

Gebruiksaanwijzing (Handleiding) QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit



Versie 2



Voor in-vitrodiagnostiek

Voor gebruik met QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit



61704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Duitsland



1127542NL

Inhoudsopgave

Beoogd gebruik.....	4
Beoogde gebruiker	4
Beschrijving en principe	5
Lyseren met QIAGEN Protease (QP)	5
Adsorptie aan het QIAamp MinElute-membraan.....	5
Achtergebleven verontreinigingen verwijderen	6
Elutie van virale nucleïnezuren	6
Opbrengst en kwaliteit van virale nucleïnezuren	7
Toevoegen van interne controles	8
Geautomatiseerde zuivering van virale nucleïnezuren met de QIAcube Connect MDx.....	8
Samenvatting en uitleg.....	11
Meegeleverde materialen	12
Inhoud van de kit	12
Bestanddelen van de kit	13
Benodigde maar niet-meegeleverde materialen	14
Aanvullende reagentia	14
Consumables (Verbruiksartikelen)	14
Uitrusting.....	14
Alleen voor de geautomatiseerde procedure.....	14
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	16
Veiligheidsinformatie	16

Informatie voor noodgevallen.....	17
Voorzorgsmaatregelen.....	18
Afvoer.....	19
Opslag en verwerking van reagentia.....	20
Stabiliteit tijdens gebruik.....	20
Afnemen, bewaren en verwerken van specimen.....	22
Belangrijke opmerkingen.....	24
Wat u moet weten voordat u begint.....	24
QIAamp MinElute-kolommen verwerken.....	25
Centrifugatie.....	25
QIAamp MinElute-kolommen verwerken in een microcentrifuge.....	26
Reagentia en buffers bereiden.....	26
Protocol: Zuivering van virale nucleïne-zuren uit plasma of serum met een microcentrifuge of de QIAcube Connect MDx.....	31
Kwaliteitscontrole.....	35
Beperkingen.....	36
Prestatiekenmerken.....	37
Gids voor probleemoplossing.....	38
Symbolen.....	42
Bijlage.....	45
Bestelgegevens.....	46
Revisiegeschiedenis van document.....	48

Beoogd gebruik

De QIAamp® DSP Virus Spin Kit is bedoeld voor handmatige of, indien gebruikt met het QIAcube® Connect MDx-instrument, geautomatiseerde isolatie en zuivering van virale nucleïne-zuren uit humaan plasma en serum.

De QIAamp DSP Virus Spin Kit gebruikt silicamembraantechnologie (QIAamp-technologie) voor isolatie en zuivering van virale nucleïne-zuren uit humaan plasma en serummonsters.

Het product is bedoeld voor in-vitrodiagnostisch gebruik en voor toepassing door beroepsmatige gebruikers, bijvoorbeeld analisten en artsen die zijn opgeleid in moleculair-biologische technieken.

Beoogde gebruiker

Het product is bedoeld voor toepassing door beroepsmatige gebruikers, bijvoorbeeld analisten en artsen die zijn opgeleid in moleculair-biologische technieken.

Beschrijving en principe

De procedure van de QIAamp DSP Virus Spin Kit bestaat uit 4 stappen (lyseren, binden, wassen en elueren) en wordt uitgevoerd met behulp van QIAamp MinElute®-kolommen in een standaard microcentrifuge of wordt geautomatiseerd uitgevoerd in de QIAcube Connect MDx. De procedure is ontwikkeld om de kans op kruisbesmetting te minimaliseren en maakt veilige hantering van mogelijk besmettelijke monsters mogelijk. Met behulp van de eenvoudige QIAamp DSP Virus Spin-procedure kunnen meerdere monsters gelijktijdig worden verwerkt. De QIAamp DSP Virus Spin Kit kan worden gebruikt voor het isoleren van viraal RNA en DNA uit veel verschillende RNA- en DNA-virussen. De prestatiekenmerken zijn echter niet voor alle virussoorten vastgesteld en moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

Lyseren met QIAGEN Protease (QP)

De monsters worden bij verhoogde temperaturen gelyseerd onder zeer denaturerende omstandigheden. Lysis wordt uitgevoerd in de aanwezigheid van QIAGEN Protease (QP) en lysisbuffer (AL), die samen zorgen voor de inactivering van RNAsen.

Adsorptie aan het QIAamp MinElute-membraan

De bindingscondities kunnen worden aangepast door het toevoegen van ethanol. Dit zorgt voor een optimale binding van het virale RNA en DNA aan het membraan. Vervolgens worden de lysaten aangebracht op een QIAamp MinElute-kolom en met behulp van centrifugeren door het silicamembraan geperst, waardoor de virale nucleïnezuuren worden geadsorbeerd. Dankzij zout en pH-condities blijven proteïnen en andere verontreinigingen die een remmende invloed kunnen hebben op PCR en andere enzymatische vervolgbepalingen niet gebonden aan het QIAamp MinElute-membraan.

De (meegeleverde) wasbuisjes van 2 ml hebben een ondersteunende functie voor de QIAamp MinElute-kolom tijdens het laden en het wassen.

Achtergebleven verontreinigingen verwijderen

Nucleïnezuren blijven gebonden aan het membraan, terwijl verontreinigingen doeltreffend worden weggespoeld tijdens 3 wasstappen.

Elutie van virale nucleïnezuren

Vervolgens worden hoogzuiver viraal RNA en DNA in één stap geëluëerd uit het membraan van de QIAamp MinElute-kolom in elutiebuffer (AVE) en op kamertemperatuur gebracht. De QIAamp MinElute-kolommen zijn geschikt voor minimale elutievolumes van slechts 20 µl voor de handmatige procedure en 60 µl voor de geautomatiseerde procedure. Een laag elutievolume leidt tot sterk geconcentreerd nucleïnezuureluaat.

Bij vervolgbepalingen waarvoor een klein uitgangsvolume nodig is (zoals sommige PCR- en RT-PCR-assays), kan een sterker geconcentreerd eluaat de gevoeligheid van het assay verhogen.

Bij vervolgbepalingen waarvoor een groter uitgangsvolume nodig is, kan het elutievolume worden vergroot tot 150 µl voor de handmatige procedure en tot 100 µl voor de geautomatiseerde procedure. Een eluaat met een groter volume bevat echter een lagere concentratie nucleïnezuren.

Vanwege de resterende elutiebuffer die na centrifugeren door het membraan van de spin kolom wordt vastgehouden, kan het verkregen volume van het eluaat lager zijn dan het volume van de elutiebuffer dat op de kolom wordt aangebracht. Bovendien is het volume aan eluaat dat wordt verkregen, afhankelijk van de aard van het monster.

Geëluëerde nucleïnezuren worden verzameld in elutiebusjes van 1,5 ml (ET, meegeleverd) en kunnen maximaal 24 uur worden opgeslagen bij 2-8 °C. Voor langdurige opslag van meer dan 24 uur adviseren wij om gezuiverde nucleïnezuren bij -20 °C te bewaren.

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

Opbrengst en kwaliteit van virale nucleïnezuren

Meestal kan uit biologische monsters minder dan 1 µg virale nucleïnezuren worden geïsoleerd. Voor het bepalen van de opbrengst wordt geadviseerd om gebruik te maken van kwantitatieve amplificatiemethoden. Bij het kwantificeren van nucleïnezuren die zijn geïsoleerd met behulp van het QIAamp DSP Virus Spin-protocol, moet u er rekening mee houden dat het monster aanzienlijk meer drager-RNA dan viraal RNA bevat.

Drager-RNA dient twee doeleinden: in de eerste plaats verbetert het de binding van virale nucleïnezuren aan het QIAamp-membraan, vooral als het monster zeer weinig doelmoleculen bevat; in de tweede plaats verlaagt het toevoegen van grote hoeveelheden drager-RNA de kans op afbraak van viraal RNA, in het zeldzame geval dat RNase-moleculen ontsnappen aan denaturatie door de chaotropische zouten en reinigingsmiddel in lysisbuffer (AL). Als er geen drager-RNA wordt toegevoegd aan lysisbuffer (AL), kan dit leiden tot verminderde winning van viraal RNA of DNA.

Drager-RNA kan ook worden toegevoegd aan sommige reagentia voor interne controle of in de handel verkrijgbare vervolgcassays. Raadpleeg in dergelijke gevallen de bijbehorende gebruiksaanwijzing van de fabrikant of vervolgcassay.

De effectiviteit van amplificatiesystemen is afhankelijk van de totale hoeveelheid nucleïnezuur die aanwezig is in de reactie. Eluaten uit deze kit bevatten zowel virale nucleïnezuren als drager-RNA. De hoeveelheid drager-RNA is echter veel hoger dan de hoeveelheid virale nucleïnezuren. De hoeveelheid eluaat dat moet worden toegevoegd aan vervolgamplificaties

moet daarom worden berekend op basis van de hoeveelheid toegevoegd drager-RNA. Om amplificatiereacties zo gevoelig mogelijk te maken, kan het nodig zijn om de hoeveelheid drager-RNA dat wordt toegevoegd aan lysisbuffer (AL) aan te passen.

Toevoegen van interne controles

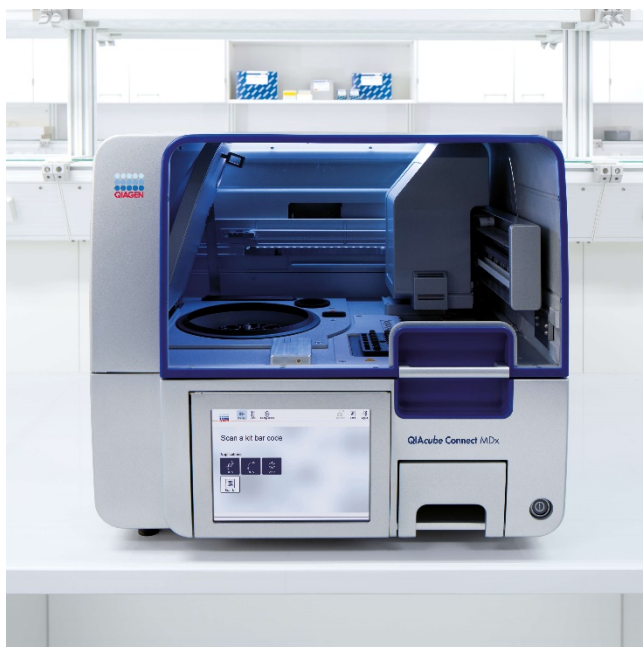
Wanneer u het QIAamp DSP Virus Spin-protocol gebruikt in combinatie met in de handel verkrijgbare amplificatiesystemen moet u mogelijk een interne controle toevoegen aan de zuiveringsprocedure. RNA of DNA van interne controles moet samen met drager-RNA worden toegevoegd aan de lysisbuffer. Voor een zo efficiënt mogelijke zuivering moeten de moleculen van interne controles langer zijn dan 200 nucleotiden, omdat kleinere moleculen niet goed worden gedetecteerd.

Raadpleeg de instructies van de fabrikant om de optimale concentratie te bepalen. Het gebruik van een andere concentratie dan aanbevolen, kan zorgen voor een minder efficiënte amplificatie.

Geautomatiseerde zuivering van virale nucleïnezuuren met de QIAcube Connect MDx

De QIAcube Connect MDx voert geautomatiseerde isolatie en zuivering van nucleïnezuuren uit. Er kunnen tot wel 12 monsters per run worden verwerkt.

Wanneer u de QIAamp DSP Virus Spin Kit geautomatiseerd verwerkt met de QIAcube Connect MDx, verwerkt het instrument mogelijk minder dan 50 monsters. Dit wordt veroorzaakt door dode volumes, verdamping en extra verbruik van reagentia door geautomatiseerd pipetteren. QIAGEN garandeert slechts 50 monsterbereidingen met handmatig gebruik van de QIAamp DSP Virus Spin Kit.



Afbeelding 1. De QIAcube Connect MDx.

QIAamp DSP Virus Spin-procedure

'Sample' (Monster)



Lyseren



Binden



Wasfles
(Wasbuffer 1
(AW1))



Wasfles
(Wasbuffer 2
(AW2))



Wasfles
(ethanol)



Droogcentrifugeren
(gebruik nieuw
verzamelbuisje)



Elueren



Zuiver viraal nucleïnezuur

Automatiseerbaar op de QIAcube Connect MDx

Samenvatting en uitleg

De QIAamp DSP Virus Spin Kit maakt gebruik van gerenommeerde technologie voor het gelijktijdig zuiveren van viraal DNA en RNA. Met deze kit worden de selectieve bindingseigenschappen van een op silica gebaseerd membraan gecombineerd met flexibele elutievolume van 20 tot 150 µl in de handmatige workflow.

De procedure is geschikt voor gebruik met plasma en serum; beide kunnen citraat of EDTA bevatten. Monsters kunnen vers of bevroren zijn, indien deze niet vaker dan eenmaal zijn bevroren en ontdooid.

De procedure kan worden gebruikt voor isolatie van viraal RNA en DNA uit een groot aantal RNA- en DNA-virussen. De eenvoudige centrifugeerprocedures van QIAamp DSP zijn geschikt om meerdere monsters gelijktijdig te verwerken. De procedure kan volledige geautomatiseerd worden op de QIAcube Connect MDx (pagina 9), zodat u meer gestandaardiseerd en nog gebruiksvriendelijker kunt werken met elutievolume van 60–100 µl in stappen van 5 µl. De procedure is ontwikkeld om kruisbesmetting te voorkomen en voor veilige hantering van mogelijk besmettelijke monsters. Virale nucleïne-zuren zijn geëluëerd in elutiebuffer (AVE) en zijn klaar voor gebruik in amplificatiereacties (PCR) of opslag bij -20 °C voor later gebruik.

Meegeleverde materialen

Inhoud van de kit


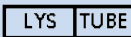




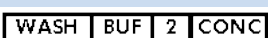
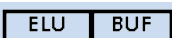
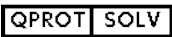
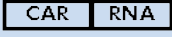


QIAamp DSP Virus Spin Kit

Catalogusnr.

61704

Aantal preparaten

50[§]

QIAamp MinElute	QIAamp MinElute columns with Wash Tube (QIAamp MinElute-kolommen met wasbuisje) (WT)s (2 ml)		50
LT	Lysis Tubes (Lysebuisjes) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Elutiebusjes) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Wasbuisjes) (WT)s (2 ml)		5 x 50
AL	Lysis Buffer (Lysebuffer)*		33 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Wasbuffer 1) (AW1)* (concentraat)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Wasbuffer 2) (AW2)† (concentraat)		13 ml
AVE	Elution Buffer (Elutiebuisjes)† (paarse dopjes)		4 x 2 ml
PS	Protease Solvent (Proteaseoplosmiddel)†		4,4 ml
Koeriersdienst	Carrier RNA (Drager-RNA) (rode dopjes)		310 µg
QP	QIAGEN Protease (QP)‡		1 buisje
-	Gebruiksaanwijzing (handleiding)		1

* Bevat een chaotroop zout. Neem voor de verwerking passende veiligheidsmaatregelen en draag handschoenen. Niet geschikt voor gebruik met bleekhoudende desinfectiemiddelen. Zie voor meer informatie pagina 16.

† Bevat natriumazide als conserveermiddel.

‡ Raadpleeg 'Reagentia en buffers bereiden', pagina 26.

§ Wanneer u de QIAamp DSP Virus Spin Kit geautomatiseerd verwerkt met de QIAcube Connect MDx, verwerkt het instrument mogelijk minder dan 50 monsters. Dit wordt veroorzaakt door dode volumes, verdamping en extra verbruik van reagentia door geautomatiseerd pipetteren. QIAGEN garandeert slechts 50 monsterbereidingen met handmatig gebruik van de QIAamp DSP Virus Spin Kit.

Bestanddelen van de kit

De belangrijkste componenten van de kit die actieve bestanddelen bevatten worden hieronder besproken.

Reagens	Actieve bestanddelen	Concentratie (w/w) [%]
QIAGEN Protease (QP)	Subtilisine	≥ 90 tot ≤ 100
AL	Guanidinehydrochloride Maleïnezuur	≥ 30 tot < 50 $\geq 0,1$ tot < 1
AW1	Guanidinehydrochloride	≥ 50 tot < 70

Benodigde maar niet-meegeleverde materialen

Aanvullende reagentia

- Ethanol (96-100%) *

Consumables (Verbruiksartikelen)

- Pipetten† en pipetpunten (om kruisbesmetting te voorkomen, adviseren wij dringend om pipetpunten met aerosolfilter te gebruiken)
- Wegwerpbare handschoenen

Uitrusting

- Verwarmblok† voor het lyseren van monsters bij 56 °C
- Microcentrifuge† (met rotor voor buisjes van 1,5 en 2 ml)
- Meetcilinder (50 ml)
- Vortexer
- Voor monsters van <200 µl: 0,9% NaCl-oplossing

Alleen voor de geautomatiseerde procedure

- QIAcube Connect MDx† (cat.nr. 9003070)
- Rotor Adapters (cat.nr. 990394)
- Rotor Adapter Holder (cat.nr. 990392)
- Sample Tubes CB (2 ml, cat.nr. 990382, monsterinvoerbus)
- Shaker Rack Plugs (cat.nr. 9017854)
- Reagent Bottles, 30 ml (cat.nr. 990393)

* Gebruik geen gedenatureerde alcohol, aangezien daarin andere stoffen aanwezig zijn zoals methanol of methylethylketon.

† Verzeker u er voor gebruik van dat de apparaten zijn gecontroleerd en gekalibreerd volgens de aanbevelingen van de fabrikant.

- Filter-Tips, 1000 µl (cat.nr. 990352)
- Filter-Tips, 1000 µl, brede opening (cat.nr. 990452)
- Filter-Tips, 200 µl (cat.nr. 990332)
- SafeSeal Tube, 1,5 ml, Sarstedt® (cat.nr. 72.706)

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Onthoud dat u volgens de plaatselijke voorschriften verplicht kunt zijn om ernstige incidenten die hebben plaatsgevonden in verband met gebruik van het hulpmiddel te melden bij de fabrikant en/of diens geautoriseerde vertegenwoordiger en de regelgevende instantie van de locatie waar de gebruiker en/of de patiënt zich bevindt.

Voor in-vitrodiagnostiek.

Lees alle instructies zorgvuldig door voordat u de kit gebruikt.

Veiligheidsinformatie

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB). Deze zijn online beschikbaar in handig en compact pdf-formaat via www.qiagen.com/safety. Hier kunt u de VIB van alle kits en kitcomponenten van QIAGEN vinden, bekijken en afdrukken.



VOORZICHTIG: Voeg GEEN bleekmiddel of zuuroplossingen rechtstreeks toe aan het afval van monsterbereiding.

- Lysisbuffer (AL) en wasbuffer 1 (AW1) bevatten guanidinehydrochloride, dat sterk reactieve verbindingen kan vormen met bleekwater. Als u een vloeistof hebt gemorst die deze buffers bevat, moet deze worden opgenomen met een geschikt laboratoriumreinigingsmiddel en water. Reinig de verontreinigde plek eerst met laboratoriumreinigingsmiddel en water en vervolgens met 1% (v/v) natriumhypochloriet als de gemorste vloeistof mogelijk infectueuze stoffen bevat.

- Draag handschoenen en een veiligheidsbril wanneer u beschadigde of lekkende bufferflessen weggooit om persoonlijk letsel of letsel aan anderen te voorkomen.
- QIAGEN heeft het vloeibare afval dat vrijkomt bij de procedures met de QIAamp DSP Virus Spin Kit niet getest op achtergebleven infectieuze materialen. Het is hoogst onwaarschijnlijk dat het vloeibare afval is gecontamineerd met achtergebleven infectieuze materialen, maar het kan niet worden uitgesloten. Behandel vloeibaar afval daarom als besmettelijk en handel bij het verwerken en afvoeren ervan in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsvoorschriften.
- Specimens en monsters zijn potentieel besmettelijk. Gooi afval van het monster en de assay weg conform uw lokale veiligheidsprocedures.

Informatie voor noodgevallen

CHEMTREC

VS en Canada 1-800-424-9300

Buiten de VS en Canada +1 703-527-3887

Voorzorgsmaatregelen

De volgende gevarenaanduidingen en voorzorgsmaatregelen zijn van toepassing op de onderdelen van de QIAamp DSP Virus Spin Kit:

Lysis Buffer (AL)



Bevat: guanidinehydrochloride; maleïnezuur. Waarschuwing! Kan schadelijk zijn bij inslikken en bij inademing. Veroorzaakt huidirritatie. Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming. Neem onmiddellijk contact op met een GIFCENTRUM of een arts wanneer u zich onwel voelt. Bij huidirritatie of uitslag: Een arts raadplegen. Trek verontreinigde kleding uit en was deze voordat u deze opnieuw gebruikt. Voer de inhoud/verpakking af naar een goedgekeurde stortlocatie.

Wash Buffer 1 (AW1)



Bevat: guanidinehydrochloride. Waarschuwing! Schadelijk bij inslikken en bij inademing. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming. Trek verontreinigde kleding uit en was deze voordat u deze opnieuw gebruikt. Voer de inhoud/verpakking af naar een goedgekeurde stortlocatie.

QIAGEN Protease (QP)



Bevat: subtilisine. Gevaar! Schadelijk bij opname door de mond. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogschade. Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken. Kan irritatie aan de luchtwegen veroorzaken. Vermijd het inademen van stof/rook/gas/damp/nevel/spray. Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming. Draag ademhalingsbescherming. BIJ CONTACT MET DE OGEN: Voorzichtig spoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien mogelijk. Blijf spoelen. NA (mogelijke) blootstelling: Neem onmiddellijk contact op met een GIFCENTRUM of arts. Breng de persoon in de frisse lucht, in een houding die het ademen vergemakkelijkt.

Afvoer

Het afval bevat monsters en reagentia. Dit afval kan giftig of infectieus materiaal bevatten en moet correcte wijze worden verwijderd. Raadpleeg uw lokale veiligheidsvoorschriften voor de juiste verwijderingsprocedures.

Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB). Deze zijn on-line beschikbaar in pdf-formaat via www.qiagen.com/safety. Hier vindt u de VIB's van alle kits en kit-componenten van QIAGEN, die u kunt bekijken en afdrucken.

Opslag en verwerking van reagentia

Let op de uiterste gebruiksdata en opslagcondities die op de verpakking en etiketten van alle componenten staan vermeld. Gebruik geen componenten na de uiterste gebruiksdatum of die op een verkeerde manier zijn bewaard.

QIAamp MinElute-kolommen moeten na aankomst worden bewaard bij 2 tot 8 °C. Wanneer de QIAamp MinElute-kolommen onder de juiste omstandigheden worden bewaard, zijn deze stabiel tot de houdbaarheidsdatum die op de doos van de kit staat vermeld.

Opmerking: om ervoor te zorgen dat de onderdelen van de kit uit verschillende kits niet door elkaar worden gebruikt, dient u de QIAamp MinElute-kolommen te labelen met het desbetreffende partijnummer van de kit.

Alle buffers kunnen tot de houdbaarheidsdatum van de kit worden bewaard bij kamertemperatuur (15-25 °C).

Gelyofiliseerd drager-RNA kan tot de houdbaarheidsdatum op de verpakking van de kit worden bewaard bij kamertemperatuur.

Gelyofiliseerd QIAGEN Protease (QP) kan tot de houdbaarheidsdatum van de kit worden bewaard bij kamertemperatuur zonder aan werking te verliezen.

Stabiliteit tijdens gebruik

Drager-RNA kan alleen worden opgelost in elutiebuffer (AVE); bij de handmatige procedure moet opgelost drager-RNA onmiddellijk worden toegevoegd aan lysisbuffer (AL), zoals beschreven op pagina 27. Deze oplossing moet vers worden bereid en is maximaal 48 uur stabiel bij 2–8 °C. Ongebruikte porties drager-RNA die zijn opgelost in elutiebuffer (AVE) moeten worden bevroren in aliquots bij -20 °C.

QIAGEN Protease (QP) dat is gereconstitueerd in proteaseoplosmiddel (PS) is maximaal een jaar of tot de houdbaarheidsdatum van de kit stabiel als het wordt bewaard bij 2–8 °C. Bewaar de voorraad QIAGEN Protease (QP)-oplossing niet langdurig bij kamertemperatuur.

Gereconstitueerde Wash Buffer 1 (AW1) en gereconstitueerde Wash Buffer 2 (AW2) zijn maximaal 1 jaar of tot de houdbaarheidsdatum van de kit stabiel als ze worden bewaard bij kamertemperatuur. Volg voor het voorbereiden van de buffers voor de geautomatiseerde procedure de instructies in de *Gebruikershandleiding van de QIAcube Connect MDx*.

Afnemen, bewaren en verwerken van specimens

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

Voor algemene aanbevelingen met betrekking tot afname, transport en opslag raadpleegt u de goedgekeurde CLSI-richtlijn MM13-A 'Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods' (Afname, transport, bereiding en opslag van specimens voor moleculaire methoden). Bovendien moeten de instructies van de fabrikant voor het geselecteerde monsterafnamehulpmiddel worden opgevolgd tijdens de monsterbereiding, de opslag, het transport en het algemene gebruik.

De purificatieprocedure is geoptimaliseerd voor gebruik met humaan plasma en serummonsters. Bloedmonsters die met EDTA of citraat als antistollingsmiddel zijn behandeld, kunnen worden gebruikt voor de bereiding van plasma. Monsters kunnen vers of bevroren zijn, indien deze niet vaker dan eenmaal zijn bevroren en ontdooid. Ontdooi bevroren monsters onder zacht schudden om te verzekeren dat ze goed gemengd worden.

Na afname en centrifugatie kan plasma of serum maximaal 6 uur worden bewaard bij 2-8 °C. Voor langdurige opslag wordt geadviseerd om deze producten te bewaren in aliquots bij -80 tot -20 °C. Bevroren plasma of serummonsters mogen niet vaker dan een keer worden ontdooid. Herhaaldelijk invriezen en ontdooien, leidt tot denaturatie en precipitatie van eiwitten. Dit kan resulteren in minder virale titers en daarmee een lagere opbrengst aan virale nucleïnezuren. Bovendien worden er tijdens het invriezen en ontdooien cryoprecipitaten gevormd, waardoor het QIAamp MinElute-membraan verstopt kan raken. Gevormde cryoprecipitaten kunnen worden gepelletiseerd door centrifugatie bij ongeveer 6800 x g gedurende 3 minuten. Het gereinigde supernatant moet worden verwijderd en moet

onmiddellijk worden verwerkt zonder de pellet te verstoren. Start onmiddellijk met de opzuiveringsprocedure. Centrifugatie met lage g-kracht vermindert het aantal virale titers niet.

Opmerking: Volgens exemplarische interfereentieonderzoeken voor de QIAamp DSP Virus Spin Kit en in overeenstemming met ISO 20186-2:2019(E) kan heparine uit bloedafnamebuisjes invloed hebben op de zuiverheid van de geïsoleerde nucleïne-zuren en mogelijke carry-over naar eluaten kan remmingen veroorzaken in bepaalde latere toepassingen. We raden daarom aan bloedmonsters die met EDTA of citraat als antistollingsmiddel zijn behandeld te gebruiken.

Belangrijke opmerkingen

Wat u moet weten voordat u begint

- Controleer na ontvangst van de kit of de onderdelen van de kit niet zijn beschadigd. Neem contact op met de technische diensten van QIAGEN of uw plaatselijke leverancier als de blisterverpakkingen of flesjes met buffer zijn beschadigd. Raadpleeg in geval van gemorste vloeistof 'Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen' (pagina 16). Gebruik geen onderdelen van de kit die zijn beschadigd, omdat dit kan leiden tot een verminderde werking van de kit.
- Gebruik altijd RNase-vrije instrumenten.
- Gebruik na het overbrengen van vloeistof een nieuwe pipetpunt. Om het risico op kruisbesmetting te minimaliseren, adviseren wij om gebruik te maken van pipettips met aerosolfilter.
- Draag altijd wegwerphandschoenen en controleer regelmatig of deze niet zijn verontreinigd met materiaal uit een monster. Gooi de handschoenen weg als u denkt dat ze zijn verontreinigd.
- Open niet meer dan één buisje tegelijk om het risico op kruisbesmetting te minimaliseren.
- Centrifugeer de microcentrifugebuisjes kort na elke vortexstap om eventuele druppeltjes aan de onderkant van de dop te verwijderen.
- Alle centrifugatiestappen moeten worden uitgevoerd bij kamertemperatuur (15-25 °C).
- De gebruiker dient ervoor te zorgen dat de monsters gedurende de gehele procedure traceerbaar blijven.
- Gebruik geen onderdelen uit andere kits in combinatie met de kits die u op dit moment gebruikt, tenzij de partijnummers identiek zijn.
- Voorkom microbiële besmetting van de reagentia uit de kit.
- Om het risico op besmetting door mogelijk besmettelijk materiaal te minimaliseren, adviseren wij om te werken in een laminaire luchtstroomkast totdat de monsters zijn gelyseerd.

- Volg voor automatisering de instructies op de gebruikersinterface (QIAcube Connect MDx) en raadpleeg de Gebruikershandleiding (van QIAcube Connect MDx).
- Deze kit mag alleen worden gebruikt door mensen die zijn opgeleid op het gebied van laboratoriumwerkwijzen voor in-vitrodiagnostiek.

QIAamp MinElute-kolommen verwerken

Technieken waarin gebruik wordt gemaakt van nucleïnezuuramplificatie zijn erg gevoelig; bij gebruik van de QIAamp MinElute-kolommen zijn daarom de volgende voorzorgsmaatregelen noodzakelijk om kruisbesmetting tussen monsterbereidingen te voorkomen:

- Ga zorgvuldig te werk bij het aanbrengen van het monster of de oplossing op de QIAamp MinElute-kolom. Pipetteer het monster in de QIAamp MinElute-kolom zonder de rand van de kolom te bevochtigen.
- Gebruik iedere keer na het overbrengen van vloeistof een nieuwe pipetpunt. U kunt het beste gebruikmaken van pipettips met aerosolfilter.
- Raak het QIAamp MinElute-membraan niet aan met de pipetpunt.
- Open niet meer dan één QIAamp MinElute-kolom tegelijk en zorg dat er geen aerosolen kunnen worden gevormd.

Centrifugatie

- Voor alle centrifugatiestappen worden wasbuisjes (WT's) en elutiebusjes meegeleverd met de kit.
- Centrifugatie van QIAamp MinElute-kolommen wordt gedaan bij ongeveer 6000 x g om geluidshinder door de centrifuge te beperken. QIAamp MinElute-kolommen op maximale snelheid centrifugereren, heeft geen invloed op de opbrengst aan DNA of RNA.
- Droogcentrifugereren aan het einde van de wasprocedure en centrifugereren voor elutie moet op maximale snelheid worden gedaan.
- Alle centrifugatiestappen moeten plaatsvinden bij kamertemperatuur (15–25 °C).

QIAamp MinElute-kolommen verwerken in een microcentrifuge

- Sluit de QIAamp MinElute-kolom voordat u deze in de microcentrifuge plaatst. Centrifugeer zoals beschreven.
- Haal de QIAamp MinElute-kolom en het wasbuisje (WT's) uit de microcentrifuge.
- Plaats de QIAamp MinElute-kolom in een nieuw wasbuisje (WT's). Gooi het filtraat en het wasbuisje (WT) weg. Houd er rekening mee dat het filtraat gevaarlijk afval kan bevatten en op de juiste wijze moet worden afgevoerd.
- Open niet meer dan één QIAamp MinElute-kolom tegelijk en zorg dat er geen aerosolen kunnen worden gevormd.

Om meerdere monsters tegelijkertijd efficiënt te kunnen verwerken, raden wij aan om de benodigde wasbuisjes (WT's) klaar te zetten in een rek, zodat de QIAamp MinElute-kolommen na centrifugatie naar de buisjes kunnen worden overgebracht. Gebruikte wasbuisjes (WT's) met het filtraat kunnen worden weggegooid. De nieuwe wasbuisjes (WT's) met de QIAamp MinElute-kolommen kunnen rechtstreeks in de microcentrifuge worden geplaatst.

Reagentia en buffers bereiden

Bereiding van RNA

Doorloop voor het bereiden van viraal RNA vlot de handmatige stappen van de procedure en lees de Bijlage op pagina 45 voordat u begint.

QIAGEN Protease (QP) bereiden

Voeg de gehele inhoud van de flacon met 4,4 ml proteaseoplosmiddel (PS) toe aan de flacon met gelyofiliseerde QIAGEN Protease (QP) en meng de inhoud voorzichtig. Meng de inhoud van de flacon door deze meerdere keren om te keren. Zo voorkomt u dat het mengsel gaat schuimen. Zorg ervoor dat de QIAGEN Protease (QP) volledig wordt opgelost.

 Voeg QIAGEN Protease (QP) niet rechtstreeks toe aan lysisbuffer (AL).*

Toevoegen van drager-RNA en interne controle aan lysisbuffer (AL)* (alleen voor de handmatige procedure)

Het gebruik van een interne controle wordt sterk aanbevolen wanneer de QIAamp DSP Virus Spin Kit wordt gebruikt in combinatie met diagnostische amplificatiesystemen. Raadpleeg de instructies van de fabrikant voor meer informatie. Interne controle en gereconstitueerd drager-RNA moeten worden toegevoegd aan lysisbuffer (AL) en voorzichtig worden gemengd door het buisje 10 keer om te draaien. Vortex het buisje niet om schuimvorming te voorkomen. Als u gebruikmaakt van interne controle, gebruik dan dienovereenkomstig minder volume voor de lysisbuffer (AL) (zie tabel 1 voor meer informatie).

Raadpleeg de instructies van de fabrikant om de meest geschikte concentratie interne controle te bepalen. Het gebruik van een andere concentratie dan aanbevolen, leidt mogelijk tot onjuiste resultaten. Houd bij het berekenen van de juiste hoeveelheid interne controle rekening met het uitgangsvolume van het monster en het elutievolume. De QIAamp DSP Virus Spin Kit gebruikt een uitgangsmonstervolume van 200 µl.

Vul het buisje dat 310 µg gelyofiliseerd drager-RNA bevat met 310 µl elutiebuffer (AVE) om een oplossing drager-RNA van 1 µg/µl te bereiden. Los het drager-RNA geheel op, verdeel de oplossing in handzame aliquots en bewaar deze bij -20 °C. Ontdooi de ingevroren aliquots drager-RNA niet vaker dan 3 keer.

 Drager-RNA lost niet op in lysisbuffer (AL). Drager-RNA moet eerst worden opgelost in elutiebuffer (AVE) en kan daarna worden toegevoegd aan lysisbuffer (AL). Controleer of het drager-RNA volledig is opgelost in de juiste hoeveelheid elutiebuffer (AVE), voordat het wordt gemengd met lysisbuffer (AL).

* Bevat chaotroop zout. Neem voor de verwerking passende laboratoriumveiligheidsmaatregelen en draag handschoenen. Niet geschikt voor gebruik met bleekhoudende desinfectiemiddelen. Zie pagina 16 voor veiligheidsinformatie.

Bepaal hoeveel monsters gelijktijdig moeten worden verwerkt aan de hand van tabel 1 op pagina 29 om het volume van het mengsel van lysisbuffer AL en drager-RNA te berekenen dat nodig is voor een batch monsters. Voor grotere aantallen monsters kan het volume worden berekend met behulp van onderstaande formule:

$$n \times 0,22 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 28 \text{ } \mu\text{l/ml} = z \text{ } \mu\text{l}$$

waarbij: n = aantal monsters dat gelijktijdig moet worden verwerkt

y = berekend volume lysisbuffer (AL)

z = volume drager-RNA-elutiebuffer (AVE) dat aan de lysisbuffer (AL) moet worden toegevoegd

Meng de inhoud voorzichtig door het buisje 10 keer om te keren. Vortex het buisje niet om schuimvorming te voorkomen.

Tabel 1. Vereiste volumes (Vol.) lysisbuffer (AL) gemengd met drager-RNA-elutiebuffer (AVE) voor specifieke aantallen (Aant.) monsters voor de QIAamp DSP Virus Spin-procedure*

Aant. monsters	Vol. lysisbuffer (AL)* (ml)	Vol. drager-RNA-AVE (µl)	Aant. monsters	Vol. lysisbuffer (AL)* (ml)	Vol. drager-RNA-AVE (µl)
1	0,22 ml	6,2 µl	13	2,86 ml	80,1 µl
2	0,44 ml	12,3 µl	14	3,08 ml	86,3 µl
3	0,66 ml	18,5 µl	14	3,30 ml	92,4 µl
4	0,88 ml	24,6 µl	16	3,52 ml	98,6 µl
5	1,10 ml	30,8 µl	17	3,74 ml	104,7 µl
6	1,32 ml	37,0 µl	18	3,96 ml	110,9 µl
7	1,54 ml	43,1 µl	19	4,18 ml	117,0 µl
8	1,76 ml	49,3 µl	20	4,40 ml	123,2 µl
9	1,98 ml	55,4 µl	21	4,62 ml	129,4 µl
10	2,20 ml	61,6 µl	22	4,84 ml	135,5 µl
11	2,42 ml	67,8 µl	23	5,06 ml	141,7 µl
12	2,64 ml	73,9 µl	24	5,28 ml	147,8 µl



De procedure voor monsterbereiding is geoptimaliseerd voor 5,6 µg drager-RNA per monster. Breng alleen de vereiste hoeveelheid opgelost drager-RNA over naar de buisjes met lysisbuffer (AL) als is uitgezeten dat minder drager-RNA beter is voor uw amplificatiesysteem. Voeg voor elke microgram drager-RNA dat per bereiding is vereist 5 µl drager-RNA dat is opgelost in elutiebuffer (AVE) toe per milliliter lysisbuffer (AL). Wanneer minder dan 5,6 µg drager-RNA per monster wordt gebruikt, moet deze hoeveelheid voor elk type monster en vervolgcassay afzonderlijk worden gevalideerd.

*Als u gebruikmaakt van interne controle, gebruik dan dienovereenkomstig minder volume voor de lysisbuffer (AL).

Bereid voor de geautomatiseerde procedure de drager-RNA in AVE zoals hierboven beschreven (om een oplossing van 1 µg/µl te krijgen). In de volgende stap biedt u de QIAcube Connect MDx voldoende drager-RNA-oplossing voor het vereiste aantal monsters plus twee extra monsters. Het vereiste aantal wordt tijdens het laden getoond in de gebruikersinterface. De toevoeging van drager-RNA aan lysisbuffer (AL) wordt uitgevoerd door de QIAcube Connect MDx.

Het interne controlemengels wordt bereid zoals beschreven op het instrumentscherm van de QIAcube MDx. De interne controle wordt toegevoegd aan het mengsel drager-RNA-AVE.

Wasbuffer 1 (AW1) bereiden *

Voeg, met behulp van een maatcilinder 25 ml ethanol (96–100%) toe aan een flesje met 19 ml wasbuffer 1 (AW1)-concentraat, en volg daarbij de instructies op het flesje. Vink het vakje op het etiket aan, om aan te geven dat er ethanol is toegevoegd. Bewaar de gereconstitueerde wasbuffer 1 (AW1) bij kamertemperatuur.



Meng de gereconstitueerde wasbuffer 1 (AW1) altijd door de fles meerdere malen om te keren voordat u de procedure start.

Wasbuffer 2 (AW2) bereiden †

Voeg, met behulp van een maatcilinder 30 ml ethanol (96–100%) toe aan een flesje met 13 ml wasbuffer 2 (AW2)-concentraat, en volg daarbij de instructies op het flesje. Vink het vakje op het etiket aan, om aan te geven dat er ethanol is toegevoegd. Bewaar de gereconstitueerde wasbuffer 2 (AW2) bij kamertemperatuur.



Meng de gereconstitueerde wasbuffer 2 (AW2) altijd door de fles meerdere malen om te keren voordat u de procedure start.

Elutiebuffer (AVE) bereiden

De kit wordt geleverd met vier buisjes elutiebuffer (AVE). Let op dat u de buffer niet verontreinigt met RNAsen. Wanneer met één kit vier zuiveringsprocedures of minder worden uitgevoerd, adviseren wij om het buisje elutiebuffer (AVE) aan het eind van iedere procedure weg te gooien.

* Bevat chaotroop zout. Neem voor de verwerking passende laboratoriumveiligheidsmaatregelen en draag handschoenen. Niet geschikt voor gebruik met bleekhoudende desinfectiemiddelen. Zie pagina 16 voor veiligheidsinformatie.

† Bevat natriumazide als conserveermiddel.

Protocol: Zuivering van virale nucleïnezuuren uit plasma of serum met een microcentrifuge of de QIAcube Connect MDx

Voor het zuiveren van virale nucleïnezuuren uit 200 µl met EDTA of citraat behandeld plasma of serum met behulp van de QIAamp DSP Virus Spin Kit en een microcentrifuge of geautomatiseerd op de QIAcube Connect MDx.

Wat u moet weten voordat u begint

- In onderstaande procedure staan instructies voor het verwerken van één monster. U kunt echter meerdere monsters gelijktijdig verwerken; het aantal is afhankelijk van de capaciteit van de gebruikte microcentrifuge.
- Op de QIAcube Connect MDx kan geautomatiseerde verwerking van 2–10 of 12 monsters worden uitgevoerd.
- Volg voor automatisering de instructies op de gebruikersinterface (QIAcube Connect MDx) en raadpleeg de Gebruikershandleiding van QIAcube Connect MDx.

Wat u moet doen voor u begint

- Laat de monsters op kamertemperatuur komen (15-25 °C) en controleer of ze goed zijn gemengd.
- Zorg ervoor dat alle reagentia en de QIAamp MinElute-kolommen (in gesloten blisterverpakkingen) op kamertemperatuur zijn gebracht.
- Stel een verwarmblok in op 56 °C voor gebruik in stap 4 (vereist voor handmatige procedure en geautomatiseerde procedure met handmatige lysering zonder instrument).
- Controleer of wasbuffer 1 (AW1), wasbuffer 2 (AW2) en QIAGEN Protease (QP) zijn bereid volgens de instructies op pagina 26–30.

- Als er zich precipitaat heeft gevormd in de lysisbuffer (AL), lost u deze op door te incuberen op 56 °C.
- Voeg drager-RNA dat is gereconstitueerd in elutiebuffer (AVE) toe aan lysisbuffer (AL) volgens de instructies op pagina 27 (alleen voor de handmatige procedure).
- Gebruik indien mogelijk voor iedere procedure nieuwe elutiebuffer (AVE) (er zijn 4 buisjes meegeleverd).
- Tijdens de procedures voor kwaliteitscontrole van QIAGEN worden op iedere afzonderlijke kitpartij functionele testen uitgevoerd. Meng daarom geen reagentia uit kits uit verschillende partijen, en voeg geen reagentia uit verschillende partijen samen.

Procedure

- Voor de handmatige procedure met een microcentrifuge volgt u stap 1–15.
- Deze procedure kan op de QIAcube Connect MDx in twee verschillende versies geautomatiseerd worden:
 - Plasma of Serum_Standard: Volledige geautomatiseerd met 200 µl monster (vanaf stap 1 beginnen)
 - Lysis via Plasma of Serum_Manual: Gedeeltelijk geautomatiseerd met handmatig lyseren zonder instrument met 200 µl volume initieel monster (na stap 5 beginnen)

1. Pipetteer 25 µl QIAGEN Protease (QP) naar een lysebuisje (LT).




Controleer voor gebruik de vervaldatum van de gereconstitueerde protease.

2. Voeg 200 µl plasma of serum toe aan het lysebuisje (LT).

Opmerking: Vul een monstervolume van minder dan 200 µl aan met 0,9% natriumchloride totdat het volume van de protease en het monster samen 225 µl bedraagt.

3. Voeg 200 µl lysisbuffer (AL) (met 28 µg/ml drager-RNA en optioneel interne controle) toe. Sluit het dopje en meng de inhoud gedurende ≥ 15 sec. met een puls-vortexmixer.

Voor efficiënte lysering is het essentieel dat het monster en de lysisbuffer (AL) grondig worden gemengd tot een homogene oplossing.

 Lysisbuffer (AL) bevat interne controle. Aangezien lysisbuffer (AL) een hoge viscositeit heeft, moet u ervoor zorgen dat u het juiste volume aan lysisbuffer (AL) toevoegt door zorgvuldig te pipetteren.

 Voeg QIAGEN Protease (QP) niet rechtstreeks toe aan lysisbuffer (AL).

4. Incubeer 15 minuten bij 56 °C in een verwarmblok.
5. Centrifugeer het lysisbuisje (LT) kortdurend om eventuele druppeltjes aan de onderkant van de dop te verwijderen.

Opmerking: Indien handmatige lysis (stap 1–15) is uitgevoerd zonder instrument, kunnen de volgende stappen (stap 6–15) worden geautomatiseerd: 'Protocol handmatige lysis' op de QIAcube Connect MDx.

6. Voeg 250 µl ethanol (96–100%) toe aan het monster, sluit het deksel en meng de inhoud grondig gedurende ≥ 15 seconden met een pulse-vortexmixer. Incubeer het lysaat gedurende 5 minuten met de ethanol bij kamertemperatuur (15–25 °C).
7. Centrifugeer het buisje kort om eventuele druppeltjes aan de onderkant van de dop te verwijderen.
8. Breng al het lysaat uit stap 7 voorzichtig aan op de QIAamp MinElute-kolom zonder de rand te bevochtigen. Doe het dopje dicht en centrifugeer > 1 min. bij ongeveer 6000 x g. Plaats de QIAamp MinElute-kolom in een schoon wasbuisje (WT) van 2 ml en gooi het wasbuisje (WT) met het filtraat weg.

 Centrifugeer het buisje nogmaals met een hogere snelheid totdat de QIAamp MinElute-kolom leeg is als het lysaat de kolom niet volledig is gepasseerd.

9. Open de QIAamp MinElute-spinkolom voorzichtig en voeg 500 µl wasbuffer 1 (AW1) toe zonder de rand te bevochtigen. Doe het dopje dicht en centrifugeer ≥ 1 min. bij ongeveer 6000 x g. Plaats de QIAamp MinElute-kolom in een schoon wasbuisje (WT) van 2 ml en gooi het wasbuisje (WT) met het filtraat weg.

10. Open de QIAamp MinElute-spinkolom voorzichtig en voeg 500 µl wasbuffer 2 (AW2) toe zonder de rand te bevochtigen. Doe het dopje dicht en centrifugeer > 1 min. bij ongeveer 6000 x g. Plaats de QIAamp MinElute-kolom in een schoon wasbuisje (WT) van 2 ml en gooi het wasbuisje (WT) met het filtraat weg.

11. Open de QIAamp MinElute-kolom voorzichtig en voeg 500 µl ethanol (96–100%) toe zonder de rand te bevochtigen. Doe het dopje dicht en centrifugeer > 1 minuut bij ongeveer 6000 x g. Gooi het wasbuisje (WT) met het filtraat weg.



Als er ethanol in het eluaat terechtkomt, kan dat problemen veroorzaken in vervolgbepalingen. Bij sommige centrifuges kan tijdens het afremmen vibratie van de rotor optreden, waardoor de doorgelopen vloeistof, die ethanol bevat, in aanraking komt met de QIAamp MinElute-kolom. Wanneer u de QIAamp MinElute-kolom en het wasbuisje (WT) uit de rotor haalt, kan er ook doorgelopen vloeistof in aanraking komen met de QIAamp MinElute-kolom.

12. Plaats de QIAamp MinElute-kolom in een schoon wasbuisje (WT) van 2 ml. Centrifugeer ongeveer 3 minuten op maximale snelheid (ongeveer 20.000 x g) om het membraan volledig te drogen.




Nalaten van het droogcentrifugeren kan leiden tot verminderde werking van het vervolggassay.


13. Plaats de QIAamp MinElute-kolom in een nieuw wasbuisje (WT) van 2 ml, open het dopje en incubeer het geheel gedurende 3 min. bij 56 °C om het membraan volledig te drogen en eventuele achtergebleven vloeistoffen te verdampen.


14. Plaats de QIAamp MinElute-kolom in een nieuw elutiebusje (ET) en gooi het wasbuisje (WT) weg met het filtraat. Open het dopje van de QIAamp MinElute-kolom voorzichtig en breng 20–150 µl elutiebuffer (AVE) over naar het midden van het membraan.




Het is belangrijk om een nieuw elutiebusje te gebruiken om verontreiniging met resterende wasbuffers te voorkomen; deze kunnen een negatieve invloed op de vervolggassay hebben.


 Het doseren van de elutiebuffer in het midden van het membraan is met name belangrijk voor kleinere elutievolumes om een optimale terugwinning van nucleïnezuren en elutiebuffer te garanderen.

 Het elutievolume kan worden aangepast aan de vereisten van de vervolgbepaling. In de geautomatiseerde workflow zijn elutievolumes van 60-100 µl in stappen van 5 µl mogelijk. Onthoud dat het gewonnen eluaatvolume lager kan zijn dan het elutiebuffervolume dat op de kolom is toegepast, omdat er na centrifugatie elutiebuffer achterblijft in het membraan van de spin kolom.

 Controleer of de elutiebuffer op kamertemperatuur is gekomen.

15. Doe het dopje dicht en incubeer ten minste ≥ 3 min. bij kamertemperatuur. Centrifugeer 1 minuut op maximale snelheid (ongeveer 20.000 x g).

 Oriënteer de deksels van de elutiebuisjes zo dat deze in de tegenovergestelde richting van de rotatie van de rotor wijzen (oriënteer de deksels bijvoorbeeld linksom als de rotor rechtsom draait).

 Bij alle geautomatiseerde procedures verwijdert u het eluaat direct na een voltooide run uit het instrument en bewaart u dit naar behoren.

Kwaliteitscontrole

Elke partij QIAamp DSP Virus Spin Kits wordt, in overeenstemming met het ISO-gecertificeerde kwaliteitsbeheersysteem van QIAGEN, getest op vooraf vastgestelde specificaties om een consistente kwaliteit van het product te waarborgen.

Beperkingen

De systeemprestaties zijn vastgesteld in prestatiebeoordelingsonderzoeken naar zuivering van virale nucleïnezuren uit humaan plasma en serummonsters.

Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de werking van het systeem te verifiëren voor procedures die in het eigen laboratorium worden gebruikt en die niet zijn opgenomen in de prestatieonderzoeken van QIAGEN.

Om het risico van een negatieve invloed op de diagnostische resultaten zo klein mogelijk te houden, moeten de juiste controles worden gebruikt voor latere toepassingen. Gegeneerde diagnostische resultaten moeten worden geïnterpreteerd in combinatie met overige klinische bevindingen of laboratoriumresultaten.

Prestatiekenmerken

De toepasselijke prestatiekenmerken kunt u vinden onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com.

Gids voor probleemoplossing

Deze gids voor probleemoplossing kan helpen bij het oplossen van eventuele problemen. Raadpleeg voor meer informatie ook de lijst met veelgestelde vragen in ons centrum voor technische ondersteuning: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. De wetenschappers van de technische diensten van QIAGEN beantwoorden graag al uw vragen over de informatie en/of protocollen in deze handleiding of over monster- en assaytechnologieën (kijk op www.qiagen.com voor contactgegevens).

Opmerkingen en suggesties

Algemeen werk

- a) Verstopping van pipettips tijdens monsteroverdracht
- Bevoren monsters zijn na het ontdooien niet goed gemengd. Ontdooi bevroren monsters onder zacht schudden om te verzekeren dat ze goed gemengd worden. Tijdens het invriezen en ontdooien worden er cryoprecipitaten gevormd, waardoor het QIAamp MinElute-membraan verstopt kan raken. Als er cryoprecipitaten zichtbaar zijn, centrifugeer het monster dan gedurende 5 minuten op $16.000 \times g$.
- b) Verstopte QIAamp MinElute-kolom
- Als het lysaat na centrifugeren op $6000 \times g$ (8000 tpm) nog niet volledig het membraan is gepasseerd, centrifugeert u opnieuw op volledige snelheid (maximaal $20.800 \times g$) gedurende 1 min. Gooi het monster weg en herhaal de stappen voor isolatie en zuivering met nieuw monstermateriaal vanaf stap 1 als het lysaat tijdens het centrifugeren nog steeds niet het membraan passeert. Tijdens het invriezen en ontdooien worden er cryoprecipitaten gevormd, waardoor het membraan van de QIAamp MinElute-kolom verstopt kan raken. Als er cryoprecipitaten zichtbaar zijn, centrifugeer het monster dan gedurende 5 minuten op $16.000 \times g$. U kunt het risico op membraanverstopping verkleinen door tijdens de lysis gebruik te maken van ijsgekoelde ethanol. Het is daarnaast essentieel om de lyseerbuffers in de volgorde die hierboven is beschreven, toe te voegen. Voeg QIAGEN Protease (QP) niet rechtstreeks toe aan lysisbuffer (AL).

Opmerkingen en suggesties

- | | |
|--|---|
| c) Er heeft zich precipitaat gevormd in de lysisbuffer | Oplossen door middel van incubatie van de lysisbuffer (AL) bij 56 °C. |
| d) Variabele elutievolumes | <p>Het verkregen volume van het eluaat is afhankelijk van de aard van het monster. Vanwege de resterende elutiebuffer die na centrifugeren door het membraan van de spinkolom wordt vastgehouden, kan het verkregen volume van het eluaat lager zijn dan het volume van de elutiebuffer dat op de kolom wordt aangebracht.</p> <p>Breng de elutiebuffer aan op het midden van het membraan. Het doseren van de elutiebuffer in het midden van het membraan is met name belangrijk voor kleinere elutievolumes om een optimale terugwinning van nucleïnezuren en elutiebuffer te garanderen.</p> |
| e) Voor problemen tijdens de geautomatiseerde workflow | Raadpleeg de <i>gebruiksaanwijzing bij de QIAcube Connect MDx</i> . |

DNA presteert niet goed in vervolgtoeepassingen

- | | |
|--------------------------------------|---|
| a) Onvolledige lysering van monsters | <p>Als QIAGEN Protease (QP) langdurig is blootgesteld aan een hogere temperatuur, kan de activiteit verloren gaan. Herhaal de procedure met nieuwe monsters en verse QIAGEN Protease (QP).</p> <p>Zorg ervoor dat u QIAGEN Protease (QP) oplost met proteaseoplosmiddel volgens de bovenstaande instructies. Meng de inhoud van de flacon door deze meerdere keren om te keren. Zo voorkomt u dat het mengsel gaat schuimen. Zorg ervoor dat de QIAGEN Protease (QP) volledig wordt opgelost. Voeg QIAGEN Protease (QP) niet rechtstreeks toe aan lysisbuffer (AL).</p> <p>Voor efficiënte lysering is het essentieel dat het monster en de lysisbuffer (AL) grondig worden gemengd tot een homogene oplossing. Aangezien lysisbuffer (AL) een hoge viscositeit heeft, moet u ervoor zorgen dat u het juiste volume aan lysisbuffer (AL) toevoegt door zorgvuldig te pipetteren en door een geschikte pipet te gebruiken.</p> |
|--------------------------------------|---|

Opmerkingen en suggesties

- b) Ethanol met laag percentage gebruikt in plaats van 96-100% Herhaal de zuiveringsprocedure met nieuwe monsters en 96-100% ethanol. Gebruik geen gedestilleerde alcohol, aangezien daarin andere stoffen aanwezig zijn zoals methanol of methylethylketon.
- c) Wasbuffer 1 (AW1) of wasbuffer 2 (AW2) verkeerd bereid Zorg ervoor dat de wasbuffer 1 (AW1) en wasbuffer 2 (AW2) concentraten zijn verdund met het juiste volume 96-100% ethanol en zijn gemengd door de fles meerdere keren om te keren alvorens de procedure te starten.
- d) Plasma- en serummonsters zijn verkeerd bereid, bewaard of gemengd De purificatieprocedure is geoptimaliseerd voor gebruik met humaan plasma en serummonsters. Bloedmonsters die met EDTA of citraat als antistollingsmiddel zijn behandeld, kunnen worden gebruikt voor de bereiding van plasma. Na afname en centrifugatie kan plasma of serum maximaal 6 uur worden bewaard bij 2-8 °C. Voor langdurige opslag wordt geadviseerd om deze producten te bewaren in aliquots bij -80 tot -20 °C.
- Bevoren plasma of serummonsters mogen niet vaker dan een keer worden ontdooid. Herhaaldelijk invriezen en ontdooien, leidt tot denaturatie en precipitatie van eiwitten. Dit kan resulteren in minder virale titers en daarmee een lagere opbrengst aan virale nucleïnezuren.
- Ontdooi bevroren monsters onder zacht schudden om te verzekeren dat ze goed gemengd worden.
- e) Weinig of geen DNA in het eluaat Gebruik minder elutievolume of vergroot zo mogelijk de hoeveelheid eluaat dat wordt toegevoegd aan de reactie.
- f) Ongeschikt elutievolume gebruikt Bepaal het maximale volume van eluaat dat geschikt is voor uw vervolprocedure. Verlaag of verhoog dienovereenkomstig het volume van het eluaat dat wordt toegevoegd aan de vervolprocedure. Het elutievolume kan proportioneel worden aangepast. Door elutie met kleinere volumes van elutiebuffer (AVE) stijgen de concentraties nucleïnezuren.

Opmerkingen en suggesties

- g) Carry-over van potentiële remmer
- Zorg ervoor dat u vóór de elutie droogcentrifugeert om mogelijke remming van de vervolgassay te voorkomen.
- Het is belangrijk om een nieuw elutiebusje te gebruiken om verontreiniging met resterende wasbuffers te voorkomen; deze kunnen een negatieve invloed op de vervolgassay hebben.
- Volgens exemplarische interferentieonderzoeken voor de QIAamp DSP Virus Spin Kit en in overeenstemming met ISO 20186-2:2019(E) kan heparine uit bloedafnamebuisjes invloed hebben op de zuiverheid van de geïsoleerde nucleïnezuren en mogelijke carry-over naar eluaten kan remmingen veroorzaken in bepaalde latere toepassingen. We raden daarom aan bloedmonsters die met EDTA of citraat als antistollingsmiddel zijn behandeld te gebruiken.
- h) Drager-RNA afgebroken/
verkeerd bereid
- Drager-RNA dient twee doeleinden: in de eerste plaats verbetert het de binding van virale nucleïnezuren aan het QIAamp-membraan, vooral als het monster zeer weinig doelmoleculen bevat; in de tweede plaats verlaagt het toevoegen van grote hoeveelheden drager-RNA de kans op afbraak van viraal RNA, in het zeldzame geval dat RNase-moleculen ontsnappen aan denaturatie door de chaotropische zouten en reinigingsmiddel in lysisbuffer (AL).
- Als er geen drager-RNA wordt toegevoegd aan lysisbuffer (AL), kan dit leiden tot verminderde winning van viraal RNA of DNA.
- Drager-RNA kan alleen worden opgelost in elutiebuffer (AVE); opgelost drager-RNA moet onmiddellijk worden toegevoegd aan lysisbuffer (AL).
- Drager-RNA kan ook worden toegevoegd aan sommige reagentia voor interne controle of in de handel verkrijgbare vervolgassays. Raadpleeg in dergelijke gevallen de bijbehorende gebruiksaanwijzing van de fabrikant of vervolgassay.

Symbolen

De volgende symbolen worden in de gebruiksaanwijzing of op de verpakking en etiketten weergegeven:

Symbol

Symboldefinitie



<N>

Bevat voldoende reagentia voor <N> reacties



Raadpleeg de gebruikshandleiding



Uiterste gebruiksdatum



Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese verordening 2017/746 betreffende medische hulpmiddelen voor in-vitrodiagnostiek.



Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek



Catalogusnummer



Belangrijke opmerking



Lot number (Partijnummer)



Materiaalnummer (m.b.t. labeling van componenten)



Bestanddelen



Volume



Temperatuurbepering

Symbol

Symboldefinitie



Fabrikant



Bij aankomst



Direct na aankomst openen; QIAamp MinElute-kolommen bewaren bij 2-8 °C



Schrijf na toevoeging van ethanol aan het flesje de huidige datum op

ADD

Toevoegen

CONT

Bevat

LYOPH

Gelyofiliseerd

RCNS

Reconstitueren in

EtOH

Ethanol

GuHCl

Guanidinehydrochloride

MALEIC ACID

Maleïnezuur

SUBT

Subtilisine

GTIN

Global Trade Item Number (Artikelnummer wereldhandel)



Resulteert in

NUM

Nummer

Rn

'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer

Symbol

Symboldefinitie



Verwijderd houden van zonlicht



Waarschuwing/voorzichtig



Uniek hulpmiddel-identificatienummer

Bijlage

RNA verwerken

Ribonucleasen (RNasen) zijn zeer stabiele en actieve enzymen die doorgaans geen cofactoren nodig hebben om te functioneren. Gebruik geen kunststof of glazen instrumenten zonder RNase-contaminatie uit te sluiten. RNasen kunnen namelijk moeilijk worden geïnactiveerd en een zeer kleine hoeveelheid is voldoende om RNA te vernietigen. Let erop dat tijdens of na de isolatieprocedure geen RNasen onopzettelijk in het RNA-monster terechtkomen. Neem de volgende voorzorgsmaatregelen tijdens de voorbehandeling en het gebruik van wegwerpbaar en niet-wegwerpbaar houders en oplossingen wanneer u met RNA werkt, zodat de omgeving RNase-vrij is en blijft.

Algemeen werk

Gebruik altijd de juiste microbiologische aseptische techniek wanneer u met RNA werkt. Op de handen en op stofdeeltjes kunnen bacteriën en schimmels aanwezig zijn; dit zijn de meest voorkomende bronnen van RNase-contaminatie. Draag altijd latex of vinyl handschoenen bij het verwerken van reagentia en RNA-monsters, om RNase-contaminatie via de huid of stof van laboratoriumapparatuur te voorkomen. Trek regelmatig schone handschoenen aan en houd alle buisjes gesloten.

Bestelgegevens

Product	Inhoud	Cat.nr.
QIAamp DSP Virus Spin Kit (50)	Voor 50 bereidingen: QIAamp MinElute-kolommen, buffers, reagentia, buisjes, VacConnectors	61704
Verwante producten		
QIAcube Connect MDx*	Het instrument en één jaar garantie op onderdelen en arbeidsloon	9003070
Hulpmiddelen		
Rotor Adapters	Voor 240 bereidingen: 240 wegwerprotoradapters en 240 elutiebuisjes (1,5 ml); voor gebruik met de QIAcube Connect MDx	990394
Rotor Adapter Holder	Houder voor 12 wegwerprotoradapters; voor gebruik met de QIAcube Connect MDx	990392
Sample Tubes CB	1000 conische buisjes van 2 ml met schroefdop zonder starand voor gebruik met de QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Om het QIAcube Connect MDx schudderrek te laden	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Reagensflessen (30 ml) met deksels; 6 in verpakking; voor gebruik met de QIAcube Connect MDx	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Wegwerpbare Filter-Tips in een rek; (8 x 128). Voor gebruik met de QIAcube Connect MDx	990352

Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Wegwerpbare Filter-Tips, brede opening, in een rek; (8 x 128); niet vereist voor alle protocollen. Voor gebruik met de QIAcube Connect MDx	990452
Filter-Tips, 200 µl	Wegwerpbare Filter-Tips in een rek; (8 x 128). Voor gebruik in combinatie met de QIAcube Connect MDx- en QIASymphony SP/AS-instrumenten	990332

* De QIAcube Connect MDx is niet in alle landen verkrijgbaar. Neem voor meer informatie contact op met de technische diensten van QIAGEN.

Raadpleeg voor bijgewerkte licentie-informatie en productspecifieke disclaimers de desbetreffende gebruiksaanwijzingen van de QIAGEN-kit. De gebruiksaanwijzingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Revisiegeschiedenis van document

Revisie

Beschrijving

R1, juni 2022

Versie 2, revisie 1

- Update naar kitversie 2 voor naleving van IVDR
- Update van gedeelten Beoogd gebruik en Beperkingen
- Update van Beschrijving en principe
- Update van Meegeleverde materialen (toevoeging van actieve bestanddelen) en Benodigde maar niet meegeleverde materialen
- Update van Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen (toevoeging van informatie bij noodgevallen en het gedeelte Afvoer)
- Update van Opslag en verwerking van reagentia
- Update van Afnemen, bewaren en verwerken van specimen
- Update van Belangrijke opmerkingen en Procedure
- Update van Prestatiekenmerken
- Update van hoofdstuk Bijlage
- Toevoeging van Problemen oplossen
- Update van gedeelte Symbolen
- Update van paragraaf Bestelgegevens

Deze pagina is met opzet leeg gelaten

Deze pagina is met opzet leeg gelaten

Beperkte licentieovereenkomst voor de QIAamp® DSP Virus Spin Kit

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

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de protocollen die bij het product en deze gebruiksaanwijzing zijn meegeleverd, en mag alleen worden gebruikt met onderdelen die zich in de panel bevinden. QIAGEN geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten onderdelen van deze panel te gebruiken of samen te stellen met onderdelen die niet bij de panel zijn meegeleverd, behalve zoals beschreven in de protocollen die bij het product en deze gebruiksaanwijzing zijn meegeleverd, en in aanvullende protocollen die beschikbaar zijn op www.qiagen.com. Sommige van deze aanvullende protocollen zijn verstrekt door QIAGEN-gebruikers, voor QIAGEN-gebruikers. Deze protocollen zijn niet uitgebreid door QIAGEN getest of geoptimaliseerd. QIAGEN garandeert deze protocollen niet en kan evenmin waarborgen dat ze geen rechten van derden schenden.
2. Anders dan uitdrukkelijk gesteld in licenties, garandeert QIAGEN niet dat dit panel en/of het gebruik ervan geen rechten van derden schenden.
3. Dit panel en de onderdelen ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, opgeknapt of doorverkocht.
4. QIAGEN doet in het bijzonder afstand van enige andere licenties die worden genoemd of geïmpliceerd, anders dan de uitdrukkelijk gestelde.
5. De koper en gebruiker van het panel gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen en niemand anders toestaan stappen te ondernemen die tot bovenstaande verboden handelingen kunnen leiden of deze vergemakkelijken. QIAGEN mag de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst afdwingen bij de rechter en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten, inclusief advocaatkosten, verhalen bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht in verband met het paneel en/of de onderdelen ervan af te dwingen.

Zie voor bijgewerkte licentievoorwaarden www.qiagen.com.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcube®, QIAamp® (QIAGEN Group). Gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd.

1127542NL 06/2022 HB-3031-001 © 2022 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

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