mikrobiologisk og aseptisk arbejdsteknik. Hænder og støvpartikler kan bære bakterier og skimmelsvampe og leverer dermed den hyppigste årsag til RNase-kontaminering. Derfor skal der altid bæres latex- eller vinylhandsker, når der arbejdes med reagenser eller RNA-prøver, for at undgå RNase-kontaminering via huden eller fra støvet laboratorieudstyr. Skift laboratoriehandskerne hyppigt og hold rørene lukkede.

Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
QIAamp DSP Virus Kit (50)	Til 50 præparater: QIAamp MinElute-kolonner, buffere, reagenser, rør, kolonneforlængere og VacConnectors	60704
Tilbehør		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold	Vakuumanifold til behandling af 1-24 spin-kolonner: QIAvac 24 Plus vacuum manifold, Luer Plugs, Quick Couplings	19413
Vacuum Pump	Universal vakuumpumpe	84020
VacConnectors	500 engangskonnekteror til brug sammen med QIAamp-spin-kolonner på luerforbindelser	19407
VacValves	24 ventiler til brug med QIAvac 24 og QIAvac 24 Plus	19408
Vacuum Regulator	Vacuum Regulator	19530
QIAvac Connecting System	System til forbindelse af vakuumanifold med vakuumpumpe: Omfatter bakke, flasker til spildvæske, slanger, koblinger, ventil, måler og 24 VacValves	19419

For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises der til den aktuelle QIAGEN-kitbrugsanvisning. QIAGEN kit-brugsanvisninger kan fås via www.qiagen.com eller kan rekvireres hos QIAGEN Teknisk Service eller den lokale distributør.

Revisionshistorik for dokumentet

Revision	Beskrivelse
R1, juni 2022	<p>Version 2, revision 1</p> <ul style="list-style-type: none">● Opdatering til kit-version 2 for overholdelse af IVDR● Opdatering af afsnittene Tilsigtet anvendelse og Begrænsninger● Opdatering af Beskrivelse og princip● Opdatering af Medfølgende materialer (tilføjelse af aktive stoffer) og Nødvendige materialer, som ikke medfølger● Opdatering af Advarsler og forholdsregler (tilføjelse af oplysninger om nødsituationer og afsnittet Bortskaffelse)● Opdatering af Opbevaring og håndtering af reagenser● Opdatering af Prøvetagning, -opbevaring og -håndtering● Opdatering af Vigtig bemærkninger og Procedure● Opdatering af Ydelseskarakteristika● Tilføjelse af afsnittet Bilag● Tilføjelse af fejlfindingsvejledning● Opdatering af afsnittet Symboler● Tilføjelse af bestillingsinformation

Denne side skal være tom

Denne side skal være tom

Denne side skal være tom

Aftale om begrænset licens for QIAamp® DSP Virus Kit

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med protokoller leveret med produktet og denne brugsanvisning og kun med de komponenter, der er i panelet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette panel med komponenter, der ikke er inkluderet i dette panel, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne brugsanvisning og andre protokoller, der er tilgængelige på www.qiagen.com. Nogle af disse andre protokoller er stillet til rådighed af QIAGEN-brugere for QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke grundigt testet eller optimeret af QIAGEN. QIAGEN hverken garanterer for dem eller for, at de ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette panel, og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette panel og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, genoprettes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af panelet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og sagsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med panelet og/eller komponenterne deri.

Opdaterede licensbetingelser kan findes på www.qiagen.com.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp® (QIAGEN Group). Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når de ikke er specifikt markeret som sådan.

1127541DA 06/2022 HB-3032-001 © 2022 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk support support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com