

Instrucțiuni de utilizare (manual) a QIAamp[®] DSP Virus Kit



Versiunea 2

IVD

A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro

A se utiliza cu QIAamp[®] DSP Virus Kit

CE

REF

60704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANIA

R1 **MAT**

1127541RO

Cuprins

Domeniul de utilizare	4
Utilizatori potențiali	4
Descrierea și principiul	5
Liza cu QIAGEN Protease (QP)	5
Adsorbția în membrana QIAamp MinElute	5
Eliminarea agenților de contaminare reziduali.....	6
Eluția acizilor nucleici virali.....	6
Randamentul și calitatea acizilor nucleici virali.....	7
Adăugarea substanțelor de control interne	8
Rezumat și explicații	10
Materiale furnizate	11
Conținutul kitului.....	11
Componentele kitului.....	12
Materiale necesare, dar nefurnizate	13
Reactivi suplimentari	13
Consumabile	13
Echipamente	13
Avertismente și precauții	14
Informații de siguranță.....	14
Informații în caz de urgență.....	15
Precauții	16
Eliminare	17

Depozitarea și manipularea reactivilor.....	18
Stabilitatea în utilizare	18
Recoltarea, depozitarea și manipularea speci­menelor	20
Note importante	22
Elemente importante înainte de începere	22
Manipularea coloanelor QIAamp MinElute	23
Prepararea reactivilor și a soluțiilor tampon	23
Configurarea sistemului de vidare QIAvac 24 Plus	28
Protocol: Izolarea și purificarea acizilor nucleici virali din plasmă și ser	30
Controlul calității	34
Limitări	35
Caracteristici de performanță	36
Ghid de depanare.....	37
Simboluri	42
Anexă	45
Informații pentru comandă	46
Istoricul modificărilor documentului	47

Domeniul de utilizare

QIAamp® DSP Virus Kit este destinat izolării și purificării manuale a acizilor nucleici virali din probele de plasmă sau ser uman.

QIAamp DSP Virus Kit utilizează tehnologia membranei de silice (tehnologia QIAamp) pentru izolarea și purificarea acizilor nucleici virali din probele de plasmă sau ser uman.

Produsul este destinat diagnosticării in vitro și utilizării de către utilizatori profesioniști, cum ar fi tehnicieni și medici care sunt instruiți în tehnicile de biologie moleculară.

Utilizatori potențiali

Produsul este destinat utilizării de către utilizatori profesioniști, cum ar fi tehnicieni și medici instruiți în tehnicile de biologie moleculară.

Descrierea și principiul

Procedura QIAamp DSP Virus presupune 4 etape (liză, legare, spălare și eluție) și se realizează utilizând coloane QIAamp MinElute® împreună cu un colector de vidare și o microcentrifugă standard. Procedura este concepută să reducă la minimum potențialul de contaminare încrucișată între probe și să permită manipularea sigură a probelor potențial infecțioase. Procedura QIAamp DSP Virus simplă este adecvată pentru procesarea simultană a mai multor probe. QIAamp DSP Virus Kit poate fi utilizat pentru izolarea ARN ului și a ADN-ului viral dintr-o varietate largă de virusuri ARN și ADN. Cu toate acestea, nu au fost stabilite caracteristicile de performanță pentru fiecare specie de virus, acestea trebuind validate de către utilizator.

Liza cu QIAGEN Protease (QP)

Probele sunt lizate în condiții de denaturare la temperaturi ridicate. Liza este realizată în prezența QIAGEN Protease (QP) și a soluției tampon pentru liză (AL), care asigură împreună neutralizarea RN-azelor.

Adsorbția în membrana QIAamp MinElute

Condițiile de legare sunt ajustate prin adăugarea de etanol, pentru a permite legarea optimă a ARN-ului și a ADN-ului viral de membrană. Ulterior, lizații sunt transferați pe o coloană QIAamp MinElute, iar acizii nucleici virali sunt absorbiți pe membrana de silicagel, în timp ce lizatul este extras prin presiunea vidului. Sarea și pH-ul asigură faptul că proteina și alți contaminanți, care pot inhiba testul PCR și alte reacții enzimatică din aval, nu sunt reținuți pe membrana QIAamp MinElute.

Eliminarea agenților de contaminare reziduali

Acizii nucleici rămân legați de membrană, în timp ce contaminanții sunt îndepărtați eficient în timpul celor 3 etape de spălare.

Eluția acizilor nucleici virali

Într-o singură etapă, ARN-ul viral și ADN-ul viral de înaltă puritate sunt eluați din membrana coloanei QIAamp MinElute în soluția tampon de eluție (AVE), echilibrată la temperatura camerei. Coloanele QIAamp MinElute permit volume de eluție de 20 µl sau de 60 µl. Pentru aplicațiile din aval care necesită volume inițiale mici (de exemplu, unele teste PCR și RT-PCR), utilizarea acizilor nucleici virali eluați în 20 µl de soluție tampon de eluție (AVE) poate crește sensibilitatea testului.

Pentru aplicațiile din aval care necesită un volum inițial mai mare, volumul de eluție poate fi mărit până la 60 µl. Cu toate acestea, o creștere a volumului de eluție va reduce concentrația de acizi nucleici din eluat.

Din cauza soluției tampon de eluție rămase, reținută de membrana coloanei de centrifugare după centrifugare, volumul de eluat recuperat poate fi mai mic decât volumul soluției tampon de eluție aplicat coloanei. În plus, volumul de eluat recuperat depinde de natura probei.

Acizii nucleici virali eluați sunt colectați în eprubete pentru eluție (ET) și pot fi păstrați la 2-8 °C până la 24 de ore. Pentru depozitarea pe perioade mai mari de 24 de ore, se recomandă păstrarea acizilor nucleici purificați la -20 °C.

Notă: Stabilitatea eluatului depinde în mare măsură de diverși factori și este legată de aplicația specifică din aval. Aceasta a fost evaluată pentru QIAamp DSP Virus Kit împreună cu aplicații exemplare din aval. Este responsabilitatea utilizatorului să consulte instrucțiunile de utilizare ale aplicației specifice din aval utilizate în laboratorul său și/sau să valideze întregul flux de lucru pentru a stabili condițiile de depozitare adecvate.

Randamentul și calitatea acizilor nucleici virali

Cantitățile de acid nucleic viral izolat din probe biologice sunt în mod normal sub 1 µg. Pentru determinarea cantităților se recomandă metode de amplificare cantitativă. Atunci când cuantificați acizi nucleici izolați cu ajutorul protocolului QIAamp DSP Virus, rețineți că în probă va exista mult mai mult ARN purtător decât ARN viral.

ARN-ul de transport îndeplinește două roluri: În primul rând, îmbunătățește legarea acizilor nucleici virali de membrana QIAamp, în special dacă în probă există foarte puține molecule țintă. În al doilea rând, adăugarea unor cantități mari de ARN de transport reduce posibilitatea degradării ARN-ului viral în cazurile rare în care moleculele de RN-ază nu sunt denaturate de sărurile caotropice și de detergentul din soluția tampon pentru liză (AL). Dacă ARN-ul de transport nu este adăugat în soluția tampon pentru liză (AL), acest lucru poate duce la o recuperare redusă a ARN-ului sau a ADN-ului viral.

De asemenea, ARN-ul de transport poate fi inclus în unii reactivi ai substanțelor de control interne din testele din aval comerciale. În aceste cazuri, consultați instrucțiunile de utilizare relevante puse la dispoziție de producătorul testului din aval.

Sistemele de amplificare variază ca eficiență, în funcție de cantitatea totală de acizi nucleici prezenți în reacție. Eluatele din acest kit conțin atât acizi nucleici virali, cât și ARN de transport, iar cantitatea de ARN de transport va depăși semnificativ cantitatea de acizi nucleici virali. Prin urmare, calculele privind cantitatea de eluat care trebuie adăugată la amplificările din aval trebuie să țină seama de cantitatea de ARN de transport adăugată. Pentru obținerea celor mai înalte niveluri de sensibilitate în reacțiile de amplificare, poate fi necesară ajustarea cantității de ARN de transport adăugată în soluția tampon pentru liză (AL).

Adăugarea substanțelor de control interne

Utilizarea protocolului QIAamp DSP Virus împreună cu sistemele de amplificare disponibile în comerț poate impune introducerea unei substanțe de control interne în procedura de purificare. ARN-ul sau ADN-ul cu substanță de control internă trebuie adăugat împreună cu ARN-ul de transport în soluția tampon pentru liză (AL). Pentru o eficiență optimă a purificării, moleculele substanței de control interne trebuie să fie mai lungi de 200 de nucleotide, deoarece moleculele mai mici nu sunt recuperate în mod eficient.

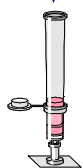
Consultați instrucțiunile producătorului pentru a determina concentrația optimă. Utilizarea unei concentrații diferite de cea recomandată poate reduce eficiența amplificării.

Procedura QIAamp DSP Virus

Probă



Liză



Realizați
legarea

Vidați



Spălați
(AW1)

Îndepărtați
prelungitoarele
înainte de
aplicarea vidului

Vidați



Spălați
(AW2)

Vidați



Spălați
(etanol)

Vidați



Centrifugați în
atmosferă uscată



Eluați



Acizi nucleici virali puri

Citiți cu atenție protocolul (pagina 30) înainte de a începe.

Adăugați 75 μ l QP, 500 μ l probă și 500 μ l AL în LT.

Vortexați 15 secunde.

Incubați timp de 15 minute la 56 °C.

Adăugați 600 μ l etanol.

Vortexați 15 secunde.

Incubați 5 minute la temperatura camerei (15-25 °C).

Transferați lizatul în coloana QIAamp MinElute cu prelungitoarele atașate.

Adăugați 600 μ l de AW1 reconstituită.

Îndepărtați prelungitoarele.

Adăugați 750 μ l de AW2 reconstituită.

Adăugați 750 μ l etanol.

Amplasați coloana QIAamp MinElute în WT.

Centrifugați 1 minut la 14.000 rot/min.

Amplasați coloana QIAamp MinElute în WT.

Incubați timp de 3 minute la 56 °C.

Amplasați coloana QIAamp MinElute în ET.

Adăugați 20 μ l sau 60 μ l de AVE.

Incubați timp de 3 minute la temperatura camerei.

Centrifugați 1 minut la 14.000 rot/min.

Rezumat și explicații

QIAamp DSP Virus Kit utilizează o tehnologie consacrată pentru izolarea și purificarea simultană a ADN-ului și a ARN-ului viral. Procedura QIAamp DSP Virus combină proprietățile de legare selectivă ale unei membrane pe bază de silice cu volume de eluție minime de 20 μ l sau de 60 μ l.


Procedura este adecvată pentru utilizare cu plasma sau cu serul; oricare dintre acestea poate conține citrat sau EDTA. Probele pot fi proaspete, liofilizate sau congelate, cu condiția să fi fost congelate și decongelate o singură dată.

În cazul procedurii de vidare, pentru protocol sunt necesare un colector de vidare (de exemplu, QIAvac 24 Plus cu QIAvac Connecting System) și o pompă de vidare capabilă să producă un vid de ~800-900 mbar (de exemplu, QIAGEN® Vacuum Pump). Pentru o monitorizare ușoară a presiunii vidului și o eliberare rapidă a acestuia, trebuie utilizat un Vacuum Regulator (parte a QIAvac Connecting System).

Procedura poate fi utilizată pentru izolarea ARN-ului și a ADN-ului viral dintr-o varietate largă de virusuri ARN și ADN. Procedura este concepută pentru a evita contaminarea încrucișată între probe și pentru a permite manipularea sigură a probelor potențial infecțioase. Procedura este extrem de adecvată pentru procesarea simultană a mai multor probe. Acizii nucleici virali sunt eluați în soluție tampon de eluție (AVE), pregătiți pentru utilizare în reacții de amplificare sau pentru depozitare la -20 °C în scopul utilizării ulterioare.

Materiale furnizate

Conținutul kitului

QIAamp DSP Virus				60704		
Nr. de catalog				50		
Număr de preparări				50		
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute columns with Wash Tube (Coloane QIAamp MinElute cu eprubete de spălare) (WT) (2 ml)	COL		50		
EXT	Column Extenders (Prelungitoare pentru coloane) (3 ml)	COL	EXT	50		
ET	Elution Tubes (Eprubete pentru eluție) (1,5 ml)	ELU	TUBE	50		
VC	VacConnectors	VAC	CON	50		
LT	Lysis Tubes (Eprubete pentru liză) (2 ml)	LYS	TUBE	50		
WT	Wash Tubes (WT) (Eprubete de spălare) (2 ml)	WASH	TUBE	50		
AL	Lysis Buffer (Soluție tampon pentru liză)*	LYS	BUF	33 ml		
AW1	Wash Buffer 1 (Soluție tampon pentru spălare) (AW1)* (concentrat)	WASH	BUF	1	CON	19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Soluție tampon pentru spălare) (AW2)† (concentrat)	WASH	BUF	2	CON	13 ml
AVE	Elution Buffer (Soluție tampon de eluție)‡ (capace mov)	ELU	BUF	4 × 2 ml		
PS	Protease Solvent (Solvent proteazic)‡	QPROT	SOLV	4,4 ml		
Carrier	Carrier RNA (ARN de transport) (capace roșii)	CAR	RNA	310		
QP	QIAGEN® Protease (QIAGEN® protează)‡	QPROT		1 flacon		
–	Instrucțiuni de utilizare (ghid)			1		

* Conține clorhidrat de guanidină. Nu este compatibil cu dezinfectantele care conțin substanțe de albire. Consultați pagina 14 pentru informații de siguranță.

† Conține azidă de sodiu cu rol de conservant.

‡ Volum în resuspensie 4,4 ml

Componentele kitului

Principalele componente ale kitului care conțin ingrediente active sunt explicate mai jos.

Reactiv	Ingrediente active	Concentrație (w/w) [%]
QIAGEN Protease (QP)	Subtilizină	≥ 90 până la ≤ 100
AL	Clorhidrat de guanidină Acid maleic	≥ 30 până la < 50 ≥ 0,1 până la < 1
AW!	Clorhidrat de guanidină	≥ 50 până la < 70

Materiale necesare, dar nefurnizate

Reactivi suplimentari

- Etanol (96-100%)*

Consumabile

- Pipete† și vârfuri de pipete (pentru a preveni contaminarea încrucișată, recomandăm cu fermitate utilizarea vârfurilor de pipete cu bariere de aerosoli)
- Mănuși de unică folosință

Echipamente

- Bloc termic† pentru lizarea probelor la 56 °C pentru microeprubete de testare de 2,0 ml
- Microcentrifugă†
- Cilindru de măsurare (50 ml)
- Agitator vortex
- Sistem de vidare QIAvac 24 Plus (cat. nr. 19413) sau echivalent†

* Nu utilizați alcool denaturat, care conține alte substanțe, precum metanol sau metililcetonă.

† Înainte de utilizare, asigurați-vă că instrumentele au fost verificate și calibrate în conformitate cu recomandările producătorului.

Avertismente și precauții

Vă rugăm să rețineți că este posibil să aveți obligația de a consulta reglementările locale privind raportarea incidentelor grave survenite în legătură cu dispozitivul către producător și/sau reprezentanța autorizată a acestuia și autoritatea de reglementare în care își are sediul/domiciliul utilizatorul și/sau pacientul.

A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro.

Citiți cu atenție toate instrucțiunile înainte de utilizarea kitului.

Informații de siguranță

Atunci când lucrați cu substanțe chimice, utilizați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvate. Pentru informații suplimentare, vă rugăm să consultați fișele cu date de securitate (FDS) corespunzătoare. Acestea sunt disponibile online într-un format PDF ușor de utilizat și compact, la adresa www.qiagen.com/safety, unde puteți găsi, vizualiza și tipări fișa cu date de securitate a fiecărei truse și componente a trusei QIAGEN.



ATENȚIE: Nu adăugați soluții de albire sau soluții acide în deșeurile rezultate din prepararea probelor.

- Soluția tampon pentru liză (AL) și soluția tampon de spălare 1 (AW1) conțin clorhidrat de guanidină, care, în combinație cu soluțiile de albire, pot forma compuși cu reactivitate ridicată. Dacă lichidul care conține aceste soluții tampon se varsă, curățați cu un detergent adecvat pentru laborator și cu apă. Dacă lichidul vărsat conține agenți potențial infecțioși, curățați mai întâi zona afectată cu detergent pentru laborator și cu apă, iar apoi cu hipoclorit de sodiu 1% vol.

- Dacă flacoanele cu soluție tampon sunt deteriorate sau prezintă scurgeri, purtați mănuși și ochelari de protecție în timpul aruncării flacoanelor, pentru a evita vătămarea corporală proprie sau a altor persoane.
- QIAGEN nu a testat deșeurile lichide generate prin procedura QIAamp DSP Virus pentru materiale reziduale infecțioase. Prin urmare, atunci când se lucrează cu acest produs, trebuie să se ia măsuri de precauție universale (mănuși, halate de laborator și protecție pentru ochi) pentru manipularea materialelor din sursă umană potențial infecțioase, iar deșeurile lichide trebuie considerate infecțioase și trebuie manipulate și aruncate în conformitate cu reglementările locale de siguranță.
- Specimenele și probele sunt potențial infecțioase. Aruncați deșeurile de probe și de test în conformitate cu procedurile locale de siguranță.

Informații în caz de urgență

CHEMTREC

SUA și Canada 1-800-424-9300

În afara SUA și a Canadei +1 703-527-3887

Precauții

Următoarele fraze de pericol și de precauție se aplică pentru componentele QIAamp DSP Virus Kit.

Lysis Buffer (AL)



Conține: clorhidrat de guanidină; acid maleic. Avertisment! Poate fi nociv în caz de înghițire sau inhalare. Provoacă iritarea pielii. Poate provoca o reacție alergică a pielii. Provoacă o iritare gravă a ochilor. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ochelari de protecție/mască de protecție. Sunați la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ sau la un medic, dacă nu vă simțiți bine. În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: Consultați medicul. Scoateți îmbrăcăminte contaminată și spălați-o înainte de reutilizare. Eliminați conținutul/recipientul la o unitate autorizată de eliminare a deșeurilor.

Wash Buffer 1 (AW1)



Conține: clorhidrat de guanidină. Avertisment! Nociv în caz de înghițire sau inhalare. Provoacă iritarea pielii. Provoacă o iritare gravă a ochilor. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ochelari de protecție/mască de protecție. Scoateți îmbrăcăminte contaminată și spălați-o înainte de reutilizare. Eliminați conținutul/recipientul la o unitate autorizată de eliminare a deșeurilor.

QIAGEN Protease (QP)



Conține: subtilizină. Pericol! Nociv în caz de înghițire. Provoacă iritarea pielii. Provoacă leziuni oculare grave. Poate provoca simptome de alergie sau astm sau dificultăți de respirație în caz de inhalare. Poate provoca iritarea căilor respiratorii. Evitați să inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/spray-ul. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ochelari de protecție/mască de protecție. Purtați echipament de protecție respiratorie. ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți. ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: Sunați la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ sau un medic. Scoateți persoana la aer curat și mențineți o poziție confortabilă pentru respirat.

Eliminare

Deșeurile conțin probe și reactivi. Aceste deșeuri pot conține materiale toxice sau infecțioase și trebuie eliminate corespunzător. Consultați reglementările locale de siguranță pentru procedurile de eliminare corespunzătoare.

Pentru informații suplimentare, vă rugăm să consultați fișele cu date de securitate (FDS) corespunzătoare. Acestea sunt disponibile online în format PDF la adresa www.qiagen.com/safety, unde puteți găsi, vizualiza și tipări fișa FDS pentru fiecare kit QIAGEN și pentru componentele kiturilor.

Depozitarea și manipularea reactivilor

Trebuie acordată atenție datelor de expirare și condițiilor de depozitare tipărite pe cutiile și etichetele tuturor componentelor. Nu utilizați componente expirate sau depozitate în mod incorect.

Coloanele QIAamp MinElute trebuie depozitate la 2-8 °C la sosire. Dacă sunt păstrate în condiții corespunzătoare, coloanele QIAamp MinElute sunt stabile până la data de expirare tipărită pe cutia kitului.

Notă: Pentru a evita amestecarea componentelor din diferite kituri, vă rugăm să etichetați coloanele QIAamp MinElute cu numărul de lot al kitului respectiv.

Toate substanțele tampon pot fi depozitate la temperatura camerei (15-25 °C) până la data de expirare tipărită pe cutia kitului.

ARN-ul de transport liofilizat poate fi depozitat la temperatura camerei până la data de expirare tipărită pe cutia kitului.

QIAGEN Protease (QP) liofilizată poate fi depozitată la temperatura camerei până la data de expirare, fără ca performanța să fie afectată.

Stabilitatea în utilizare

ARN-ul de transport poate fi dizolvat doar în soluție tampon de eluție (AVE); ARN-ul de transport dizolvat trebuie adăugat imediat în soluția tampon pentru liză (AL), conform descrierii de la pagina 24. Această soluție trebuie preparată în stare proaspătă și este stabilă la 2-8 °C timp de maximum 48 de ore. Părțile nefolosite de ARN de transport, dizolvate în soluție tampon de eluție (AVE), trebuie congelate în părți alicote la -20 °C.

QIAGEN Protease (QP) reconstituită în solvent proteazic (Protease Solvent, PS) este stabilă pe o perioadă de maximum 1 an, dacă este depozitată la 2-8 °C, dar doar până la data de expirare. Trebuie evitată depozitarea soluției standard de QIAGEN Protease (QP) la temperatura camerei pentru perioade îndelungate de timp.

Soluția tampon de spălare 1 (AW1) reconstituită și soluția tampon de spălare 2 (AW2) reconstituită sunt stabile pe o perioadă de maximum 1 an, dacă sunt depozitate la temperatura camerei, dar doar până la data de expirare tipărită pe cutia kitului.

Recoltarea, depozitarea și manipularea speci­menelor

Notă: Stabilitatea probei depinde în mare măsură de diverși factori și este legată de aplicația specifică din aval. Aceasta a fost evaluată împreună cu aplicații exemplare din aval. Este responsabilitatea utilizatorului să consulte instrucțiunile de utilizare ale aplicației specifice din aval utilizate în laboratorul său și/sau să valideze întregul flux de lucru pentru a stabili condițiile de depozitare adecvate.

Pentru recomandări generale privind recoltarea, transportul și depozitarea, consultați ghidul CLSI MM13-A aprobat „Recoltarea, transportul, pregătirea și depozitarea probelor pentru metodele moleculare”. În plus, în timpul pregătirii, depozitării, transportului și manipulării generale a probelor trebuie respectate instrucțiunile producătorului pentru dispozitivul selectat de recoltare a probelor.


Procedura de purificare este optimizată pentru a fi utilizată cu probele de plasmă și ser uman. Probele de sânge tratate cu EDTA sau cu citrat pe post de anticoagulant pot fi folosite pentru prepararea plasmei. Probele pot fi proaspete sau congelate, cu condiția să nu fi fost congelate și decongelate de mai multe ori. Decongelați probele congelate agităndu-le ușor, pentru a vă asigura că sunt amestecate complet.

După recoltare și centrifugare, plasma sau serul pot fi depozitate la 2-8 °C timp de maximum 6 ore. Pentru depozitarea pe termen lung, se recomandă congelarea între -80 °C și -20 °C în părți alicote. Probele de plasmă sau de ser congelate nu trebuie decongelate de mai multe ori. Ciclurile repetate de congelare-decongelare conduc la denaturarea și precipitarea proteinelor, având ca rezultat titre virale reduse și, prin urmare, randamente reduse ale acizilor nucleici virali. În plus, crioprecipitatele formate în timpul ciclului de congelare-decongelare vor colmata membrana coloanei QIAamp MinElute. În cazul în care crioprecipitatele sunt vizibile, acestea trebuie aglomerate prin centrifugare la aproximativ 6800 x g timp de 3 minute. Lichidul supernatant limpezit trebuie aspirat și procesat imediat, fără tulburarea peletului. Inițiați imediat procedura de purificare. Centrifugarea la forțe g mici nu reduce titrele virale.

Notă: Conform studiilor exemplare de interferență pentru QIAamp DSP Virus Kit și în conformitate cu ISO 20186-2:2019(E), heparina din eprubetele de recoltare a sângelui poate afecta puritatea acizilor nucleici izolați, iar posibilul transfer în eluate poate provoca inhibări în unele aplicații din aval. Prin urmare, se recomandă utilizarea de probe de sânge tratate cu EDTA sau cu citrat ca anticoagulant.

Note importante

Elemente importante înainte de începere

- După primirea kitului, verificați componentele acestuia pentru semne de deteriorare. Dacă ambalajele de tip blister sau flacoanele cu soluție tampon sunt deteriorate, contactați Serviciile Tehnice QIAGEN sau distribuitorul local. În cazul scurgerilor de lichide, consultați „Avertismente și precauții” (pagina 14). Nu utilizați componente deteriorate ale kitului, deoarece utilizarea acestora poate duce la o performanță slabă a kitului.
- Utilizați întotdeauna echipamente fără RN-ază.
- Înlocuiți întotdeauna vârful pipetelor între transferurile de lichide. Pentru a reduce la minimum contaminarea încrucișată, recomandăm utilizarea vârfulor de pipete cu barieră de aerosoli.
- Utilizați întotdeauna mănuși de unică folosință și verificați cu regularitate dacă acestea sunt contaminate cu materialul probei.
- Aruncați mănușile dacă acestea sunt contaminate și cel puțin în toate etapele marcate cu simbolul mănușă. 
- Pentru a reduce la minimum contaminarea încrucișată, deschideți câte o eprubetă pe rând.
- După ce au fost realizate toate etapele de vortexare cu impulsuri, centrifugați pentru scurt timp eprubetele microcentrifugei pentru a elimina picăturile din interiorul capacului.
- Toate etapele de centrifugare sunt realizate la temperatura camerei (15-25 °C).
- Utilizatorul trebuie să se asigure că trasabilitatea probelor este păstrată pe toată durata procedurii.
- Nu utilizați componente de la alte kituri împreună cu kitul utilizat momentan, dacă numerele loturilor nu sunt identice.
- Evitați contaminarea microbiană a reactivilor kitului.

- Pentru a reduce la minimum riscul de infecție cu materiale potențial infecțioase, recomandăm lucrul în condiții de curgere laminară a aerului, până la lizarea probelor.
- Procedura oferă instrucțiuni pentru procesarea unei singure probe de plasmă sau de ser. Cu toate acestea, pe sistemul de vidare QIAvac 24 Plus pot fi procesate simultan până la 24 de probe.
- Acest kit trebuie utilizat doar de personalul instruit în practica de laborator pentru diagnosticare in vitro.

Manipularea coloanelor QIAamp MinElute

Din cauza sensibilității tehnologiilor de amplificare a acizilor nucleici, sunt necesare următoarele precauții la manipularea coloanelor QIAamp MinElute, pentru a evita contaminarea încrucișată între preparatele de probe:

- Aplicați cu grijă proba sau soluția pe coloana QIAamp MinElute. Pipetați proba în coloana QIAamp MinElute, fără a umezi marginea coloanei.
- Înlocuiți întotdeauna vârful pipetelor între toate transferurile de lichide. Recomandăm utilizarea vârfulor de pipete cu barieră de aerosoli.
- Evitați atingerea membranei QIAamp MinElute cu vârful pipetei.
- Deschideți doar câte o singură coloană QIAamp MinElute pe rând și aveți grijă să evitați generarea de aerosoli.

Prepararea reactivilor și a soluțiilor tampon

Prepararea ARN-ului

Pe durata preparării ARN-ului viral, lucrați rapid în timpul etapelor manuale ale procedurii și citiți Anexă de la pagina 45 înainte de a începe.

Prepararea QIAGEN Protease (QP)

Adăugați întregul conținut al flaconului care conține 4,4 ml de solvent proteazic (PS) în flaconul cu QIAGEN Protease (QP) liofilizată și amestecați cu atenție. Pentru a evita formarea de spumă, amestecați prin răsturnarea flaconului de mai multe ori. Asigurați-vă că QIAGEN Protease (QP) s-a dizolvat complet.



Nu adăugați QIAGEN Protease (QP) direct în soluția tampon pentru liză (AL)*.

Adăugarea ARN-ului de transport și a substanței de control interne în (AL)*

Utilizarea unei substanțe de control interne este recomandată cu fermitate în timpul utilizării QIAamp DSP Virus Kit în asociere cu sisteme de amplificare pentru diagnosticare. Consultați instrucțiunile producătorului pentru informații suplimentare. Substanța de control internă și ARN-ul de transport reconstituit trebuie adăugate în soluția tampon pentru liză (AL) și amestecate cu grijă, prin răsturnarea eprubetei de 10 ori. Pentru a evita formarea de spumă, nu vortexați. Dacă se folosește substanță de control internă, reduceți corespunzător volumul substanței tampon pentru liză (AL) (consultați Tabelul 1 pentru detalii suplimentare).

Pentru a determina concentrația optimă de substanță de control internă, consultați instrucțiunile producătorului. Utilizarea unei concentrații diferite de cea recomandată poate duce la rezultate incorecte. Atunci când se calculează cantitatea corectă de substanță de control internă care trebuie utilizată, luați în considerare volumul inițial al probei și volumul de eluție. Rețineți: QIAamp DSP Virus Kit utilizează un volum inițial al probei de 500 μl.

* Conține săruri chaotropice. Luați măsuri corespunzătoare de siguranță în laborator și purtați mănuși în timpul manipulării. Nu este compatibil cu dezinfectantele care conțin substanțe de albire. Consultați pagina 14 pentru informații de siguranță.

Pentru a prepara soluția de ARN de transport, adăugați 310 µl de soluție tampon de eluție (AVE) în eprubeta care conține 310 µg de ARN de transport liofilizat, pentru a obține o soluție de 1 µg/µl. Dizolvați bine ARN-ul de transport, împărțiți-l în părți alicote dimensionate în mod convenabil și depozitați la -20 °C. Nu congelați–decongelați părțile alicote de ARN de transport mai mult de 3 ori.



ARN-ul de transport nu se dizolvă în soluția tampon pentru liză (AL). Acesta trebuie dizolvat mai întâi în soluție tampon de eluție (AVE), apoi adăugat în soluția tampon pentru liză (AL). Asigurați-vă că ARN-ul de transport este complet dizolvat în volumul corect de soluție tampon de eluție (AVE) înainte de amestecarea acestuia cu soluție tampon pentru liză (AL).

Calculați volumul amestecului de soluție tampon pentru liză (AL)/ARN de transport, necesar pentru fiecare lot de probe, prin selectarea numărului de probe care trebuie procesate simultan din Tabelul 1. Volumele sunt calculate utilizând următorul calcul al probei:

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

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

unde: **n** = numărul de probe care trebuie procesate simultan

y = volumul calculat al soluției tampon pentru liză (AL)

z = volumul ARN-ului de transport/soluției tampon de eluție (AVE) care trebuie adăugat în soluția tampon pentru liză (AL)

Amestecați cu grijă prin răsturnarea de 10 ori a eprubetei. Pentru a evita formarea de spumă, nu vortexați.

Tabel 1. Volumele de soluție tampon pentru liză (AL) și de ARN de transport/soluție tampon de eluție (AVE) necesare pentru procedura QIAamp DSP Virus*

Nr. de probe	Vol. AL* (ml)	Vol. ARN de transport/AVE (μl)	Nr. de probe	Vol. AL* (ml)	Vol. ARN de transport/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



Procedura de pregătire a probei este optimizată pentru 5,6 μg de ARN de transport pe probă. Dacă s-a demonstrat că pentru sistemul de amplificare pe care îl utilizați este mai adecvată o cantitate mai mică de ARN de transport, transferați doar cantitatea necesară de ARN de transport dizolvat în eprubetele care conțin soluție tampon pentru liză (AL). Pentru fiecare microgram de ARN de transport necesar pentru fiecare preparat, se adaugă 5 μl de ARN de transport dizolvat în Buffer AVE la fiecare mililitru de soluție tampon pentru liză (AL). Utilizarea unei cantități mai mici de 5,6 μg de ARN de transport per probă trebuie să fie validată pentru fiecare probă individuală și test din aval.

* În cazul în care se utilizează o substanță de control internă, reduceți corespunzător volumul substanței tampon pentru liză (AL).

Prepararea soluției tampon de spălare 1 (AW1)*

Utilizând un cilindru de măsurare, adăugați 25 ml de etanol (96-100%) în flaconul care conține 19 ml de soluție tampon de spălare 1 (AW1) concentrat. Bifați caseta de selectare de pe etichetă pentru a indica faptul că a fost adăugat etanol. Depozitați soluția tampon de spălare 1 (AW1) reconstituită la temperatura camerei (15-25 °C).



Amestecați întotdeauna soluția tampon de spălare 1 (AW1) reconstituită prin răsturnarea flaconului de mai multe ori înainte de a începe procedura.

Prepararea soluției tampon de spălare 2 (AW2)†

Utilizând un cilindru de măsurare, adăugați 30 ml de etanol (96-100%) în flaconul care conține 13 ml de soluție tampon de spălare 2 (AW2) concentrat. Bifați caseta de selectare de pe etichetă pentru a indica faptul că a fost adăugat etanol. Depozitați soluția tampon de spălare 2 (AW2) reconstituită la temperatura camerei (15-25 °C).



Amestecați întotdeauna soluția tampon de spălare 2 (AW2) reconstituită prin răsturnarea flaconului de mai multe ori înainte de a începe procedura.

Prepararea soluției tampon de eluție (AVE)

Împreună cu kitul sunt furnizate patru eprubete de soluție tampon de eluție (AVE). Aveți grijă să nu contaminați soluția tampon cu RN-aze. Dacă efectuați maximum 4 proceduri de purificare utilizând un singur kit, recomandăm aruncarea eprubetei de soluție tampon de eluție (AVE) la finalul fiecărei proceduri.

* Conține săruri chaotropice. Luați măsuri corespunzătoare de siguranță în laborator și purtați mănuși în timpul manipulării. Nu este compatibil cu dezinfectantele care conțin substanțe de albire. Consultați pagina 14 pentru informații de siguranță.

† Conține azidă de sodiu cu rol de conservant

Configurarea sistemului de vidare QIAvac 24 Plus

Asigurați-vă că ați configurat corect prelungitorul pentru coloane (EXT), coloana QIAamp MinElute, conectorul VacConnector (VC) și supapa VacValve (consultați Figura 1).

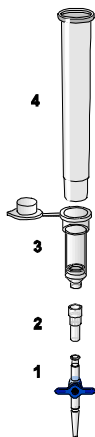


Figura 1. Asamblarea componentelor QIAamp DSP Virus Kit pentru procesarea în vid a probelor:

1. Supapă VacValve (furnizată împreună cu sistemul de vidare)
2. Conector VacConnector (VC)
3. Coloană QIAamp MinElute
4. Prolungitor pentru coloane (EXT)

Recomandăm etichetarea eprubetelor pentru liză (LT), a eprubetelor pentru eluție (ET) și a coloanelor QIAamp MinElute pentru utilizare pe sistemul de vidare QIAvac 24 Plus în conformitate cu schema din Figura 2, pentru a se evita încurcarea probelor. Această imagine poate fi fotocopiată și etichetată cu numele probelor.

Data: _____

Operator: _____

ID execuție: _____

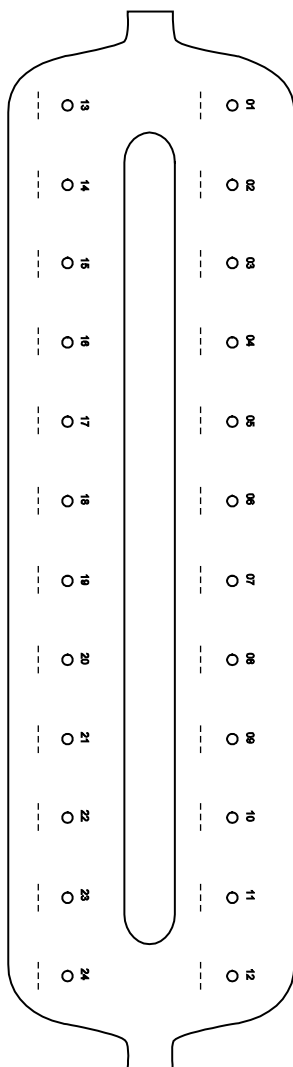


Figura 2. Schemă de etichetare pentru eprubetele pentru liză (LT), eprubetele pentru eluție (ET) și coloanele QIAamp MinElute pentru utilizare pe sistemul de vidare QIAvac 24 Plus.

Protocol: Izolarea și purificarea acizilor nucleici virali din plasmă și ser

Pentru izolarea și purificarea acizilor nucleici virali din 500 µl de plasmă și ser tratate cu EDTA sau cu citrat.

Operațiuni care trebuie executate înainte de începere

- Acclimatizați probele la temperatura camerei (15-25 °C), și asigurați-vă că acestea sunt bine amestecate.
- Asigurați-vă că toți reactivii și toate coloanele QIAamp MinElute (în blistere închise) sunt echilibrate la temperatura camerei.
- Setați un bloc termic la 56 °C pentru utilizare în etapele 4 și 17.
- Asigurați-vă că soluția tampon de spălare 1 (AW1), soluția tampon de spălare 2 (AW2) și QIAGEN Protease (QP) au fost preparate în conformitate cu instrucțiunile din „Elemente importante înainte de începere” de la pagina 22.
- Dacă s-a format un precipitat în soluția tampon pentru liză (AL), dizolvați-l prin incubare la 56 °C.
- Adăugați ARN de transport reconstituit în soluție tampon de eluție (AVE) sau substanță de control internă în soluție tampon pentru liză (AL), în conformitate cu instrucțiunile de la pagina 24.
- Dacă este posibil, utilizați soluție tampon de eluție (AVE) proaspătă pentru fiecare procedură (sunt furnizate 4 eprubete).
- Pentru a reduce la minimum contaminarea încrucișată, introduceți un conector VacConnector (VC) în fiecare adaptor Luer al sistemului de vidare.
- Procedurile de control al calității din cadrul QIAGEN utilizează testarea la eliberare a kiturilor funcționale pentru fiecare lot de kituri în parte. Prin urmare, nu amestecați reactivi din loturi de kituri diferite și nu combinați reactivi individuali din loturi diferite de reactivi.

- Asigurați-vă că flaconul de deșeuri al sistemului de vidare este gol și că toate cuplajele sunt conectate corect.
- Pentru detalii cu privire la funcționarea sistemului de vidare, în special cu privire la întreținere, consultați manualul furnizat împreună cu acesta.

Procedură

1. Pipetați 75 µl de QIAGEN Protease (QP) într-o eprubetă pentru liză (LT).



Verificați data de expirare a proteazei reconstituite înainte de utilizare.

2. Adăugați 500 µl de plasmă sau de ser în eprubeta pentru liză (LT).
3. Adăugați 500 µl de soluție tampon pentru liză (AL) (care conține 11,2 µg/ml de ARN de transport) în eprubeta pentru liză (LT), închideți capacul și amestecați prin vortexare cu impulsuri timp de 15 secunde.

Pentru a asigura o liză eficientă, este esențial ca proba și soluția tampon pentru liză (AL) să fie amestecate bine pentru a se obține o soluție omogenă.



Soluția tampon pentru liză (AL) conține substanță de control internă. Deoarece soluția tampon pentru liză (AL) are o viscozitate ridicată, asigurați-vă că adăugați volumul corect de soluție tampon pentru liză (AL) prin pipetare atentă.



Nu adăugați QIAGEN Protease (QP) direct în soluția tampon pentru liză (AL).

4. Incubați la 56 °C timp de 15 minute.
5. Centrifugați eprubeta pentru liză (LT) timp de ≥ 5 secunde la viteză maximă pentru a elimina picăturile din interiorul capacului.



6. Schimbați mănușile și deschideți cu atenție eprubeta pentru liză (LT).
7. Adăugați 600 µl de etanol (96-100%) în eprubeta pentru liză (LT), închideți capacul și amestecați bine prin vortexare cu impulsuri timp de ≥ 15 secunde. Incubați timp de 5 minute la temperatura camerei (15-25 °C).

- Centrifugați eprubeta pentru liză (LT) timp de ≥ 5 secunde la viteză maximă pentru a elimina picăturile din interiorul capacului.
- Introduceți coloana QIAamp MinElute în conectorul VacConnector (VC) în sistemul de vidare (consultați Figura 1, pagina 28). Introduceți un prelungitor pentru coloane (EXT) în coloana QIAamp MinElute deschisă.



Păstrați eprubeta de spălare (WT) pentru centrifugarea în atmosferă uscată din etapa 16.



- Schimbați mănușile și deschideți câte o eprubetă pe rând.
- Aplicați cu atenție întregul lizat din etapa 7 în prelungitorul pentru coloane (EXT) al coloanei QIAamp MinElute, fără a umezi marginea.
- Porniți pompa de vidare. După ce lizatul a fost extras prin coloana QIAamp MinElute, deschideți supapa sistemului de vidare și eliberați presiunea vidului.

Dacă procesați mai multe coloane QIAamp MinElute simultan, recomandăm închiderea supapei VacValve a fiecărei coloane, după ce lizatul a trecut, pentru a reduce durata acestei etape de vidare.



Dacă lizatul nu a trecut complet prin membrană după 15 minute, aruncați coloana QIAamp MinElute și repetați procedura cu o probă nouă.



Supapa sistemului de vidare trebuie utilizată pentru eliberarea rapidă a presiunii vidului.

- Aplicați 600 μ l de soluție tampon de spălare 1 (AW1) în coloana QIAamp MinElute. Îndepărtați cu atenție și aruncați prelungitorul pentru coloane (EXT) și închideți supapa sistemului de vidare. După ce soluția tampon de spălare 1 (AW1) a fost extrasă prin coloana QIAamp MinElute, deschideți supapa și eliberați presiunea vidului.



Pentru a evita contaminarea încrucișată, asigurați-vă că prelungitoarele pentru coloane (EXT) îndepărtate nu trec pe deasupra coloanelor QIAamp MinElute învecinate.

14. Aplicați 750 µl de soluție tampon de spălare 2 (AW2) în coloana QIAamp MinElute, fără a umezi marginea. Lăsați deschis capacul coloanei și închideți supapa sistemului de vidare. După ce soluția tampon de spălare 2 (AW2) a fost extrasă prin coloana QIAamp MinElute, deschideți supapa și eliberați presiunea vidului.
15. Aplicați 750 µl de etanol (96-100%) în coloana QIAamp MinElute, fără a umezi marginea. Lăsați deschis capacul coloanei și închideți supapa sistemului de vidare. După ce etanolul a fost extras prin coloana QIAamp MinElute, deschideți supapa și eliberați presiunea vidului.



Utilizați vârfuri de pipete cu barieră de aerosoli pentru a aplica etanol în coloana QIAamp MinElute.

16. Închideți capacul coloanei QIAamp MinElute, îndepărtați-l din sistemul de vidare și aruncați conectorul VacConnector (VC). Introduceți coloana QIAamp MinElute în eprubeta de spălare (WT) păstrată din etapa 9 și centrifugați la viteză maximă (aproximativ 20.000 x g sau 14.000 rot/min) timp de 1 minut pentru uscarea completă a membranei. Aruncați eprubeta de spălare (WT) care conține filtratul.



Omiterea etapei de centrifugare în atmosferă uscată poate duce la inhibarea testului din aval.

17. Amplasați coloana QIAamp MinElute într-o eprubetă de spălare (WT) nouă și incubați cu capacul deschis la 56 °C timp de 3 minute pentru evaporarea posibilelor resturi de lichid.
18. Amplasați coloana QIAamp MinElute într-o eprubetă pentru eluție (ET) nouă și aruncați eprubeta de spălare (WT). Deschideți cu atenție capacul coloanei QIAamp MinElute și aplicați 20 µl sau 60 µl de soluție tampon de eluție (AVE) (în funcție de testul din aval) în centrul membranei.



Este important să utilizați o eprubetă pentru eluție nouă, pentru a evita contaminarea cu soluții tampon de spălare reziduale care ar putea duce la inhibarea testului din aval.



Dozarea soluției tampon de eluție în centrul membranei este importantă mai ales în cazul volumelor de eluție mai mici, pentru a asigura recuperarea optimă a acizilor nucleici și a soluției tampon de eluție.



Volumul de eluție poate fi adaptat în funcție de cerințele aplicației din aval. Rețineți că volumul de eluat recuperat poate fi mai mic decât volumul de soluție tampon de eluție aplicat în coloană din cauza soluției tampon de eluție rămase, reținută de membrana coloanei de centrifugare după centrifugare.



Asigurați-vă că soluția tampon de eluție este echilibrată la temperatura camerei.

19. Închideți capacul și incubați la temperatura camerei (15-25 °C) timp de ≥ 3 minute. Centrifugați la viteză maximă (aproximativ 20.000 x g sau 14.000 rot/min) timp de 1 minut pentru eluarea acizilor nucleici virali.



Orientați capacele eprubetelor pentru eluție în direcția opusă rotației rotorului (de exemplu, dacă rotorul se rotește în sensul acelor de ceasornic, orientați capacele în sens invers acelor de ceasornic).



Urmați procedura de întreținere pentru sistemul de vidare, după realizarea acestui protocol (pentru mai multe detalii, consultați manualul furnizat împreună cu sistemul de vidare).

Controlul calității

În conformitate cu sistemul total de management al calității certificat al QIAGEN, fiecare lot de QIAamp DSP Virus Kit este testat pentru specificațiile prestabilite, pentru a asigura calitatea constantă a produsului.

Limitări

Performanța sistemului a fost stabilită prin studii de evaluare a performanței de purificare a acizilor nucleici virali din probele de plasmă și ser uman.

Verificarea performanței sistemului pentru orice proceduri utilizate în laborator care nu fac obiectul studiilor de evaluare a performanței efectuate de QIAGEN constituie răspunderea utilizatorului.

Pentru a reduce la minimum riscul de impact negativ asupra rezultatelor de diagnostic, trebuie utilizate substanțe de control adecvate pentru aplicațiile din aval. Orice rezultate de diagnostic care sunt generate trebuie interpretate în coroborare cu alte rezultate clinice sau de laborator.

Caracteristici de performanță

Caracteristicile de performanță aplicabile pot fi găsite în fila „Resources” (Resurse) pe pagina produsului, la adresa www.qiagen.com.

Ghid de depanare

Acest ghid de depanare poate fi util în rezolvarea oricăror probleme care pot apărea. Pentru informații suplimentare, a se vedea și pagina „Întrebări frecvente” din cadrul Centrului nostru pentru Asistență Tehnică: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Cercetătorii din cadrul Serviciilor tehnice QIAGEN vă stau întotdeauna la dispoziție pentru a răspunde la orice întrebări pe care le aveți despre informațiile și/sau protocoalele din acest manual sau probă, precum și despre tehnologiile de prelevare și testare (pentru datele de contact, vizitați www.qiagen.com).

Comentarii și sugestii

Manipularea generală

- a) Înfundarea vârfurilor de pipetă în timpul transferului de probe
- Probele congelate nu au fost amestecate corect după decongelare. Decongeleți probele congelate agitându-le ușor, pentru a vă asigura că sunt amestecate complet. Crioprecipitatele formate în timpul ciclului de congelare–decongelare vor înfunda membrana QIAamp MinElute. În cazul în care în probă sunt vizibile crioprecipitate, aceasta se curăță prin centrifugare timp de 5 minute la 16.000 x g.
- b) Coloană QIAamp MinElute înfundată
- Dacă se reduce debitul, timpul de vidare poate fi prelungit.
- Alternativ, închideți supapa VacValve, dacă este utilizată, și scoateți cu grijă ansamblul prelungitor coloană–conector VacConnector–supapă VacValve din coloana QIAamp MinElute, fără a pierde lizat din prelungitorul pentru coloană.
- Scoateți coloana QIAamp MinElute din colectorul de vidare, introduceți-o într-o eprubetă de spălare (Wash Tube, WT) de 2 ml și centrifugați-o la viteză maximă până când proba trece complet prin membrană. Înlocuiți ansamblul prelungitor coloană–conector VacConnector–supapă VacValve care conține lizatul rămas. Porniți pompa de vidare, deschideți supapa VacValve și continuați să încărcați lizatul rămas.
- Repetati procedura de mai sus în cazul în care coloana QIAamp MinElute continuă să se înfunde.
- Crioprecipitatele formate în timpul ciclului de congelare–decongelare vor înfunda membrana coloanei QIAamp MinElute. În cazul în care în probă sunt vizibile crioprecipitate, aceasta se curăță prin centrifugare timp de 5 minute la 16.000 x g.

Comentarii și sugestii

Utilizarea de etanol răcit pe gheață în timpul lizei poate contribui la reducerea riscului de înfundare a membranei. În plus, este esențial să se adauge soluții tampon pentru liză în ordinea corectă descrisă mai sus. Nu adăugați QIAGEN Protease (QP) direct în soluția tampon pentru liză (AL).

- c) S-a format precipitat în soluția tampon pentru liză
- Dizolvați prin incubare în soluție tampon pentru liză (AL) la 56 °C.
- d) Volume de eluție variabile
- Volumul de eluat recuperat depinde de natura probei.
- Din cauza soluției tampon de eluție rămase, reținută de membrana coloanei de centrifugare după centrifugare, volumul de eluat recuperat poate fi mai mic decât volumul soluției tampon de eluție aplicat coloanei.
- Aplicați soluția tampon de eluție în centrul membranei. Dozarea soluției tampon de eluție în centrul membranei este importantă mai ales în cazul volumelor de eluție mai mici, pentru a asigura recuperarea optimă a acizilor nucleici și a soluției tampon de eluție.
- e) Nu se atinge o presiune a vidului între ~800 și ~900 mbar
- Colectorul de vidare nu este închis ermetic. Apăsați pe capacul colectorului de vidare după pornirea vidului. Verificați dacă este atinsă presiunea vidului. Garnitura capacului QIAvac s-a uzat. Verificați vizual garnitura de etanșare a colectorului și înlocuiți-o dacă este necesar.
- VacValves s-au uzat. Scoateți toate VacValves și introduceți VacConnectors direct în prelungitoarele Luer. Introduceți coloanele QIAamp MinElute în conectorii VacConnectors, închideți capacul coloanelor și porniți vidul. Verificați dacă este atinsă presiunea vidului. Înlocuiți VacValves, dacă este necesar.
- Racordul la pompa de vidare prezintă scurgeri. Închideți toate prelungitoarele Luer cu capace Luer și porniți pompa de vidare. Verificați dacă presiunea vidului este stabilă după pornirea pompei (și închiderea supapei Vacuum Regulator). Schimbați racordurile dintre pompă și colectorul de vidare, dacă este necesar.
- În cazul în care presiunea vidului nu este încă atinsă, înlocuiți pompa de vidare cu una mai puternică.

Comentarii și sugestii

ADN-ul nu se comportă bine în reacțiile din aval

- a) Liză incompletă a probelor
- Dacă QIAGEN Protease (QP) a fost supusă la temperaturi ridicate pentru o perioadă lungă de timp, își poate pierde din activitate. Repetați procedura folosind probe noi și QIAGEN Protease (QP) proaspătă.
- Asigurați-vă că dizolvați QIAGEN Protease (QP) cu solvent proteazic, în conformitate cu instrucțiunile de mai sus. Pentru a evita formarea de spumă, amestecați prin răsturnarea flaconului de mai multe ori. Asigurați-vă că QIAGEN Protease (QP) s-a dizolvat complet. Nu adăugați QIAGEN Protease (QP) direct în soluția tampon pentru liză (AL).
- Pentru a asigura o liză eficientă, este esențial ca proba și soluția tampon pentru liză (AL) să fie amestecate bine pentru a se obține o soluție omogenă. Deoarece soluția tampon pentru liză (AL) are o vâscozitate ridicată, asigurați-vă că adăugați volumul corect de soluție tampon pentru liză (AL) prin pipetarea atentă și prin utilizarea unei pipete adecvate.
- b) Utilizarea unui procentaj scăzut de etanol în loc de 96-100%
- Repetăți procedura de purificare cu probe noi și etanol 96-100%. Nu utilizați alcool denaturat, care conține alte substanțe, precum metanol sau metiletilcetonă.
- c) Soluție tampon de spălare 1 (AW1) sau soluție tampon de spălare 2 (AW2) preparată incorect
- Asigurați-vă că soluția tampon de spălare 1 (AW1) concentrată și soluția tampon de spălare 2 (AW2) concentrată au fost diluate cu volumul corect de etanol 96-100% și au fost amestecate prin răsturnarea flaconului de mai multe ori, înainte de a începe procedura.

Comentarii și sugestii

- d) Probele de plasmă și ser nu au fost preparate, depozitate sau amestecate corect
- Procedura de purificare este optimizată pentru a fi utilizată cu probele de plasmă și ser uman. Probele de sânge tratate cu EDTA sau cu citrat pe post de anticoagulant pot fi folosite pentru prepararea plasmei. După recoltare și centrifugare, plasma sau serul pot fi depozitate la 2-8 °C timp de maximum 6 ore. Pentru depozitarea pe termen lung, se recomandă congelarea între -80 °C și -20 °C în părți alicote.
- Probele de plasmă sau de ser congelate nu trebuie decongelate de mai multe ori. Ciclurile repetate de congelare-decongelare conduc la denaturarea și precipitarea proteinelor, având ca rezultat titre virale reduse și, prin urmare, randamente reduse ale acizilor nucleici virali.
- Decongețați probele congelate agitându-le ușor, pentru a vă asigura că sunt amestecate complet.
- e) ADN-ul lipsește din eluție sau este prezent într-o cantitate prea mică
- Reduceți volumul de eluție sau măriți cantitatea de eluat adăugată în reacție, dacă este posibil.
- f) Volum de eluție necorespunzător utilizat
- Determinați volumul maxim de eluat, adecvat pentru aplicația dumneavoastră din aval. Reduceți sau măriți corespunzător volumul de eluat adăugat în aplicația din aval. Volumul de eluție poate fi adaptat în mod proporțional. Eluția cu volume mai mici de Buffer AVE conduce la concentrații mai mari de acid nucleic.
- g) Transferul unui potențial inhibitor
- Asigurați-vă că efectuați etapa de centrifugare uscată înainte de eluție, pentru a preveni potențiala inhibare a testului din aval.
- Este important să utilizați o eprubetă pentru eluție nouă, pentru a evita contaminarea cu soluții tampon de spălare reziduale care ar putea duce la inhibarea testului din aval.
- Conform studiilor exemplare de interferență pentru QIAamp DSP Virus Kit și în conformitate cu ISO 20186-2:2019(E), heparina din eprubetele de recoltare a sângelui poate afecta puritatea acizilor nucleici izolați, iar posibilul transfer în eluate poate provoca inhibări în unele aplicații din aval. Prin urmare, se recomandă utilizarea de probe de sânge tratate cu EDTA sau cu citrat ca anticoagulant.

Comentarii și sugestii

h) ARN de transport degradat/preparat incorect

ARN-ul de transport îndeplinește două roluri: În primul rând, îmbunătățește legarea acizilor nucleici virali de membrana QIAamp, în special dacă în probă există foarte puține molecule țintă. În al doilea rând, adăugarea unor cantități mari de ARN de transport reduce posibilitatea degradării ARN-ului viral în cazurile rare în care moleculele de RN-ază nu sunt denaturate de sărurile caotropice și de detergentul din soluția tampon pentru liză (AL).














Dacă ARN-ul de transport nu este adăugat în soluția tampon pentru liză (AL), acest lucru poate duce la o recuperare redusă a ARN-ului sau a ADN-ului viral.












ARN-ul de transport poate fi dizolvat doar în Buffer AVE; ARN-ul de transport dizolvat trebuie adăugat imediat în soluția tampon pentru liză (AL).

De asemenea, ARN-ul de transport poate fi inclus în unii reactivi ai substanțelor de control interne din testele din aval comerciale. În aceste cazuri, consultați instrucțiunile de utilizare relevante puse la dispoziție de producătorul testului din aval.

Simboluri

În instrucțiunile de utilizare sau pe ambalaj și pe etichete pot apărea următoarele simboluri:

Simbol	Definiția simbolului
 <N>	Conține reactivi suficienți pentru <N> reacții
	Data de expirare
	Acest produs îndeplinește cerințele Regulamentului (UE) 2017/746 privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro.
	Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro
	Număr catalog
	Număr de lot
	Număr de material (adică eticheta componentei)
	Componente
	Volum
	Conține
	Număr
	Număr de comercializare global articol
Rn	R reprezintă revizuirea Instrucțiunilor de utilizare, iar n este numărul revizuirii
	Limitări de temperatură

Simbol	Definiția simbolului
	Producător
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	A se păstra ferit de razele soarelui
	Avertisment/atenție
	La sosire
	Notă importantă
	Schimbați mănușile după etapa protocolului marcată cu acest simbol
	Deschideți la livrare; depozitați coloanele QIAamp MinElute la 2-8 °C
	Notați data curentă după adăugarea etanolului în flacon
	Adăugare
	Liofilizat

Simbol**Definiția simbolului**

RCNS

A se reconstitui în

EtOH

Etanol

GuHCl

Clorhidrat de guanidină

MALEIC ACID

Acid maleic

SUBT

Subtilizină



Duce la

UDI

Identificator unic dispozitiv

Anexă

Manipularea ARN-ului

Ribonucleazele (RN-aze) sunt enzime foarte stabile și active care, în general, nu au nevoie de cofactori pentru a funcționa. Deoarece RN-azele sunt dificil de inactivat, iar pentru distrugerea ARN-ului sunt suficiente cantități infime, nu utilizați nici un material din plastic sau sticlă fără a elimina mai întâi o posibilă contaminare cu RN-aze. Trebuie să acționați cu grijă pentru a evita introducerea din greșeală a RN-azelor în proba de ARN în timpul sau după procedura de izolare. Pentru a crea și a menține un mediu lipsit de RN-aze, trebuie luate următoarele măsuri de precauție în timpul pretratării și al utilizării recipientelor și soluțiilor (de unică folosință sau nu) atunci când se lucrează cu ARN.

Manipularea generală

Atunci când se lucrează cu ARN, trebuie să se utilizeze întotdeauna o tehnică microbiologică aseptică adecvată. Măinile și particulele de praf pot fi purtătoare de bacterii și mucegaiuri și sunt cele mai frecvente surse de contaminare cu RN-aze. Purtați întotdeauna mănuși de latex sau de vinil în timpul manipulării reactivilor și a probelor de ARN pentru a preveni contaminarea cu RN-aze de la suprafața pielii sau de la echipamentul de laborator prăfuit. Schimbați frecvent mănușile și țineți eprubetele închise.

Informații pentru comandă

Produs	Cuprins	Nr. cat.
QIAamp DSP Virus Kit (50)	Pentru 50 de preparări: Coloane QIAamp MinElute, soluții tampon, reactivi, eprubete, prelungitoare pentru coloane, VacConnectors	60704
Accesorii		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold	Colector de vidare pentru procesarea a 1-24 coloane de centrifugare: QIAvac 24 Plus Vacuum Manifold, dopuri Luer, cuplaje rapide	19413
Vacuum Pump	Pompă de vidare universală	84020
VacConnectors	500 de conectori de unică folosință pentru utilizare cu coloane de centrifugare QIAamp pe conectori Luer	19407
VacValves	24 de supape pentru utilizare cu QIAvac 24 și QIAvac 24 Plus	19408
Vacuum Regulator	Vacuum Regulator	19530
QIAvac Connecting System	Sistem de conectare a colectorului de vidare la Vacuum Pump: include tavă, flacoane de deșeuri, tubulatură, cuplaje, supapă, manometru și 24 de VacValves.	19419

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați instrucțiunile de utilizare ale kitului QIAGEN respectiv. Instrucțiunile de utilizare pentru kiturile QIAGEN sunt disponibile pe www.qiagen.com sau pot fi solicitate de la Serviciile tehnice QIAGEN sau de la distribuitorul dumneavoastră local.

Istoricul modificărilor documentului

Ediție	Descriere
R1, iunie 2022	<p data-bbox="348 360 564 384">Versiunea 2, ediția 1</p> <ul data-bbox="348 411 1028 1201" style="list-style-type: none"><li data-bbox="348 411 978 517">● S-a actualizat la versiunea 2 a kitului pentru îndeplinirea cerințelor Regulamentului privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro<li data-bbox="348 533 1028 557">● S-au actualizat secțiunile „Domeniul de utilizare” și „Limitări”<li data-bbox="348 572 904 596">● S-a actualizat secțiunea „Descrierea și principiul”<li data-bbox="348 612 1028 676">● S-au actualizat secțiunile „Materiale furnizate” (s-au adăugat ingrediente active) și „Materiale necesare, dar nefurnizate”<li data-bbox="348 692 986 798">● S-a actualizat secțiunea „Avertismente și precauții” (s-au adăugat secțiunile „Informații în caz de urgență” și „Eliminare”)<li data-bbox="348 813 949 877">● S-a actualizat secțiunea „Depozitarea și manipularea reactivilor”<li data-bbox="348 893 934 957">● S-a actualizat secțiunea „Recoltarea, depozitarea și manipularea specimenelor”<li data-bbox="348 973 1001 997">● S-au actualizat secțiunile „Note importante” și „Procedură”<li data-bbox="348 1013 969 1037">● S-a actualizat secțiunea „Caracteristici de performanță”<li data-bbox="348 1053 714 1077">● S-a adăugat secțiunea „Anexă”<li data-bbox="348 1093 841 1117">● S-a adăugat secțiunea „Ghid de depanare”<li data-bbox="348 1133 762 1157">● S-a actualizat secțiunea „Simboluri”<li data-bbox="348 1173 927 1197">● S-a adăugat secțiunea „Informații pentru comandă”

Această pagină a fost lăsată necompletată în mod intenționat

Această pagină a fost lăsată necompletată în mod intenționat

Această pagină a fost lăsată necompletată în mod intenționat

Acord de licență limitată pentru QIAamp® DSP Virus Kit

Utilizarea acestui produs înseamnă acceptarea următorilor termeni de către orice cumpărător sau utilizator al produsului:

1. Produsul poate fi utilizat doar în conformitate cu protocoalele furnizate împreună cu produsul și aceste Instrucțiuni de utilizare și doar împreună cu componentele incluse în panou. QIAGEN nu acordă nicio licență pentru niciuna dintre proprietățile sale intelectuale în vederea utilizării sau încorporării componentelor incluse în acest panou cu orice componentă care nu este inclusă în acest panou, dacă nu este precizat astfel în protocoalele furnizate împreună cu produsul, în aceste Instrucțiuni de utilizare și în protocoalele suplimentare disponibile la adresa www.qiagen.com. Unele dintre aceste protocoale suplimentare au fost furnizate de utilizatorii QIAGEN pentru utilizatorii QIAGEN. Aceste protocoale nu au fost testate riguros sau optimizate de QIAGEN. QIAGEN nu le garantează și nici nu asigură faptul că acestea nu încalcă drepturile terților.
2. În afară de licențele acordate în mod explicit, QIAGEN nu garantează sub nicio formă că acest panou și/sau utilizarea (utilizările) acestuia nu încalcă drepturile terților.
3. Acest panou și componentele sale sunt licențiate pentru o singură utilizare și nu pot fi reutilizate, recondiționate sau revândute.
4. QIAGEN declină în mod specific orice licențe, explicite sau implicite, altele decât cele declarate în mod explicit.
5. Cumpărătorul și utilizatorul panoului acceptă să nu ia măsuri și să nu permită niciunei persoane să ia măsuri care ar putea conduce la sau facilita oricare dintre acțiunile interzise prezentate mai sus. QIAGEN poate pune în aplicare interdicțiile din acest Acord de licență limitată în orice instanță și va recupera toate costurile anchetelor și cheltuielile de judecată, inclusiv onorariile avocaților, în orice acțiune pentru aplicarea acestui Acord de licență limitată sau a oricăruia dintre drepturile sale de proprietate intelectuală legate de panou și/sau componentele acestuia.

Pentru termenii actualizați ai licenței, consultați www.qiagen.com.

Mărci comerciale: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp® (QIAGEN Group). Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege.

1127541RO 06/2022 HB-3032-001 © 2022 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

Pentru comenzi www.qiagen.com/shop | Suport tehnic support.qiagen.com |
Site web www.qiagen.com