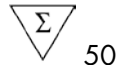


August 2018

# Håndbok for QIAamp<sup>®</sup> DSP Virus Kit



QIAamp DSP Virus Kit er et generisk system som bruker QIAamp-teknologi til isolering og rensing av virusnukleinsyrer fra humane plasma- eller serumprøver i forbindelse med in vitro-diagnostiske prosedyrer.

Til bruk i in vitro-diagnostikk

**IVD**

**CE**

**REF**

60704

**i**

1114514NO

**QIAGEN**

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

**R3 MAT**

1114514NO

# Innhold

Settets innhold .....	3
Symboler .....	4
Oppbevaring .....	6
Kvalitetskontroll .....	6
Tiltent bruk .....	7
Begrenset bruk av produktet .....	7
Advarsler og forholdsregler .....	8
Introduksjon .....	10
Prinsipp og prosedyre .....	10
Ytelseegenskaper .....	11
Utstyr og reagenser som brukeren må sørge for .....	16
Viktige merknader .....	17
Viktige punkter før du starter .....	17
Klargjøre RNA .....	18
Oppbevare prøver .....	18
Klargjøre reagenser og buffere .....	19
Eluere virusnukleinsyrer .....	22
Resultat og kvalitet på virusnukleinsyrer .....	23
Montere QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet .....	24
Protokoll: Isolering og rensing av virusnukleinsyrer fra plasma og serum .....	27
Endringshistorikk .....	31

# Settets innhold

<b>QIAamp DSP Virus Kit</b>			
<b>Katalognr.</b>			<b>60704</b>
<b>Antall klargjøringer</b>			<b>50</b>
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute-søyler med vaskerør (WT) (2 ml)	<b>COL</b>	50
EXT	Column Extenders (Kolonneforlengere) (3 ml)	<b>COL</b> <b>EXT</b>	50
ET	Elution Tubes (Elueringsrør) (1,5 ml)	<b>ELU</b> <b>TUBE</b>	50
VC	VacConnectors (Vakuumbkoblinger)	<b>VAC</b> <b>CON</b>	50
LT	Lysis Tubes (Lyseringsrør) (2 ml)	<b>LYS</b> <b>TUBE</b>	50
WT	Wash Tubes (Vaskerør) (2 ml)	<b>WASH</b> <b>TUBE</b>	50
AL	Lysis Buffer* (Lyseringsbuffer)	<b>LYS</b> <b>BUF</b>	33 ml
AW1	Wash Buffer 1* (Vaskebuffer 1) (konsentrat)	<b>WASH</b> <b>BUF</b> <b>1</b> <b>CON</b>	19 ml
AW2	Wash Buffer 2† (Vaskebuffer 2) (konsentrat)	<b>WASH</b> <b>BUF</b> <b>2</b> <b>CON</b>	13 ml
AVE	Elution Buffer† (Elueringsbuffer) (lilla lokk)	<b>ELU</b> <b>BUF</b>	4 x 2 ml
PS	Protease Solvent † (Proteaseløsning)	<b>QPROT</b> <b>SOLV</b>	4,4 ml
Carrier	Carrier RNA (Bærer-RNA) (røde lokk)	<b>CAR</b> <b>RNA</b>	310
QP	QIAGEN® Protease (QIAGEN®-protease)	<b>QPROT</b>	1 flaske

\* Inneholder guanidinhydroklorid. Ikke kompatibel med desinfeksjonsmidler som inneholder blekemiddel. Se side 8 for sikkerhetsinformasjon.

† Inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.

‡ Resuspensjonsvolum 4,4 ml.

# Symboler



Settet inneholder reagenser til 50 prøveklargjøringer



Se informasjonen i håndboken



Skal brukes innen

IVD

Medisinsk utstyr for in vitro-diagnostikk

REF

Katalognummer

LOT

Lotnummer

MAT

Materialnummer

COMP

Komponenter

VOL

Volum



Temperaturbegrensninger



Ved ankomst



Lovlig produsent



Viktig merknad



Skift hansker etter protokolltrinn med dette merket

GTIN

Ved levering: oppbevar QIAamp Mini-spinnkolonner ved 2–8° C



Globalt artikkelnummer

Skriv ned dagens dato etter at du har tilsatt etanol i flasken

ADD

Tilsetter

CONT

Inneholder

LYOPH

Lyofilisert

RCNS

Rekonstituer i

EtOH

Etanol

GuHCl

Guanidinhydroklorid

**MALEIC ACID**

Maleinsyre

SUBT

Subtilisin



Fører til

---

# Oppbevaring

QIAamp MinElute-kolonner skal oppbevares ved 2–8 °C ved ankomst.

Alle buffere kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C).

Lyofilisert bærer-RNA kan oppbevares ved romtemperatur inntil utløpsdatoen. Bærer-RNA kan kun løses i elueringsbuffer (AVE), og oppløst bærer-RNA skal umiddelbart tilsettes i lyseringsbuffer (AL) som beskrevet på side 19. Denne løsningen skal klargjøres fersk og er stabil ved 2–8 °C i opptil 48 timer. Ubrukte porsjoner av bærer-RNA løst i elueringsbuffer (AVE) skal fryses i alikvoter ved –20 °C.

Lyofilisert QIAGEN-protease (QP) kan oppbevares ved romtemperatur inntil utløpsdatoen uten at det reduserer ytelsen.

Rekonstituert QIAGEN-protease (QP) er stabil i inntil 1 år ved oppbevaring ved 2–8 °C, men kun frem til utløpsdatoen.

Rekonstituert vaskebuffer 1 (AW1) og rekonstituert vaskebuffer 2 (AW2) er stabil i inntil 1 år ved oppbevaring ved romtemperatur, men kun frem til utløpsdatoen.

## Kvalitetskontroll

I henhold til QIAGENS sertifiserte totale kvalitetsstyringssystem testes hvert parti med QIAamp DSP Virus Kit mot forhåndsbestemte spesifikasjoner for å sikre konsekvent produktkvalitet.

---

## Tiltenkt bruk

QIAamp DSP Virus Kit er et generisk system som bruker QIAamp-teknologi til isolering og rensing av virusnukleinsyrer fra humane plasma- eller serump prøver i forbindelse med in vitro diagnostiske formål. Alle diagnostiske resultater som er generert ved bruk av prøveklargjøringsprosedyren i sammenheng med downstream diagnostisk NAT-analyse, skal tolkes idet det tas hensyn til andre kliniske funn eller laboratoriefunn.

Produktet er beregnet på profesjonelle brukere, for eksempel teknikere og leger som har fått opplæring i molekylærbiologiske teknikker. Det er utformet for bruk med enhver downstream-applikasjon som bruker enzymatisk amplifisering eller annen enzymatisk modifisering av DNA eller RNA etterfulgt av signalpåvisning eller amplifisering. De isolerte og rensede virusnukleinsyrene kan brukes i både kvalitative (f.eks. blodscreening) og kvantitative (f.eks. overvåking av virusbelastning, VL) diagnostiske NAT-analyser.

For å begrense mest mulig uregelmessigheter i diagnostiske resultater er produktet beregnet for bruk med en intern kontroll samt positive og negative kontroller i prosessen med prøveklargjøring, og med prøveamplifisering og -påvisning i henhold til anvendt downstream-analyse.

Produktet er utformet for bruk med QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet eller et tilsvarende vakuumsystem.

## Begrenset bruk av produktet

Settet skal ikke brukes med blod, vev, benmarg eller dyrkede celler. Settet skal heller ikke brukes til å isolere og rense bakterielle, fungale eller parasittiske nukleinsyrer. Ytelsen til settet når det gjelder å isolere og rense nukleinsyrer fra andre cellefrie kroppsvæsker, f.eks. urin og CSF, har ikke blitt evaluert.

# Advarsler og forholdsregler

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablader (safety data sheets, SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige i praktisk og kompakt PDF-format på [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), der du kan søke etter, vise og skrive ut sikkerhetsdatabladet for hvert QIAGEN-sett og hver settkomponent.

**FORSIKTIG:** Ikke kast blekemidler eller sure løsninger sammen med avfallet fra prøveklargjøringen.

Lyseringsbuffer (AL) og vaskebuffer 1 (AW1) inneholder guanidinhidroklorid, som kan danne svært reaktive forbindelser i kombinasjon med blekemiddel. Hvis du søler væske som inneholder disse bufferne, må du rengjøre med egnet laboratorierengjøringsmiddel og vann. Hvis væsken som søles inneholder potensielt smittefarlige stoffer, må du først rengjøre det berørte området med laboratorierengjøringsmiddel og vann, og deretter med 1 % (v/v) natriumhypokloritt.

Hvis bufferflaskene er ødelagt eller lekket, må du bruke hansker og vernebriller når du kaster flaskene, for å unngå at du skader deg selv eller andre.

QIAGEN har ikke testet væskeavfall som dannes i QIAamp DSP Virus-prosedyren for rester av smittestoffer. Derfor må man treffe generelle forholdsregler (hansker, labfrakk og øyebeskyttelse) når man håndterer potensielt smittefarlig materiale fra mennesker når man arbeider med dette produktet, og flytende avfall må håndteres som smittefarlig og skal håndteres og deponeres i henhold til lokale sikkerhetsbestemmelser.



Følgende fare- og risikosekninger og forholdsregler gjelder komponentene i QIAamp DSP Virus Kit.

### Buffer AL



Inneholder: guanidinhydroklorid, maleinsyre. Advarsel! Kan være skadelig ved svelging eller innånding. Irriterer huden. Kan utløse en allergisk hudreaksjon. Forårsaker alvorlig øyeirritasjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

### Buffer AW1



Inneholder: guanidinhydroklorid. Advarsel! Farlig ved svelging eller innånding. Irriterer huden. Forårsaker alvorlig øyeirritasjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

### QIAGEN-protease



Inneholder: subtilisin. Fare! Skadelig ved svelging. Irriterer huden. Gir alvorlig øyeskade. Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding. Kan føre til irriterte luftveier Unngå å puste inn støv/røyk/gass/tåke/damp/spray. Benytt



vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. Benytt åndedrettsvern.



VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Ta umiddelbart kontakt med GIFTINFORMASJONEN eller lege. Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende hviler i en stilling som letter åndedrettet.

# Introduksjon

QIAamp DSP Virus Kit benytter veletablert teknologi for simultan isolering og rensing av virus-DNA og -RNA. QIAamp DSP Virus-prosedyren kombinerer de selektive bindeegenskapene til en silikabasert membran med svært små elueringsvolumer på 20 µl eller 60 µl.

Prosedyren egner seg for bruk med plasma eller serum, og begge kan inneholde citrat eller EDTA. Prøvene kan enten være ferske, lyofiliserte eller frosne, forutsatt at de ikke har vært frosset og tinet opp mer enn én gang. Prosedyren kan brukes til isolering av virus-RNA og -DNA fra et bredt utvalg av RNA- og DNA-viruser. Prosedyren er utformet for å begrense krysskontaminering fra prøve til prøve mest mulig og gjør det mulig å håndtere potensielt smittefarlige prøver på en trygg måte. Prosedyren er svært godt egnet til å behandle flere prøver samtidig. Virusnukleinsyrer elueres i elueringsbuffer (AVE), klar til bruk i amplifiseringsreaksjoner eller lagring ved -20 °C.

## Prinsipp og prosedyre

QIAamp DSP Virus-prosedyren består av 4 trinn:

- Lysere viruspartiklene i prøven
- Binde virusnukleinsyrene i lysatet til membranen på en QIAamp MinElute-kolonne
- Vaske membranen
- Eluere virusnukleinsyrene fra membranen

Prosedyren utføres med QIAamp MinElute-kolonner på et vakuumanifold.

### Lysere viruspartikler

Prøver lyses under denatureringsbetingelser ved økte temperaturer. Lysering utføres i tilstedeværelse av QIAGEN-protease (QP) og lyseringsbuffer (AL), som sammen sikrer inaktivering av RNaser.

## Binde nukleinsyrer til QIAamp MinElute-kolonnemembranen

For å optimalisere bindingen av virus-DNA og -RNA til QIAamp MinElute-kolonnemembranen tilsettes først etanol til lysatene. Hvert lysat overføres deretter til en QIAamp MinElute-kolonne, og virusnukleinsyrer adsorberes på silika-membranen etter som lysatet trekkes gjennom ved vakuumtrykk.

## Fjerne resterende kontaminanter

Mens virusnukleinsyrene holder seg bundet til QIAamp MinElute-kolonnemembranen, vaskes kontaminantene effektivt bort ved bruk av først vaskebuffer 1 (AW1), deretter vaskebuffer 2 (AW2) og deretter etanol.

## Eluere rene nukleinsyrer

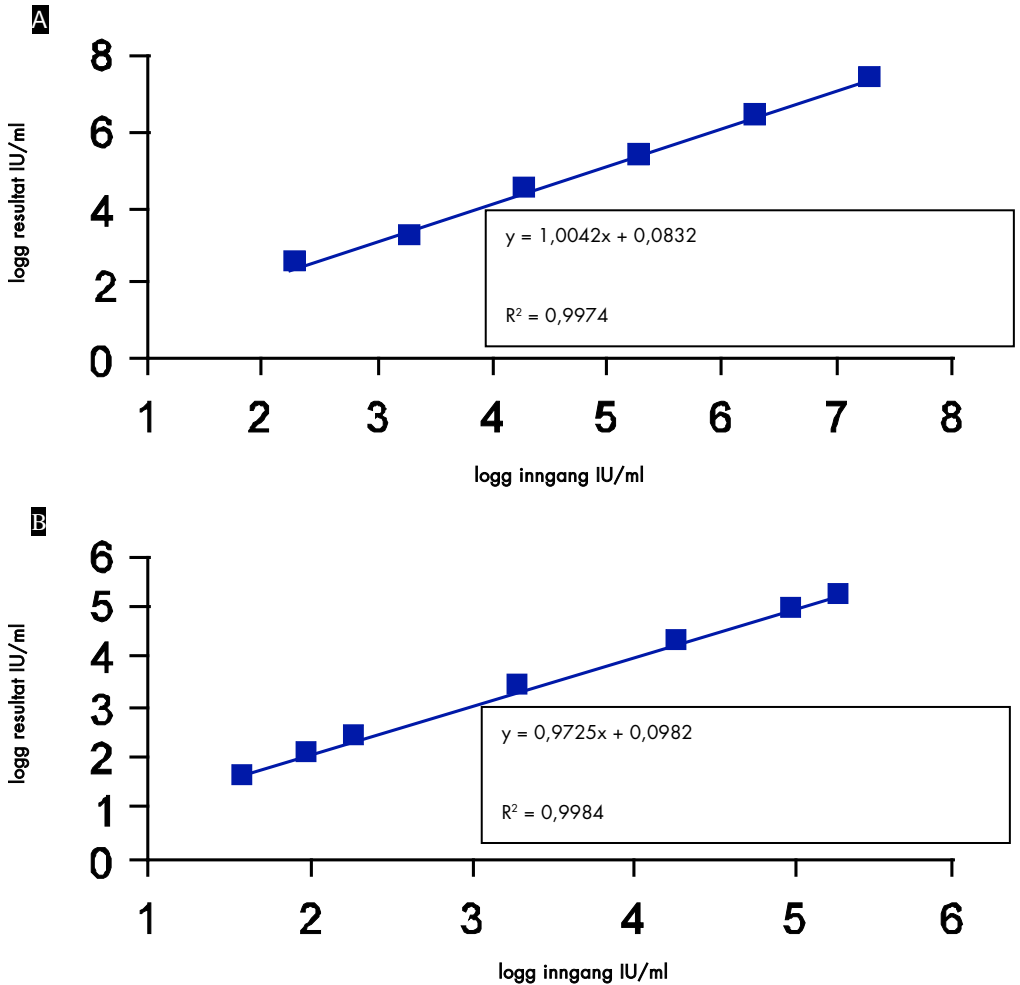
Virusnukleinsyrer elueres fra QIAamp MinElute-kolonnen ved bruk av elueringsbuffer (AVE). QIAamp MinElute-kolonnene gjør det mulig med elueringsvolumer på 20 µl eller 60 µl.

## Ytelseegenskaper

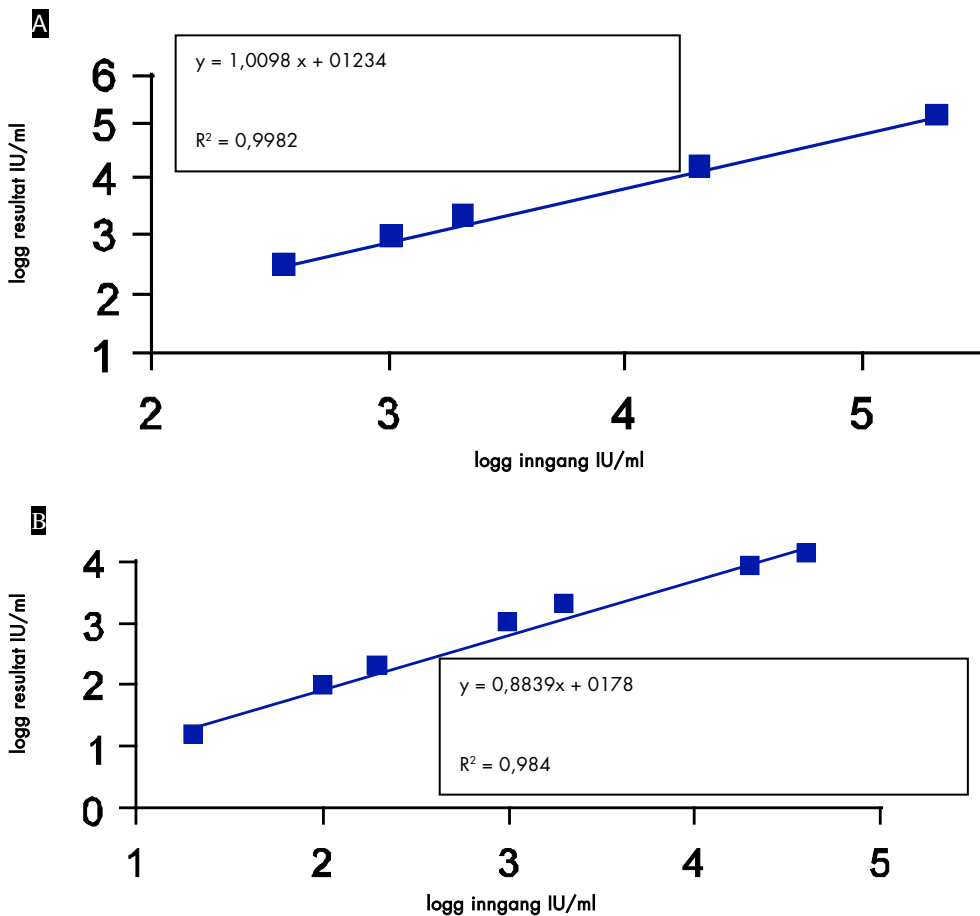
Det lineære området for QIAamp DSP Virus-prosedyren har blitt fastsatt for HIV RNA og HBV DNA i flere diagnostiske downstream-analyser (Tabell 1, Figur 1 og Figur 2).

**Tabell 1.-Diagnostiske downstream-analyser der det lineære området for QIAamp DSP Virus-prosedyren har blitt testet**

Analyse	Sett
Sannstids RT-PCR av HIV RNA	TaqMan <sup>®</sup> -analyse og cobas <sup>®</sup> AMPLICOR HIV-1 MONITOR <sup>®</sup> -test
Sannstids PCR av HBV DNA	TaqMan-analyse og cobas AMPLICOR HBV MONITOR <sup>®</sup> -test



**Figur 1. Lineært område for QIAamp DSP Virus-prosedyren ved bruk av TaqMan-analyser** Det lineære området for QIAamp DSP Virus-prosedyren ved 60 µl elueringsvolum ble bestemt ved bruk av TaqMan-analyser for **A** HIV RNA og **B** HBV DNA.



**Figur 2. Lineært område for QIAamp DSP Virus-prosedyren ved bruk av cobas AMPLICOR MONITOR-tester** Det lineære området for QIAamp DSP Virus-prosedyren ved 60 µl elueringsvolum ble bestemt ved bruk av cobas AMPLICOR MONITOR-tester for **A** HIV RNA og **B** HBV DNA.

Påvisningsgrensen (detection limit, DL) og kvantifiseringsgrensen (quantification limit, QL) har i henhold til ICH-retningslinjene 2QA og 2QB blitt bestemt for QIAamp DSP Virus-prosedyren (med et innledende prøvevolum på 500 µl og elueringsvolumer på 20 µl og 60 µl) ved bruk av ulike diagnostiske downstream-analyser (Tabell 3 og Tabell 2).

**Tabell 2.-Påvisningsgrense for QIAamp DSP Virus-prosedyre**

Analyse	Elueringsvolum	95 % cut-off
artus® RealArt™ HBV DNA	20 µl	2,31 IU/ml (n=240)
artus RealArt HCV RNA	20 µl	24,31 IU/ml (n=192)
AMPLICOR manual HIV RNA	60 µl	90,92 IU/ml (n=209)
TaqMan HBV DNA	60 µl	4,73 IU/ml (n=192)

**Tabell 3.-Kvantifiseringsgrense for QIAamp DSP Virus-prosedyre**

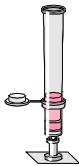
Analyse	QL	CV
TaqMan HBV DNA	5,7 IU/ml	<70 % (n=88)
TaqMan HIV RNA	52 IU/ml	<60% (n=88)
cobas AMPLICOR HIV RNA	100 IU/ml	<60% (n=88)
cobas AMPLICOR HBV DNA	30 IU/ml	<60% (n=88)
cobas AMPLICOR HCV RNA®	700 IU/ml	<60% (n=66)

## QIAamp DSP Virus -prosedyre

Prøve



Lyseri



Binding

Vakuu



Vask  
(AW1)

Fjern EXT før  
bruk av  
vakuu

Vakuu



Vask  
(AW2)

Vakuu



Vask  
(etanol)

Vakuu



Tørr  
spinn  
Eluering

Rene virusnukleinsyrer

### Les protokollen (side27) nøye før du begynner

I LT tilsettes 75 µl QP, 500 µl prøve og 500 µl AL.

Virvelrotasjon 15 sekunder.

Inkuber 15 minutter ( $\pm 1$  minutt) ved 56 °C ( $\pm 1$  °C).

Tilsett 600 µl etanol.

Virvelrotasjon 15 sekunder.

Inkuber 5 min ( $\pm 1$  minutt) ved romtemperatur (15–25 °C)

Overfør lysat til QIAamp MinElute-kolonne påfestet EXT.

Tilsett 600 µl rekonstituert AW1.

Fjern EXT.

Tilsett 700 µl rekonstituert AW2.

Tilsett 750 µl etanol.

Plasser QIAamp MinElute-kolonne i WT.

Sentrifuger 1 minutt ved 14 000 o/min

Plasser QIAamp MinElute-kolonne i WT.

Inkuber 3 minutter ved 56 °C.

Plasser QIAamp MinElute-kolonne i ET.

Tilsett 20 µl eller 60 µl AVE.

Inkuber i 3 minutter ved romtemperatur.

Sentrifuger 1 minutt ved 14 000 o/min

# Utstyr og reagenser som brukeren må sørge for

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Du finner mer informasjon på de aktuelle sikkerhetsdatabladene (HMS-databladene) som fås fra leverandøren av produktet.

- Etanol (96–100 %)
- Pipetter\* og pipettespisser (for å unngå krysskontaminering anbefaler vi på det sterkeste at det benyttes pipettespisser med aerosolbarrierer)
- Engangshansker
- Varmeblokk\* for lysing av prøver ved 56 °C (vi anbefaler Eppendorf® Thermomixer komfort med termoblokk for 2,0 ml mikrotestrør†)
- Mikrosentrifuge\*
- Målesylinder (50 ml)
- Vorteksblender
- QIAvac 24 Plus-vakuumsystem (QIAvac 24 Plus, kat.nr. 19413, QIAvac Connection System, kat.nr. 19419 og Vacuum Pump, kat.nr. 84020‡), eller et tilsvarende generelt laborativakuumsystem

\* For å sikre at prøvene blir riktig behandlet i QIAamp DSP Virus-prosedyren anbefaler vi på det sterkeste at instrumenter (f.eks. pipetter og varmeklokker) kalibreres i henhold til produsentenes anbefalinger.


† Dette er ikke en fullstendig liste over leverandører. Mange viktige forhandlere av biologiske varer er ikke inkludert.

‡ Kat.nr. 84020 refererer til en pumpe beregnet på europeiske land (f.eks. Tyskland). For land med andre krav til spenning eller plugger, må man kontakte teknisk service hos QIAGEN.



# Viktige merknader

## Viktige punkter før du starter

- Når du har mottatt settet, må du kontrollere om settets komponenter er skadet. Hvis blisterpakningene eller bufferflaskene er skadet, skal du ta kontakt med QIAGENs tekniske serviceavdeling eller din lokale leverandør. Ved væskesøl må du lese "Advarsler og forholdsregler" (side 8).
- Bruk ikke skadede settkomponenter, ettersom bruk av disse kan føre til dårlig ytelse.
- Bruk alltid RNase-fritt utstyr.
- Oppbevar etanol (96–100 %) på is under prosedyren.
- Skift alltid pipettespiss mellom væskeoverføringer. For å unngå krysskontaminering anbefaler vi på det sterkeste å benytte pipettespisser med aerosolbarrierer.
- Alle sentrifugeringstrinn utføres ved romtemperatur (15–25 °C).
- Bruk alltid engangshansker, og kontroller regelmessig at de ikke er kontaminert med prøvemateriale.
- Kast hanskene hvis de blir kontaminert, og minst ved alle trinn som merket med hanskesymbolet. 
- Åpne kun ett rør om gangen for å unngå krysskontaminering.
- Bruk ikke komponenter fra andre sett med det settet du bruker for øyeblikket, med mindre partinumrene er identiske.
- Unngå mikrobiell kontaminering av setteagensene.
- For å ivareta vernet mot potensielt smittefarlig materiale anbefaler vi å arbeide under laminar air-flow-forhold inntil prøvene er lysert.
- Dette settet skal kun brukes av personell som er opplært i laboratoriepraksis for in vitro diagnostikk.

- Prosedyren gir instruksjoner for behandling av én plasma- eller serumprøve. Inntil 24 prøver kan imidlertid behandles samtidig på QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet.

## Klargjøre RNA

Arbeid hurtig gjennom de manuelle trinnene i prosedyren ved klargjøring av virus-RNA.

Elueringsbufferen (AVE) inneholder natriumazid\*, et antimikrobielt middel som forhindrer vekst av RNase-produserende organismer. Siden denne bufferen ikke inneholder noen RNase-nedbrytende kjemikalier, vil den imidlertid ikke aktivt hemme RNaser som introduseres gjennom uegnet håndtering. Vær særdeles forsiktig når du håndterer elueringsbufferen (AVE), for å unngå kontaminering med RNaser.

## Oppbevare prøver

Etter innsamling og sentrifugering kan plasma eller serum oppbevares ved 2–8 °C i opptil 6 timer. For langsiktig oppbevaring anbefales frysing ved -20 °C eller -80 °C i alikvoter. Frosne plasma- eller serumprøver må ikke tines opp mer enn én gang. Gjentatt frysing og opptining fører til denaturering og presipitering av proteiner, noe som fører til reduserte virustitre og derfor reduserte avgivelser av virusnukleinsyrer. I tillegg vil kryopresipitater som er dannet under frysing-opptining, tilstoppe membranen i QIAamp MinElute-kolonnen. Hvis kryopresipitater er synlige, skal de pelleteres ved sentrifugering ved omtrent 6800 x g i 3 minutter. Den rensede supernatanten skal aspireres og behandles umiddelbart uten å forstyrre pelleten.

\* Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier.

## Klargjøre reagenser og buffere

### Klargjør QIAGEN-protease

Tilsett hele innholdet fra hetteglasset med 4,4 ml proteaseløsning (PS) i hetteglasset med lyofilisert QIAGEN-protease (QP), og bland forsiktig. For å unngå skumming blander du innholdet ved å vende flasken flere ganger. Påse at QIAGEN-proteasen (QP) er helt oppløst.



Ikke tilsett QIAGEN-protease (QP) direkte i lyseringsbufferen (AL).

### Tilsette bærer-RNA og intern kontroll i lyseringsbufferen

Bærer-RNA har to formål. For det første øker den bindingen av virusnukleinsyrer til membranen i QIAamp MinElute-kolonnen, spesielt hvis det er svært få mål-molekyler i prøven. For det andre vil tilførselen av store mengder bærer-RNA redusere muligheten for virus-RNA-nedbrytning i det sjeldne tilfellet at RNase-molekylene ikke denatureres av de kaotropske saltene og rengjøringsmiddelet i lyseringsbufferen (AL). Hvis bærer-RNA ikke tilsettes i lyseringsbuffer (AL), kan dette føre til redusert utvinning av virus-RNA eller virus-DNA.

Bærer-RNA kan også inkluderes i noen interne kontrollreagenser for kommersielle downstream-analyser. Se den relevante bruksanvisningen fra produsenten av downstream-analysen.

Bruk av en intern kontroll anbefales på det sterkeste ved bruk av QIAamp DSP Virus Kit i kombinasjon med systemer for diagnostisk amplifisering. Intern kontroll-RNA eller -DNA og rekonstituert bærer-RNA skal tilsettes i lyseringsbuffer (AL) og blandes grundig ved å vende røret 10 ganger. For å unngå skumming skal det ikke utføres vortex.

Se produsentens instruksjoner for å bestemme optimal konsentrasjon av intern kontroll. Bruk av en annen konsentrasjon enn den som anbefales, kan føre til feil resultater. Ved beregning av riktig mengde intern kontroll må det tas hensyn til prøvens startvolum og elueringsvolumet. Husk at QIAamp DSP Virus Kit bruker et startvolum for prøven på 500 µl.

Bærer-RNA-løsningen klargjøres ved å tilsette 310 µl elueringsbuffer (AVE) i røret som inneholder 310 µg lyofilisert bærer-RNA for å oppnå en løsning på 1 µg/µl. Løs opp bærer-RNA grundig, del det i alikvoter i passende størrelse, og oppbevar det ved -20 °C. Alikvoter med bærer-RNA må ikke fryses-opptines mer enn 2 ganger.

Vær oppmerksom på at bærer-RNA ikke løses opp i lyseringsbuffer (AL). Det må først løses opp i elueringsbuffer (AVE) og deretter tilsettes i lyseringsbufferen (AL). Sørg for at bærer-RNA er fullstendig oppløst i riktig volum av elueringsbuffer (AVE) før det blandes med lyseringsbuffer (AL).



Bruk alltid riktig intern kontroll for downstream-analysen. Se produsentens instruksjoner for mer informasjon.

Regn ut nødvendig volum av blandingen med lyseringsbuffer (AL) / bærer-RNA per prøveparti ved å velge antall prøver som skal behandles samtidig fra Tabell 4. Volumer regnes ut ved bruk av følgende prøveutregning:

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

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

der: n = antall prøver som skal behandles samtidig

y = utregnet volum av lyseringsbuffer (AL)

z = volum av bærer-RNA/elueringsbuffer (AVE) som skal tilsettes i lyseringsbufferen (AL)

**Tabell 4.-Nødvendige volumer av lyseringsbuffer (AL) og bærer-RNA/elueringsbuffer (AVE) for QIAamp DSP Virus-prosedyren**

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

### Klargjøre vaskebuffer 1 (AW1)

Bruk en målesylinder, og tilsett 25 ml etanol (96–100 %) i flasken som inneholder 19 ml vaskebuffer 1 (AW1)-konsentrat. Oppbevar rekonstituert vaskebuffer 1 (AW1) ved romtemperatur (15–25 °C).



Bland alltid den rekonstituerte vaskebuffer 1 (AW1) ved å vende flasken flere ganger før prosedyren startes.

## Klargjøre vaskebuffer 2 (AW2)

Bruk en målesylinder, og tilsett 30 ml etanol (96–100 %) i flasken som inneholder 13 ml vaskebuffer 2 (AW2)-konsentrat. Oppbevar rekonstituert vaskebuffer 2 (AW2) ved romtemperatur (15–25 °C).



Bland alltid den rekonstituerte vaskebuffer 2 (AW2) ved å vende flasken flere ganger før prosedyren startes.

## Klargjøre elueringsbuffer (AVE)

Settet leveres med fire rør med elueringsbuffer (AVE). Pass på at bufferen ikke blir kontaminert med RNaser. Hvis du utfører 4 eller færre renseprosedyrer med ett sett, anbefaler vi å kaste røret med elueringsbuffer (AVE) på slutten av hver prosedyre.

## Eluere virusnukleinsyrer

For downstream-applikasjoner som krever små startvolumer (f.eks. visse PCR- og RT-PCR-analyser), kan bruk av virusnukleinsyrer eluert i 20 µl elueringsbuffer (AVE) øke analysesensitiviteten.

Volumet av virusnukleinsyrer som er eluert fra en QIAamp MinElute-kolonne, kan være opptil 5 µl mindre enn volumet til elueringsbufferen (AVE) som påføres kolonnen. For eksempel fører eluering av virusnukleinsyrer med 60 µl elueringsbuffer (AVE) til et eluat på omtrent 55 µl, mens eluering med 20 µl resulterer i omtrent 15 µl eluat.

Eluatvolumet som utvinnes, avhenger av typen prøve. Hvis volumet av utvunnet eluat er for lavt for downstream-analysen, øker du volumet ved å tilsette mer elueringsbuffer (AVE).

Eluerte virusnukleinsyrer samles opp i elueringsrør (ET). Hvis virusnukleinsyrene skal oppbevares i opptil 24 timer, anbefaler vi at de oppbevares ved 2–8 °C.

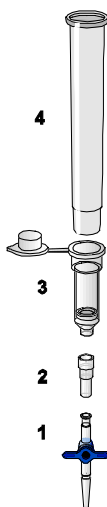
---

## Resultat og kvalitet på virusnukleinsyrer

Resultatet og kvaliteten på isolerte virusnukleinsyrer egner seg for alle typer downstream-deteksjonsprosedyrer i molekylær diagnostikk. Diagnostiske analyser skal utføres i henhold til produsentenes instruksjoner.

## Montere QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet

Sørg for at monterer kolonneforlengeren (EXT), QIAamp MinElute-kolonnen, vakuumtilkoblingen (VC) og vakuumventilen på riktig måte (Figur 3).



**Figur 3. Montering av komponenter i QIAamp DSP Virus Kit for vakuumbehandling av prøver:**

1 : Vakuumventil (leveres med vakuumsystemet)

3 : QIAamp MinElute-kolonne

2 : Vakuumtilkobling (VC)

4 : Kolonneforlenger (EXT)

Vi anbefaler at lyseringsrørene (LT), elueringsrørene (ET) og QIAamp MinElute-kolonnene som skal brukes på QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet, merkes i samsvar med skjemaet i Figur 4 for å unngå sammenblanding av prøver. Denne figuren kan kopieres og merkes med navnene på prøvene.

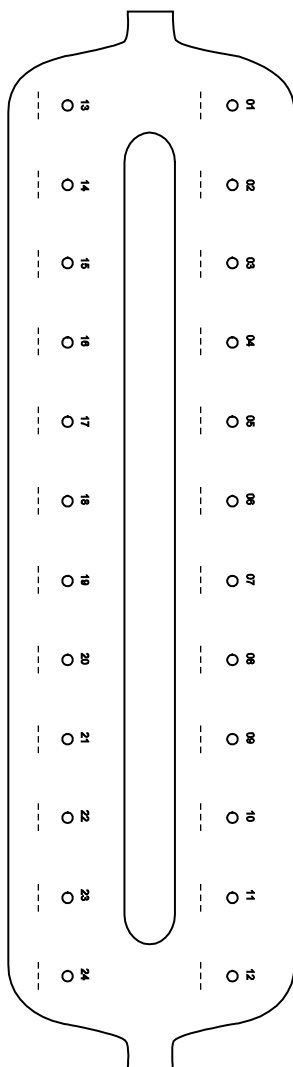


---

Dato: \_\_\_\_\_

Operatør: \_\_\_\_\_

Kjørings-ID: \_\_\_\_\_



**Figur 4. Merkingsskjema for lyseringsrør (LT), elueringsrør (ET) og QIAamp MinElute-kolonner for bruk på QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet.**

# Protokoll: Isolering og rensing av virusnukleinsyrer fra plasma og serum

For isolering og rensing av virusnukleinsyrer fra 500 µl EDTA- eller citratbehandlet plasma eller serum.

Ting du skal gjøre før du starter

- Ekvilibrer prøvene til romtemperatur (15–25 °C), og sørg for at de blandes godt.
- Tilsett bærer-RNA rekonstituert i elueringsbuffer (AVE) eller intern kontroll, i lyseringsbufferen (AL) i henhold til instruksjonene på side 19.
- Kontroller at vaskebuffer 1 (AW1), vaskebuffer 2 (AW2) og QIAGEN-protease (QP) har blitt klargjort i henhold til instruksjonene i “Viktige merknader” på side 17.
- Ekvilibrer elueringsbufferen (AVE) til romtemperatur (15–25 °C) for bruk i trinn 18. Bruk om mulig fersk elueringsbuffer (AVE) til hver prosedyre (4 rør følger med).
- Still inn en varmeblokk på 56 °C for bruk i trinn 4 og 17.
- For å unngå krysskontaminering må du sette inn en vakuumentkobling (VC) i hver lueradapter på vakuumsystemet.
- Forsikre deg om at avfallsflasken til vakuumsystemet er tom, og at alle koblinger er tilkoblet riktig.
- Mer informasjon om bruk av vakuumsystemet, særlig vedlikehold, finner du i den medfølgende håndboken.

Prosedyre

1. Pipetter 75 µl QIAGEN-protease (QP) til et lyseringsrør (LT).



Kontroller utløpsdatoen på den rekonstituerte proteasen før bruk.

2. Tilsett 500 µl plasma eller serum i lyseringsrøret (LT).

3. Tilsett 500 µl lyseringsbuffer (AL) (inneholdende 11,2 µg/ml bærer-RNA) i lyseringsrøret (LT), lukk lokket, og bland med puls-vortex i 15 sekunder.

For å sikre effektiv lysering er det avgjørende at prøven og lyseringsbufferen (AL) blandes grundig for å fremskaffe en homogen løsning.



Lyseringsbufferen (AL) inneholder intern kontroll. Siden lyseringsbufferen (AL) har høy viskositet, må du sørge for å tilsette riktig volum av lyseringsbuffer (AL) ved å pipettere forsiktig eller bruke en egnet pipette, f.eks. en Eppendorf multistep-pipette eller tilsvarende.



Ikke tilsett QIAGEN-protease (QP) direkte i lyseringsbufferen (AL).

4. Inkuber ved 56 °C ( $\pm 1$  °C) i 15 minutter ( $\pm 1$  minutt).
5. Sentrifuger lyseringsrøret (LT) i  $\geq 5$  sekunder ved full hastighet for å fjerne dråpene fra innsiden av lokket.



6. Skift hansker og åpne lyseringsrøret (LT) forsiktig.

7. Tilsett 600 µl etanol (96–100 %) i lyseringsrøret (LT), lukk lokket og bland godt med pulsvortex i  $\geq 15$  sekunder. Inkuber i 5 ( $\pm 1$  minutt) ved romtemperatur (15–25 °C).
8. Sentrifuger lyseringsrøret (LT) i  $\geq 5$  sekunder ved full hastighet for å fjerne dråpene fra innsiden av lokket.

9. Sett QIAamp MinElute-kolonnen inn i vakuumentilkoblingen (VC) på vakuumsystemet (se Figur 3, side 24). Sett inn en kolonneforlenger (EXT) i den åpne QIAamp MinElute-kolonnen.



Behold vaskerøret (WT) for tørrspinning i trinn 16.



10. Skift hansker, og åpne kun ett rør om gangen.

11. Ha hele lysatet fra trinn 7 forsiktig over i kolonneforlengeren (EXT) på QIAamp MinElute-kolonnen uten at kanten blir våt. Unngå å komme i kontakt med QIAamp MinElute-kolonnemembranen med pipettespissen.

12. Slå på vakuumpumpen. Etter at lysatet er trukket inn gjennom QIAamp MinElute-kolonnen, åpner du ventilen på vakuumsystemet og slipper ut vakuuet.

Ved behandling av flere QIAamp MinElute-kolonner samtidig anbefaler vi å lukke vakuumentilen på hver kolonne etter at lysatet har passert gjennom, for å redusere varigheten av dette vakuustrinnet.



Hvis lysatet ikke har kommet helt igjennom membranen etter 15 min, kaster du QIAamp MinElute-kolonnen og gjentar prosedyren med en ny prøve.



Vakuumsystemventilen skal brukes når vakuumtrykket må slippes ut raskt.

13. Ha 600 µl vaskebuffer 1 (AW1) i QIAamp MinElute-kolonnen. Fjern forsiktig og kast kolonneforlengeren (EXT), og lukk ventilen på vakuumsystemet. Når vaskebuffer 1 (AW1) er blitt trukket inn gjennom QIAamp MinElute-kolonnen, åpner du ventilen og slipper ut vakuuet.



For å unngå krysskontaminering må du sørge for at fjernede kolonneforlengere (EXT) ikke passerer over nærliggende QIAamp MinElute-kolonner.

14. Ha 750 µl vaskebuffer 2 (AW2) i QIAamp MinElute-kolonnen uten at kanten blir våt. Unngå å komme i kontakt med QIAamp MinElute-kolonnemembranen med pipettespissen. La lokket på kolonnen være åpent, og lukk ventilen på vakuumsystemet. Når vaskebuffer 2 (AW2) er blitt trukket inn gjennom QIAamp MinElute-kolonnen, åpner du ventilen og slipper ut vakuuet.

15. Ha 750 µl etanol (96–100 %) i QIAamp MinElute-kolonnen uten at kanten blir våt. Unngå å komme i kontakt med QIAamp MinElute-kolonnemembranen med pipettespissen. La lokket på kolonnen være åpent, og lukk ventilen på vakuumsystemet. Når etanolen er blitt trukket inn gjennom QIAamp MinElute-kolonnen, åpner du ventilen og slipper ut vakuuet.



Bruk pipettespisser med aerosolbarriere for å ha etanol i QIAamp MinElute-kolonnen.

16. Lukk lokket på QIAamp MinElute-kolonnen, fjern den fra vakuumsystemet og kast vakuumentilkoblingen (VC). Plasser QIAamp MinElute-kolonnen i vaskerøret (WT) som du beholdt i trinn 9, og sentrifuger ved full hastighet (omtrent 20 000 x g, eller 14 000 o/min) i 1 min for å tørke membranen helt. Kast vaskerøret (WT) som inneholder filtratet.



Manglende tørrsentrifugering kan føre til hemming av downstream-analysen.

17. Plasser QIAamp MinElute-kolonnen i et nytt vaskerør (WT), og inkuber med lokket åpent ved 56 °C i 3 minutter slik at resterende væske fordampes.

18. Plasser QIAamp MinElute-kolonnen i et rent elueringsrør (ET), og kast vaskerøret (WT).

Åpne forsiktig lokket på QIAamp MinElute-kolonnen, og påfør 20 µl eller 60 µl elueringsbuffer (AVE) (avhengig av downstream-analysen) midt på membranen. Lukk lokket og inkuber ved romtemperatur (15–25 °C) i ≥3 minutter. Sentrifuger ved full hastighet (ca. 20 000 x g, eller 14 000 o/min) i 1 minutt for å eluere virusnukleinsyrene.



Følg vedlikeholdsprosedyren for vakuumsystemet etter at du har utført denne protokollen (du finner mer informasjon i håndboken som fulgte med vakuumsystemet).

Hvis du ønsker oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, kan du se i den aktuelle håndboken for QIAGEN-settet eller i bruksanvisningen. Håndbøker og bruksanvisninger for QIAGEN-settet er tilgjengelig på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan leveres fra QIAGENs tekniske tjenester eller den lokale distributøren.

## Endringshistorikk

### Endringshistorikk for dokument

---

R3	Lagt til forklarende fotnote om vakuumpumpe kat.nr., se side 16.
08/2018	Oppdaterte advarsler og forholdsregler. Oppdatert format i håndbok

---

**Denne siden skal være tom**



---

**Denne siden skal være tom**

---

**Denne siden skal være tom**

### Begrenset lisensavtale for QIAamp DSP virus Kit

Bruk av dette produktet innebærer at enhver kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og denne håndboken, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i settet. QIAGEN gir ingen lisens når det gjelder noen av QIAGENS åndsprodukter til å bruke eller innlemme komponenter i dette settet sammen med andre komponenter som ikke er inkludert i dette settet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet, denne håndboken og andre protokoller som er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Noen av disse andre kontrollene er utarbeidet av QIAGEN-brukere for QIAGEN-brukere. Disse protokollene er ikke blitt grundig testet eller optimalisert av QIAGEN. QIAGEN garanterer ikke for dem, og gir heller ingen garanti for at de ikke krenker rettighetene til tredjeparter.
2. QIAGEN gir ingen garanti for at dette settet og/eller bruk av det ikke krenker rettighetene til tredjeparter, bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Dette settet og komponentene i det er lisensiert for engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydnet, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av settet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan resultere i eller fremme handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller eventuelle immaterielle rettigheter forbundet med settet og/eller komponentene.

Oppdaterte lisensvilkår er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Varemerker: QIAGEN®, QIAamp®, *artus*®, MinElute® (QIAGEN Group); AMPLICOR HBV MONITOR®, AMPLICOR HCV MONITOR®, AMPLICOR HIV-1 MONITOR®, cobas®, TaqMan® (Roche Group); RealArt™ (artus GmbH); Eppendorf® (Eppendorf AG). Registrerte navn, varemerker, osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke betraktes som ubeskyttet av lov, selv om de ikke spesifikt er merket som dette.

1114514 08/2018 HB-0109-003 © 2018 QIAGEN. Med enerett.

---

Bestilling [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknisk støtte [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Nettside [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)