

MACHEREY-NAGEL Handbuch



Isolierung viraler Nukleinsäuren

■ NucleoSpin® Dx Virus



IVD *In-vitro*-Diagnostikum

REF 740895.50

 MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Deutschland

 50 Präp.

 April 2022/Rev. 07

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-0
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)
E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-270
E-mail: tech-bio@mn-net.com

USA

MACHEREY-NAGEL Inc.
924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA
Toll-free: 888 321 6224 (MACH)
E-mail: sales-us@mn-net.com

France

MACHEREY-NAGEL SAS
1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France
Tel.: +33 388 68 22 68
E-mail: sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

Switzerland











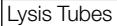


MACHEREY-NAGEL AG
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland
Tel.: +41 62 388 55 00
E-mail: sales-ch@mn-net.com

Inhaltsverzeichnis

1	Komponenten	4
1.1	Inhalt des Kits	4
1.2	Vom Anwender bereitzustellende Reagenzien, Verbrauchsmaterialien und Geräte	5
1.3	Informationen zu diesem Benutzerhandbuch	6
2	Produktbeschreibung	7
2.1	Bestimmungsgemäßer Gebrauch	7
2.2	Anwendungseinschränkungen des Produkts	7
2.3	Qualitätskontrolle	8
2.4	Einleitung und Spezifikationen des Kits	8
2.5	Analytische und klinische Leistungsfähigkeit	10
2.6	Anmerkungen zur Probenqualität und -vorbereitung	12
2.7	Anmerkungen zur Elution	12
3	Lagerungsbedingungen und Vorbereitung der Arbeitslösungen	13
4	Sicherheitshinweise	14
4.1	Entsorgung	14
5	Reinigung viraler Nukleinsäuren mit NucleoSpin® Dx Virus	15
5.1	Übersichtsprotokoll	16
5.2	Verfahren zur Isolierung viraler RNA	18
5.3	Verfahren zur Isolierung viraler DNA	20
5.4	Verfahren zur gleichzeitigen Isolierung von viraler RNA und DNA	22
6	Anhang	24
6.1	Fehlerbehebung	24
6.2	Meldepflicht	25
6.3	Allgemeine Literatur	25
6.4	Bestellinformationen	25
6.5	Erläuterung der Symbole	26
6.6	Nutzungseinschränkung des Produkts / Garantie	26

1 Komponenten

1.1 Inhalt des Kits

NucleoSpin® Dx Virus		
REF	Symbol	50 Pröp. 740895.50
Lysis Buffer RAV1		35 mL
Wash Buffer RAW		30 mL
Wash Buffer RAV3 (Concentrate)*		12 mL
RNase-free H ₂ O		13 mL
Elution Buffer RE**		13 mL
Carrier RNA (lyophilized)*		1 mg
Proteinase Buffer PB		1,8 mL
Proteinase K (lyophilized)*		30 mg
NucleoSpin® Dx Virus Columns (dunkelblaue Ringe -plus Collection Tubes)		50
Collection Tubes (2 mL)		4 × 50
Lysis Tubes (1.5 mL)		50
Elution Tubes (1.5 mL)		50
User manual		1

* Zur Herstellung von Arbeitslösungen und zu den Lagerungsbedingungen siehe Abschnitt 3.

** Zusammensetzung des Elutionspuffers RE: 5 mM Tris/HCl, pH 8,5

1.2 Vom Anwender bereitzustellende Reagenzien, Verbrauchsmaterialien und Geräte

Reagenzien

- 96–100 %iges Ethanol (zur Anpassung der Nukleinsäure-Bindungsbedingungen und zur Herstellung des Waschpuffers RAV3)

Verbrauchsmaterialien

- Einwegpipettenspitzen (zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen werden Pipettenspitzen mit Aerosolbarriere empfohlen)

Geräte

- Handpipetten
- Zentrifuge für Mikrozentrifugenröhrchen
- Vortex-Mischer
- Heizblock oder Wasserbad für die Inkubation bei 70 °C
- Persönliche Schutzausrüstung (z. B. Laborkittel, Handschuhe, Schutzbrille)

1.3 Informationen zu diesem Benutzerhandbuch

Es wird dringend empfohlen, den detaillierten Protokollteil dieses Benutzerhandbuchs zu lesen. Das Übersichtsprotokoll ist nur als ergänzendes Hilfsmittel zum schnellen Nachschlagen während der Durchführung des Reinigungsverfahrens gedacht.

Benutzerhandbücher von MACHEREY-NAGEL sind im Internet unter **www.mn-net.com** verfügbar.

Bitte wenden Sie sich an den Technischen Kundendienst, falls Sie Informationen über Änderungen des aktuellen Benutzerhandbuchs gegenüber früheren oder aktualisierten Versionen benötigen.

Kontaktinformationen

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11
52355 Düren
Deutschland
Tel.: +49 24 21 969-0
Gebührenfrei: 0800 26 16 000 (nur Deutschland)
E-Mail: info@mn-net.com

Technischer Support – Bioanalytik

Tel.: +49 24 21 969-270
E-Mail: tech-bio@mn-net.com

Benutzerhandbücher in weiteren Sprachen sind im Download-Bereich auf der Produktseite verfügbar.

Les manuels d'utilisation dans d'autres langues sont disponibles dans la section Telechargements de la page du produit.

Los manuales de usuario en otros idiomas estan disponibles en la seccion de descargas de a pagina del producto.



2 Produktbeschreibung

2.1 Bestimmungsgemäßer Gebrauch

NucleoSpin® Dx Virus ist ein Kit für die Isolierung viraler Nukleinsäuren aus frischem und gefrorenem Humanserum und -plasma, das zum Zwecke einer anschließenden *In-vitro*-Analyse mit gängigen Blutentnahmesystemen entnommen und entweder mit EDTA oder Citrat stabilisiert wurde. Mit diesem Produkt werden gereinigte virale Nukleinsäuren erhalten, die für spätere Downstream-Analysen wie (RT)-PCR, qPCR, qRT-PCR oder Sequenzierung verwendet werden und Informationen über Virusinfektionen liefern können. Das Produkt wird von Fachkräften in Diagnostiklabors verwendet.

Das **NucleoSpin® Dx Virus**-Kit ist nicht für Selbsttests oder patientennahe Tests geeignet. Vom Benutzer wird Erfahrung mit molekularbiologischen Techniken erwartet; dazu zählt auch Erfahrung mit Serum, Plasma und anderen potentiell infektiösen menschlichen Probenmaterialien.

Es empfiehlt sich die Verwendung geeigneter Kontrollen, z. B. von internen Kontrollen, Extraktionskontrollen, Positiv- und Negativkontrollen.

2.2 Anwendungseinschränkungen des Produkts

Das **NucleoSpin® Dx Virus**-Kit ist nicht zur Verwendung mit menschlichem Vollblut, Gewebe, Stuhlproben oder kultivierten Zellen geeignet.

Die Leistungsfähigkeit des Kits mit anderen Proben zellfreier Flüssigkeiten wie Urin oder Liquor wurde nicht untersucht.

Ebenso ist das Kit nicht für die Isolierung und Reinigung von Bakterien-, Pilz- oder Parasiten-Nukleinsäuren aus humanen Proben oder für die Isolierung von viralen Nukleinsäuren aus humanen Abstrichproben oder mit anderen Systemen gewonnenen Proben bestimmt.

Neben humanen Proben können auch frische und gefrorene tierische Proben problemlos mit dem **NucleoSpin® Dx Virus**-Kit verwendet werden. Solche Proben können unter anderem Serum, Plasma oder Abstriche sein. Es ist zu beachten, dass die CE-Kennzeichnung für IVD bei diesem Kit nicht für Tierproben gilt, sondern ausschließlich für die Verwendung in der Humandiagnostik.

2.3 Qualitätskontrolle

In Übereinstimmung mit dem Qualitätsmanagementsystem von MACHEREY-NAGEL wird zur Gewährleistung einer gleichbleibenden Produktqualität jede Charge des **NucleoSpin® Dx Virus**-Kits nach vorgegebenen Spezifikationen getestet.

2.4 Einleitung und Spezifikationen des Kits

NucleoSpin® Dx Virus basiert auf der bewährten **NucleoSpin®**-Silikamembran-Technologie und bietet eine einfache Methode zur gleichzeitigen Isolierung viraler RNA und viraler DNA aus 150 µL einer Serum-oder Plasmaprobe. Die gereinigte RNA und DNA kann für Downstream-Amplifikationen wie RT-PCR oder PCR verwendet werden.

Das Verfahren von **NucleoSpin® Dx Virus** besteht aus einer Reihe von einfachen Schritten:

Zunächst werden die Serum-oder Plasmaproben in Gegenwart von chaotropen Salzen lysiert. Für die Reinigung der viralen DNA wird der Lyse-Reaktion Proteinase K zugesetzt. Lysepuffer und Ethanol schaffen geeignete Bedingungen für die Bindung von Nukleinsäuren an die Silikamembran der **NucleoSpin® Dx Virus Columns**. Die Carrier-RNA verbessert die Bindung und Ausbeute von niedrigkonzentrierter viraler RNA und DNA. Verunreinigungen (potenzielle PCR-Inhibitoren) wie Salze, Metaboliten und lösliche makromolekulare Zellbestandteile werden in Waschschritten mit den ethanolischen Puffern RAW und RAV3 entfernt. Die Nukleinsäuren werden schließlich in 50 µL Niedersalzpuffer oder Wasser eluiert.

Carrier-RNA

Für ein optimales Ergebnis ist eine Carrier-RNA enthalten. Die Carrier-RNA verbessert die Bindung der viralen Nukleinsäuren an die NucleoSpin®-Säulen und verringert das Risiko der Degradierung viraler RNA. Bitte beachten Sie, dass Eluate des NucleoSpin® Dx Virus-Kits sowohl virale Nukleinsäuren als auch Carrier-RNA enthalten, wobei die Menge der Carrier-RNA die Menge der viralen Nukleinsäuren überschreiten kann. Bei Verwendung der Carrier-RNA ist es daher nicht möglich, die mit dem Kit isolierten Nukleinsäuren mit Hilfe von Photometrie oder Fluorometrie zu quantifizieren. Zur Quantifizierung werden deshalb andere Methoden wie spezifische quantitative PCR-oder RT-PCR-Systeme empfohlen. Darüber hinaus kann Carrier-RNA in seltenen Fällen PCR-Reaktionen hemmen. Die Menge an zugegebener Carrier-RNA kann daher je nach dem jeweils verwendeten PCR-System sorgfältig optimiert werden.

Kit-Spezifikationen

- **NucleoSpin® Dx Virus** ist für die schnelle Präparation von hochreiner viraler RNA und DNA (z. B. HCV, HIV, HBV, CMV, H1N1) aus Plasma und Serum konzipiert.
- **NucleoSpin® Dx Virus** ist für 150 µL einer Serum-oder Plasmaprobe geeignet.
- Die mit **NucleoSpin® Dx Virus** isolierten und gereinigten viralen Nukleinsäuren können sowohl in qualitativen Anwendungen (z. B. RT-PCR oder PCR für das Blut-Screening) als auch in quantitativen Anwendungen (z. B. Nachweis der Viruslast durch qPCR) unter Verwendung diagnostischer Nukleinsäure-Amplifikationstechniken genutzt werden.
- In diesem Benutzerhandbuch sind Protokolle für die Isolierung von viraler RNA, viraler DNA und die gleichzeitige Isolierung von viraler RNA und DNA enthalten.
- Die aufbereiteten Nukleinsäuren eignen sich für Anwendungen wie die automatisierte Fluoreszenz-DNA-Sequenzierung, RT-PCR oder jede Art von Enzymreaktion. Die Nachweisgrenze für bestimmte Viren hängt von den einzelnen Verfahren ab (z. B.

hausinterne nested (RT-) PCR). Um Unregelmäßigkeiten in den Ergebnissen der Diagnostik zu minimieren, sollten zur Überwachung des Reinigungs-, Amplifikations- und Detektionsprozesses für Downstream-Anwendungen geeignete Kontrollen (z. B. Extraktionskontrollen, Positiv-/Negativkontrollen) eingesetzt werden.

- Neben humanen Proben können auch frische und gefrorene tierische Proben problemlos mit dem **NucleoSpin® Dx Virus**-Kit verwendet werden. Solche Proben können unter anderem Serum, Plasma oder Abstriche sein. Es ist zu beachten, dass die CE-Kennzeichnung für IVD bei diesem Kit nicht für Tierproben gilt, sondern ausschließlich für die Verwendung in der Humandiagnostik.

Tabelle 1: Übersicht der Kit-Spezifikationen

Parameter	NucleoSpin® Dx Virus
Technologie	Silikamembran-Technologie
Probenmaterial	Serum oder Plasma
Probenvolumen	150 µL
Elutionsvolumen	50 µL
Präparationszeit	30 Min / 4 – 6 Präp.
Prozessierung	Zentrifugation

2.5 Analytische und klinische Leistungsfähigkeit

Der lineare Bereich des **NucleoSpin® Dx Virus** -Verfahrens wurde für HCV-RNA und HBV-DNA in Downstream-Diagnostikassays (Abbildung 1 und Abbildung 2) bestimmt. Das Kit weist über mehrere Größenordnungen hinweg eine Linearität auf und umfasst relevante Virustiter für diagnostische Zwecke. Die Reproduzierbarkeit innerhalb eines Laufs wurde mit RT-qPCR von MS2-RNA und qPCR von T7-DNA getestet. Für sechs Spike-Mengen – jeweils in dreifacher Ausführung, die mehrere Größenordnungen abdeckt – betrug der Variationskoeffizient (CV) der Cp-Werte 0,2–0,9 % für T7-DNA und 0,6–5,6 % für MS2-RNA. Die Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Läufen wurde in 2 unabhängigen Läufen getestet. Bei jeweils 6 Plasmaproben betrug der Unterschied zwischen den durchschnittlichen Ct-Werten der beiden Läufe 0,1 Zyklen, was einem Unterschied von 0,4 % zwischen den durchschnittlichen Ct-Werten der beiden Läufe entspricht. Die Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Chargen wurde mit drei Chargen des NucleoSpin® Dx Virus getestet. Für jede Charge (n= 6) wurde gDNA aus Plasmaproben isoliert. Der durchschnittliche Ct-Wert für die drei getesteten Chargen betrug 27,63 Ct mit einer Standardabweichung von 0,07 Ct-Wert. In einem ähnlichen Ansatz wurde ein MS2-RNA-Spike aus Plasmaproben isoliert und mittels qRT-PCR analysiert. Der durchschnittliche Ct-Wert für die drei getesteten Chargen betrug 25,34 Ct mit einer Standardabweichung von 0,25 Ct-Wert.

Die Reproduzierbarkeit zwischen einzelnen Bedienern wurde mit RT-qPCR von MS2-RNA getestet. Bei zwei Durchläufen, die von zwei Bedienern mit jeweils sechs Plasmaproben durchgeführt wurden, betrug der Unterschied zwischen den durchschnittlichen Ct-Werten der beiden Bediener 0,6 Zyklen, was einem Unterschied von 3 % zwischen den durchschnittlichen Ct-Werten der beiden Bediener entspricht.

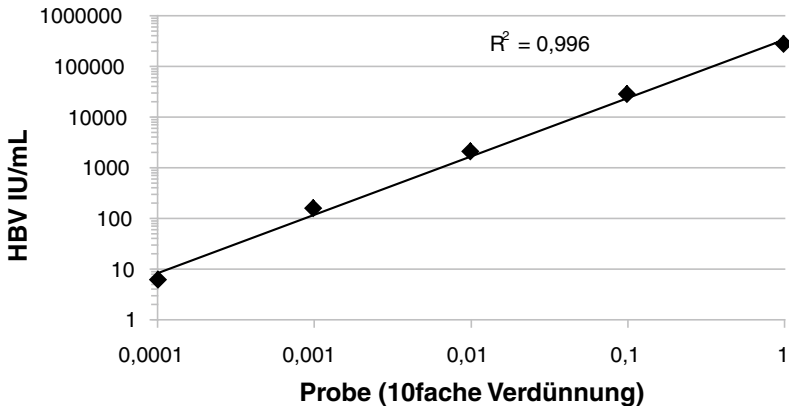


Abbildung 1 Verdünnungsreihe einer Plasmaprobe mit hoher HBV-Viruslast.
Echtzeit-PCR von HBV-DNA: Artus RealArt HBV-DNA, Quantifizierung im Roche LightCycler® 480.

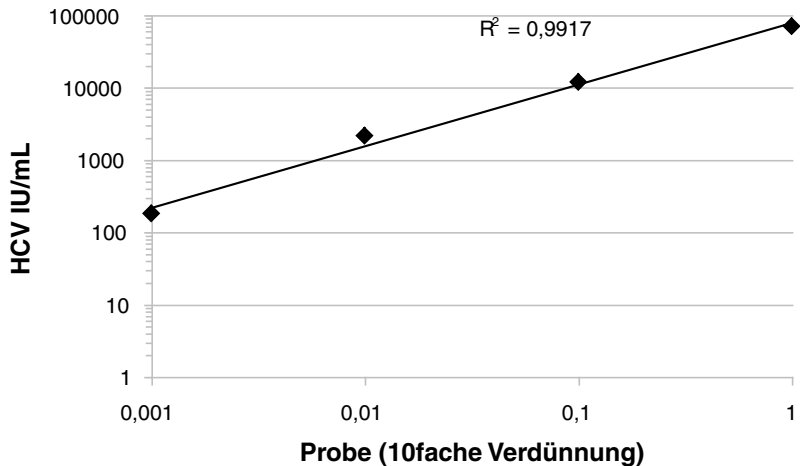


Abbildung 2 Verdünnungsreihe einer Plasmaprobe mit hoher HCV-Viruslast.

Echtzeit-RT-PCR von HCV-RNA: Artus RealArt HCV-RNA, Quantifizierung im Roche LightCycler® 480.

Zur Bewertung der klinischen Leistungsfähigkeit wurden virale Nukleinsäuren aus Plasmaproben isoliert und in qPCR- und RT-qPCR-Assays amplifiziert. Die mit NucleoSpin® Dx Virus gewonnene Viruslast wurde mit einem Referenzsystem (automatisiertes Nukleinsäure-Isolierungssystem von Abbott) verglichen. Für jedes Virus wurden 8 positive und 2 negative Proben sowie 1 positive und 1 negative Kontrolle evaluiert. Für HBV lagen die diagnostische Sensitivität und die diagnostische Spezifität bei 100 %. Für HCV lag die diagnostische Sensitivität bei 89 %, während die diagnostische Spezifität 100 % betrug. Bei HIV lag die diagnostische Sensitivität bei 78 % und die diagnostische Spezifität bei 100 %.

Der Einsatz von **NucleoSpin® Dx® Virus** in der *In-vitro*-Diagnostik wird in den folgenden Publikationen beispielhaft beschrieben:

Raharinosy, V. *et al.* (2019) Fast, Sensitive and Specific Detection of Thailand orthohantavirus and its Variants Using One-Step Real-Time Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction Assay. *Viruses*, 11(8), 718.

Kassela, K. *et al.* (2019) Intergenotypic 2k/1b hepatitis C virus recombinants in the East Macedonia and Thrace region of Greece. *Ann Gastroenterol.*, 32(1), 88–92.

Mousavi, S. H. *et al.* (2019) First Report of Prevalence of Blood-Borne Viruses (HBV, HCV, HIV, HTLV-1 and Parvovirus B19) Among Hemophilia Patients in Afghanistan. *Sci Rep.*, 9(1), 7259.

Hesamizadeh, K. *et al.* (2016) Molecular Epidemiology of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpes Virus, and Risk Factors in HIV-infected Patients in Tehran, 2014. *Iran Red Crescent Med J.*, 18(11), e32603.

Lescure, F.-X. *et al.* (2020) Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(6), 697.

Thacker, V. V. *et al.* (2020) Rapid endothelialitis and vascular inflammation characterise SARS-CoV-2 infection in a human lung-on-chip model, *BioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2020.08.10.243220>, 2020

Gabaro, F. *et al.* (2020) Introductions and early spread of SARS-CoV-2 in France, BioRxiv, <https://doi.org/10.1101/2020.04.24.059576>

2.6 Anmerkungen zur Probenqualität und -vorbereitung

- **NucleoSpin® Dx Virus** ist für humane Serum- oder Plasmaproben geeignet. Ein Reinigen der Proben durch Zentrifugation/Filtration vor dem RAV1-Lyseschritt ist unbedingt zu vermeiden, da Viren mit Partikeln oder Aggregaten verbunden sein können.
- Für eine erfolgreiche Nukleinsäurereinigung ist es wichtig, ein homogenes, klares und nichtviskoses Probenlysat zu erhalten, bevor die Bindungsbedingungen angepasst werden und die Probe auf die **NucleoSpin® Dx Virus**-Säule geladen wird. Überprüfen Sie alle Lysate (insbesondere von alten oder gefrorenen Proben) auf Präzipitate. Die Inkubation mit dem Puffer RAV1 kann verlängert werden, um restliche Zellstrukturen, Präzipitate und Viruspartikel aufzulösen und zu verdauen. Die RNA ist jedoch empfindlich und eine längere Inkubation kann zu einer geringeren Ausbeute führen.

2.7 Anmerkungen zur Elution

- Die reinen Nukleinsäuren werden schließlich unter Bedingungen mit geringer Ionenstärke mit RNase-freiem H₂O (pH ca. 7–8) oder leicht alkalischem Puffer RE (5 mM Tris-HCl; pH 8,5) eluiert; beides ist im Lieferumfang von **NucleoSpin® Dx Virus** enthalten.
- Die RNA ist mit dem RNase-freien H₂O und die DNA mit dem Elutionspuffer RE zu eluieren.
- Um beide Arten von Nukleinsäuren zusammen zu eluieren, verwenden Sie das im Kit enthaltene RNase-freie H₂O und wärmen Sie dieses auf 70 °C vor.

Lagerung von Nukleinsäuren

Empfehlung:

Kurzfristige Lagerung (bis zu 24 Stunden): 2–8 °C

Langfristige Lagerung (über 24 Stunden): -20 °C

3 Lagerungsbedingungen und Vorbereitung der Arbeitslösungen

Achtung! Der Puffer RAV1 enthält Guanidiniumthiocyanat und der Puffer RAW enthält Guanidinhydrochlorid; diese beiden Stoffe können in Verbindung mit Bleichmittel (Natriumhypochlorit) hochreaktive Verbindungen bilden. Bleichmittel oder säurehaltige Lösungen dürfen daher NIEMALS direkt in den Probenaufbereitungsabfall gelangen.

- Überprüfen Sie nach Erhalt des Kits sämtliche Komponenten auf Schäden. Sollte der Inhalt des Kits (z. B. Pufferflaschen oder Blisterverpackungen) beschädigt sein, wenden Sie sich bitte an den technischen Support und Kundendienst von MACHEREY-NAGEL oder an Ihren Händler vor Ort.
- Beschädigte Kit-Bestandteile dürfen nicht verwendet werden.
- Nach Erhalt ist das **NucleoSpin® Dx Virus**-Kit bei Raumtemperatur (18–25 °C) zu lagern. Es ist NICHT erforderlich, das Kit bei der Lieferung zu öffnen und einzelne Komponenten zur separaten **Lagerung** zu entnehmen.
- Die **NucleoSpin® Dx Virus Columns** können bis zu dem auf der Kit-Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.
- Verwenden Sie RNase-freie Gerätschaften.

Bereiten Sie vor dem Start des **NucleoSpin® Dx Virus**-Protokolls Folgendes vor:

- **Lyophilized Proteinase K** (lyophilisierte Proteinase K) kann bei Raumtemperatur (18–25 °C) bis zum Verfallsdatum gelagert werden, ohne dass die Leistung nachlässt. Fügen Sie vor der ersten Verwendung des Kits die angegebene Menge **Proteinase Buffer PB** (Proteinasepuffer PB) hinzu, um die lyophilisierte Proteinase K aufzulösen. Rekonstituierte Proteinase K ist bei -20 °C bis zu 6 Monate haltbar, jedoch nur innerhalb des Verfallsdatums.
- **Carrier-RNA**: Fügen Sie vor der ersten Verwendung 1 mL **Lysis Buffer RAV1** (Lysepuffer RAV1) in das Fläschchen mit der **Carrier RNA** (Carrier-RNA) hinzu. Lösen Sie die Carrier-RNA auf und pipettieren Sie die Lösung zurück in die RAV1-Flasche. Anmerkung: Aufgrund des Herstellungsverfahrens und der geringen Menge an Carrier-RNA, die in dem Fläschchen enthalten ist, ist die Carrier-RNA möglicherweise kaum sichtbar.

Der Lysepuffer RAV1 mit Carrier-RNA ist bei 4 °C bis zu 4 Wochen haltbar. Eine Lagerung bei 4 °C oder darunter kann zu Salzausfällungen führen. Falls Ausfällungen sichtbar sind, müssen diese vor der Verwendung durch Erwärmen auf 40–60 °C für maximal 5 Minuten aufgelöst werden. In Puffer RAV1 gelöste und bei -20 °C gelagerte Carrier-RNA ist mindestens ein Jahr lang stabil.

Der Puffer RAV1, der die Carrier-RNA enthält, darf nicht öfter als 4-mal erwärmt werden! Häufiges Erwärmen, Temperaturen über 80 °C und eine längere Wärmeinkubation beschleunigen die Degradierung der Carrier-RNA.

- **Wash Buffer RAV3 (Waschpuffer RAV3)**: Geben Sie die angegebene Menge (siehe Tabelle unten oder auf der Flasche) Ethanol (96–100 %) zum **Wash Buffer RAV3 Concentrate** (Waschpuffer RAV3-Konzentrat) hinzu. Vermerken Sie auf dem Flaschenetikett, dass das Ethanol hinzugefügt wurde. Lagern Sie den Waschpuffer RAV3

bei Raumtemperatur. Der Waschpuffer RAV3 ist bei Raumtemperatur (18–25 °C) bis zu einem Jahr haltbar, jedoch nur innerhalb des Verfallsdatums.

NucleoSpin® Dx Virus	
REF	50 Präp. 740895.50
Wash Buffer RAV3 (Concentrate)	12 mL 48 mL Ethanol hinzufügen
Proteinase K	30 mg 1,35 mL Proteinase Buffer PB hinzufügen

4 Sicherheitshinweise

Tragen Sie bei der Arbeit mit dem **NucleoSpin® DX Virus**-Kit geeignete Schutzkleidung (z. B. Laborkittel, Einweghandschuhe und Schutzbrille). Weitere Informationen finden Sie in den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (MSDS), die online unter <http://www.mn-net.com/msds> verfügbar sind.



Vorsicht: Guanidinhydrochlorid in Puffer RAW und Guanidiniumthiocyanat in Puffer RAV1 können in Verbindung mit Bleichmitteln hochreaktive Verbindungen bilden! Bleichmittel oder säurehaltige Lösungen dürfen daher niemals direkt in den Probenaufbereitungsabfall gelangen.

Der mit dem **NucleoSpin® DX Virus**-Kit erzeugte Abfall wurde nicht auf infektiöse Rückstände getestet. Eine Kontamination des Flüssigabfalls mit infektiösen Rückständen ist aufgrund des stark denaturierenden Lysepuffers und der Proteinase-K-Behandlung sehr unwahrscheinlich, kann jedoch nicht völlig ausgeschlossen werden. Flüssigabfälle sind daher als infektiös zu betrachten und müssen gemäß den örtlichen Sicherheitsvorschriften behandelt und entsorgt werden.

4.1 Entsorgung

Entsorgen Sie gefährliche, infektiöse oder biologisch kontaminierte Materialien auf sichere und vertretbare Weise und in Übereinstimmung mit allen örtlichen und gesetzlichen Vorschriften.

5 Reinigung viraler Nukleinsäuren mit NucleoSpin® Dx Virus

Im Folgenden finden Sie die Anweisungen des Verfahrens zur Bearbeitung einer einzelnen Plasma- oder Serumprobe. Es können jedoch mehrere Proben gleichzeitig bearbeitet werden; die Anzahl hängt von der Kapazität der verwendeten Mikrozentrifuge ab.

Vor Beginn des Verfahrens:

- Überprüfen Sie, ob der Waschpuffer RAV3 und die Proteinase K gemäß Abschnitt 3 hergestellt wurden.
- Überprüfen Sie, ob die Carrier-RNA im Lysepuffer RAV1 gemäß Abschnitt 3 gelöst wurde.
- Stellen Sie sicher, dass 96 – 100 %iges Ethanol (denaturiert oder nicht denaturiert) bereitsteht, damit die Bedingungen für die Bindung der Nukleinsäuren angepasst werden können.
- Stellen Sie einen Inkubator (z. B. einen Heizblock) oder ein Wasserbad auf 70 °C ein.
- Bringen Sie die Plasma-/Serumproben auf Raumtemperatur (18 – 25 °C). Stellen Sie sicher, dass die Proben gut gemischt sind.
- Wenn sich im Lysepuffer RAV1 oder im Puffer RAW eine Ausfällung gebildet hat, inkubieren Sie den Puffer bei 40 – 60 °C, bis sich die Ausfällung aufgelöst hat.
- Generell dürfen Reagenzien und Säulen aus verschiedenen Kits und Chargen nicht gemischt werden.
- Erhitzen Sie für die abschließende Elution der Nukleinsäuren RNase-freies H₂O/ Elutionspuffer RE auf 70 °C.
- Geben Sie die Proteinase-K-Lösung nicht direkt in den Lysepuffer RAV1. Vor der Zugabe von Proteinase K muss die Probe mit dem Lysepuffer RAV1 vermischt werden.
- Sämtliche Zentrifugationsschritte sind bei Raumtemperatur (18 – 25 °C) durchzuführen.

5.1 Übersichtsprotokoll

Das Übersichtsprotokoll dient nur zur Ergänzung:

Lesen Sie das detaillierte Protokoll (Abschnitt 5.2-5.4) sorgfältig durch, bevor Sie mit dem Verfahren beginnen.

Anmerkung: Die Protokolle unterscheiden sich einzig im Proteinase-K-Lyseschritt (Schritt 3) und im Elutionsschritt (Schritt 24).

		Verfahren zur Isolierung viraler RNA (Abschnitt 5.2)	Verfahren zur Isolierung viraler DNA (Abschnitt 5.3)	Verfahren zur Isolierung von viraler RNA +DNA (Abschnitt 5.4)
Probe bereitstellen, Viren lysieren, Lysat reinigen	1	150 µL Probe in Lyseröhrchen	150 µL Probe in Lyseröhrchen	150 µL Probe in Lyseröhrchen
	2	600 µL Buffer RAV1 mit Carrier-RNA	600 µL Buffer RAV1 mit Carrier-RNA	600 µL Buffer RAV1 mit Carrier-RNA
	3	<i>Anmerkung: Für die Isolierung viraler RNA ist keine Proteinase K notwendig</i>	20 µL Proteinase K (mindestens 1 Minute bei Raumtemperatur inkubieren)	20 µL Proteinase K (mindestens 1 Minute bei Raumtemperatur inkubieren)
	4	Mischung auf- und abpipettieren und gut vortexen	Mischung auf- und abpipettieren und gut vortexen	Mischung auf- und abpipettieren und gut vortexen
	5	5 Min. lang bei 70 °C inkubieren	5 Min. lang bei 70 °C inkubieren	5 Min. lang bei 70 °C inkubieren
	6	Kurze Zentrifugation, um Flüssigkeit vom Deckel zu entfernen.	Kurze Zentrifugation, um Flüssigkeit vom Deckel zu entfernen.	Kurze Zentrifugation, um Flüssigkeit vom Deckel zu entfernen.
Bindungsbedingungen anpassen	7	600 µL Ethanol	600 µL Ethanol	600 µL Ethanol
	8	Mischen durch Vortexen (10–15 Sek.)	Mischen durch Vortexen (10–15 Sek.)	Mischen durch Vortexen (10–15 Sek.)
RNA/DNA binden	9	700 µL Lysat auf die NucleoSpin® Dx Virus Column laden	700 µL Lysat auf die NucleoSpin® Dx Virus Column laden	700 µL Lysat auf die NucleoSpin® Dx Virus Column (Säule) laden
	10	8.000 x g, 1 Min.	8.000 x g, 1 Min.	8.000 x g, 1 Min.

	11	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen
	12	Das restliche Lysat (ca. 650 µL) auf die Säule laden	Das restliche Lysat (ca. 650 µL) auf die Säule laden	Das restliche Lysat (ca. 650 µL) auf die Säule laden
	13	8.000 x g, 1 Min.	8.000 x g, 1 Min.	8.000 x g, 1 Min.
	14	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen
Silika-membran waschen	15	500 µL RAW	500 µL RAW	500 µL RAW
	16	8.000 x g, 1 Min.	8.000 x g, 1 Min.	8.000 x g, 1 Min.
	17	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen
	18	600 µL RAV3	600 µL RAV3	600 µL RAV3
	19	8.000 x g, 1 Min.	8.000 x g, 1 Min.	8.000 x g, 1 Min.
	20	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen überführen
	21	200 µL RAV3	200 µL RAV3	200 µL RAV3
	22	11.000 x g, 3 Min.	11.000 x g, 3 Min.	11.000 x g, 3 Min.
RNA/DNA eluieren	23	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein Elutionsröhrchen überführen	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein Elutionsröhrchen überführen	Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein Elutionsröhrchen überführen
	24	50 µL RNase-free H₂O (70 °C); 1 – 2 Min. inkubieren	50 µL Buffer RE (70 °C); 1 – 2 Min. inkubieren	50 µL RNase-free H₂O (70 °C); 1 – 2 Min. inkubieren
	25	11.000 x g, 1 Min.	11.000 x g, 1 Min.	11.000 x g, 1 Min.

5.2 Verfahren zur Isolierung viraler RNA

- 1 **150 µL Probe** in einem Lyseröhrchen (1,5 mL; mitgeliefert) bereitstellen.
 - 2 **600 µL Buffer RAV1**, der Carrier-RNA enthält, in das Lyseröhrchen geben.
 - 3 *Anmerkung: Proteinase K wird für die Isolierung viraler RNA nicht benötigt.*
 - 4 Pipettieren Sie die Mischung auf und ab und mischen Sie sie kräftig und pulsartig auf einem Vortex Mixer
 - 5 **5 Min.** bei **70 °C** inkubieren.
 - 6 Lyseröhrchen **kurz zentrifugieren** (ca. 1 Sek. bei 2.000 x g), um Tropfen vom Deckel zu entfernen (nur kurz herunterzentrifugieren).
-
- 7 **600 µL Ethanol** (96–100 %ig) zum klaren Lysat geben.
 - 8 Mischen durch Vortexen (10–15 Sek.).
-
- 9 **700 µL des Lysats** vorsichtig auf die **NucleoSpin® Dx Virus Column** laden, die sich in einem Sammelöhrchen befindet, und den Deckel schließen.
 - 10 **1 Min.** bei **8.000 x g** zentrifugieren.
 - 11 Die **NucleoSpin® Dx Virus Column** in ein neues Sammelöhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelöhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
 - 12 **Restliches Lysat** (ca. 650 µL) auf die NucleoSpin® Dx Virus Column laden und den Deckel schließen.
 - 13 **1 Min.** bei **8.000 x g** zentrifugieren.
 - 14 Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelöhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelöhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
-
- 15 **500 µL Buffer RAW** auf die NucleoSpin® Dx Virus Column laden.
 - 16 **1 Min.** bei **8.000 x g** zentrifugieren.
 - 17 Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelöhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelöhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
 - 18 **600 µL Buffer RAV3** zur NucleoSpin® Dx Virus Column geben.
 - 19 **1 Min.** bei **8.000 x g** zentrifugieren.
 - 20 Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelöhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelöhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
 - 21 **200 µL Buffer RAV3** zur NucleoSpin® Dx Virus Column geben.

- 22 3 Min. bei 11.000 x g zentrifugieren.**
-
- 23** Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein Elutionsröhrchen (1,5 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
- 24 50 µL RNase-free H₂O** (vorgeheizt auf 70 °C) zugeben und 1 – 2 Min. inkubieren.
- 25 1 Minute bei 11.000 x g zentrifugieren**, um die Nukleinsäure aus der Säule zu eluieren.
-

5.3 Verfahren zur Isolierung viraler DNA

- 1 **150 µL Probe** in einem Lyseröhrchen (1,5 mL; mitgeliefert) bereitstellen.
 - 2 **600 µL Buffer RAV1**, der Carrier-RNA enthält, in das Lyseröhrchen geben.
 - 3 **20 µL Proteinase K-Lösung** in das Lyseröhrchen geben.
Anmerkung: Proteinase K ist für die Lyse von DNA-Viren erforderlich.
 - 4 Pipettieren Sie die Mischung auf und ab und mischen Sie sie kräftig und pulsartig auf einem Vortex Mixer.
Anmerkung: Die Mischung muss mindestens 1 Minute bei Raumtemperatur inkubiert werden, bevor die Wärmeinkubation beginnt.
 - 5 **5 Min.** bei **70 °C** inkubieren.
 - 6 Lyseröhrchen **kurz zentrifugieren** (ca. 1 Sek. bei 2.000 x g), um Tropfen vom Deckel zu entfernen (nur kurz herunterzentrifugieren).
-
- 7 **600 µL Ethanol** (96–100 %ig) zum klaren Lysat geben.
 - 8 Mischen durch Vortexen (10–15 Sek.).
-
- 9 **700 µL des Lysats** vorsichtig auf die **NucleoSpin® Dx Virus Column** laden, die sich in einem Sammelröhrchen befindet, und den Deckel schließen.
 - 10 **1 Min.** bei **8.000 x g zentrifugieren**.
 - 11 Die **NucleoSpin® Dx Virus Column** in ein neues Sammelröhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
 - 12 **Restliches Lysat** (ca. 650 µL) auf die NucleoSpin® Dx Virus Column laden und den Deckel schließen.
 - 13 **1 Min.** bei **8.000 x g zentrifugieren**.
 - 14 Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
-
- 15 **500 µL Buffer RAW** auf die NucleoSpin® Dx Virus Column laden.
 - 16 **1 Min.** bei **8.000 x g zentrifugieren**.
 - 17 Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
 - 18 **600 µL Buffer RAV3** zur NucleoSpin® Dx Virus Column geben.
 - 19 **1 Min.** bei **8.000 x g zentrifugieren**.

- 20** Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
- 21** **200 µL Buffer RAV3** zur NucleoSpin® Dx Virus Column geben.
- 22** **3 Min.** bei **11.000 x g zentrifugieren**.
-
- 23** Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein Elutionsröhrchen (1,5 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
- 24** **50 µL Buffer RE** (vorgeheizt auf 70 °C) zugeben und 1–2 Min. inkubieren.
- 25** **1 Minute** bei **11.000 x g zentrifugieren**, um die Nukleinsäure aus der Säule zu eluieren.
-

5.4 Verfahren zur gleichzeitigen Isolierung von viraler RNA und DNA

- 1 **150 µL Probe** in einem Lyseröhrchen (1,5 mL; mitgeliefert) bereitstellen.
 - 2 **600 µL Buffer RAV1**, der Carrier-RNA enthält, in das Lyseröhrchen geben.
 - 3 **20 µL Proteinase K-Lösung** in das Lyseröhrchen geben.
Anmerkung: Proteinase K ist für die Lyse von DNA-Viren erforderlich.
 - 4 Pipettieren Sie die Mischung auf und ab und mischen Sie sie kraftig und pulsartig auf einem Vortex Mixer.
Anmerkung: Die Mischung muss mindestens 1 Minute bei Raumtemperatur inkubiert werden, bevor die Wärmeinkubation beginnt.
 - 5 **5 Min.** bei **70 °C** inkubieren.
 - 6 Lyseröhrchen **kurz zentrifugieren** (ca. 1 Sek. bei 2.000 x g), um Tropfen vom Deckel zu entfernen (nur kurz herunterzentrifugieren).
-
- 7 **600 µL Ethanol** (96–100 %ig) zum klaren Lysat geben.
 - 8 Mischen durch Vortexen (10–15 Sek.).
-
- 9 **700 µL des Lysats** vorsichtig auf die **NucleoSpin® Dx Virus Column** laden, die sich in einem Sammelöhrchen befindet, und den Deckel schließen.
 - 10 **1 Min.** bei **8.000 x g zentrifugieren**.
 - 11 Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelöhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelöhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
 - 12 **Restliches Lysat** (ca. 650 µL) auf die NucleoSpin® Dx Virus Column laden und den Deckel schließen.
 - 13 **1 Min.** bei **8.000 x g zentrifugieren**.
 - 14 Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelöhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelöhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
-
- 15 **500 µL Buffer RAW** auf die NucleoSpin® Dx Virus Column laden.
 - 16 **1 Min.** bei **8.000 x g zentrifugieren**.
 - 17 Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelöhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelöhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
 - 18 **600 µL Buffer RAV3** zur NucleoSpin® Dx Virus Column geben.
 - 19 **1 Min.** bei **8.000 x g zentrifugieren**.

- 20** Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein neues Sammelröhrchen (2 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
- 21** **200 µL Buffer RAV3** zur NucleoSpin® Dx Virus Column geben.
- 22** **3 Min.** bei **11.000 x g zentrifugieren**.
-
- 23** Die NucleoSpin® Dx Virus Column in ein Elutionsröhrchen (1,5 mL, mitgeliefert) setzen und das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss aus dem vorherigen Schritt verwerfen.
- 24** **50 µL RNase-free H₂O** (vorgeheizt auf 70 °C) zugeben und 1 – 2 Min. inkubieren.
- 25** **1 Minute** bei **11.000 x g zentrifugieren**, um die Nukleinsäure aus der Säule zu eluieren.
-

6 Anhang

6.1 Fehlerbehebung

Problem	Mögliche Ursache und Vorschläge
Geringe Mengen oder gar keine viralen Nukleinsäuren im Eluat	<p><i>Geringe Viruslast in der Probe</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Die Ausbeute an Nukleinsäure hängt von der Viruslast in der Probe ab.
	<p><i>Probleme mit der Carrier-RNA</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Carrier-RNA nicht zugegeben. Siehe Anmerkungen zur Lagerung von Puffer RAV1 mit Carrier-RNA (Abschnitt 3).
	<p><i>Evtl. Notwendigkeit eines Proteinase-K-Verdau</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Wählen Sie das geeignete Protokoll für die Isolierung viraler RNA oder viraler DNA, siehe Abschnitt 5.1.
Probleme beim anschließenden Nachweis	<p><i>Virale Nukleinsäuren sind degradiert</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Die Proben müssen sofort verarbeitet werden. Sorgen Sie für angemessene Lagerbedingungen bis zur Verarbeitung. Überprüfen Sie, ob alle Puffer korrekt zubereitet und gelagert wurden. Im Zweifelsfall verwenden Sie neue Aliquots von Puffer RAV1, Carrier-RNA und Elutionspuffer RE.
	<p><i>Verringerte Sensitivität</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Ändern Sie das Volumen des Eluats, das der PCR/RT-PCR zugesetzt wird.
	<p><i>Verschleppung von Ethanol</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Verlängern Sie den Zentrifugationsschritt (Schritt 22), um den Puffer RAV3 vollständig zu entfernen.

Bitte wenden Sie sich an:
 MACHEREY-NAGEL Deutschland
 Tel.: +49 (0) 24 21 969 270
 E-Mail: TECH-BIO@mn-net.com

6.2 Meldepflicht

Bitte beachten Sie, dass jeder schwerwiegende Vorfall im Zusammenhang mit dem Produkt unverzüglich dem Hersteller sowie der zuständigen Behörde des europäischen Mitgliedstaates, in dem der Vorfall aufgetreten ist, zu melden ist. Europäische Vigilanz-Kontaktstellen: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en

6.3 Allgemeine Literatur

Thiemann F. *et al.* (2006) Leitfaden Molekulare Diagnostik -Grundlagen, Gesetze, Tipps und Tricks, WILEY-VCH, ISBN 3-527-31471-7.

Sawoo, O. *et al.* (2014) Cleavage of Hemagglutinin-Bearing Lentiviral Pseudotypes and Their Use in the Study of Influenza Virus Persistence. PLoS One. 9(8), e106192. Online veröffentlicht am 28. Aug 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0106192.









Sundarajan S. *et al.* (2018) Addressing false negatives in viral diagnostic polymerase chain reactions: A new approach. International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research, IJAMBR 6, 32 – 49.

6.4 Bestellinformationen

Produkt	REF	Packung mit
Kits mit CE-Kennzeichnung für IVD		
NucleoSpin® Dx Virus	740895.50	50
NucleoSpin® Dx Blood	740899.50/.250	50/250
Kits für Forschungszwecke		
NucleoSpin® Virus	740983.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® RNA Virus F	740958	25
NucleoSpin® totalRNA FFPE XS	740969.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® totalRNA FFPE	740982.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® DNA FFPE XS	740980.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® Blood	740951.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® Tissue	740952.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® Tissue XS	740901.10/.50/.250	10/50/250
NucleoSpin® miRNA	740971.10/.50/.250	10/50/250
Proteinase K	740506	100 mg
Collection Tubes (2 mL)	740600	1000

Weitere Produktinformationen auf www.mn-net.com.

6.5 Erläuterung der Symbole

 REF	Artikelnummer		Ausreichend für < n > Tests
 LOT	Chargenidentifizierung		Zulässiger Lagertemperaturbereich
	Hersteller		Zu verwenden bis
 IVD	Produkte für die <i>In-vitro</i> -Diagnostik		Vorsicht: Weitere Informationen im Benutzerhandbuch
	Bitte Gebrauchsanweisung lesen		Nicht wiederverwenden

6.6 Nutzungseinschränkung des Produkts / Garantie

Das **NucleoSpin® Dx Virus**-Kit ist ein allgemeines System für die Isolierung und Reinigung von viralen Nukleinsäuren aus humanen Plasma- oder Serumproben für die anschließende *In-vitro*-Diagnostik.

Das Kit ist für alle Downstream-Anwendungen geeignet, bei denen eine enzymatische Amplifikation und Detektion von RNA und DNA zur Anwendung kommt (z. B. RT-PCR, PCR).

Alle Diagnoseergebnisse, die unter Verwendung von Nukleinsäuren, die mit dem **NucleoSpin® Dx Virus**-Kit isoliert wurden, in Verbindung mit einem Diagnostikassay erzielt werden, sind unter Berücksichtigung zusätzlicher klinischer oder labordiagnostischer Befunde zu interpretieren.

Das **NucleoSpin® Dx Virus**-Kit liefert kein Diagnoseergebnis. Es liegt in der alleinigen Verantwortung des Anwenders, das Kit in Verbindung mit einem Downstream-*In-vitro*-Diagnosetest zu verwenden und zu validieren. NUR Produkte von MACHEREY-NAGEL, die speziell als IVD gekennzeichnet sind, sind für den Einsatz in der *In-vitro*-Diagnostik geeignet.

Sicherheitshinweise entnehmen Sie bitte dem entsprechenden Kapitel im Benutzerhandbuch. Das **NucleoSpin® Dx Virus**-Kit darf ausschließlich in einer angemessenen Testumgebung (d. h. in einem geeigneten Laborbereich) verwendet werden. Der jeweilige Anwender haftet für alle Schäden, die sich aus der Anwendung des **NucleoSpin® Dx Virus**-Kits für einen vom im Benutzerhandbuch angegebenen bestimmungsgemäßen Verwendungszweck abweichenden Gebrauch ergeben.

Dieses Produkt von MACHEREY-NAGEL wird mit einer Dokumentation ausgeliefert, in der die Spezifikationen und andere technische Informationen enthalten sind. MACHEREY-NAGEL gewährleistet die Einhaltung der angegebenen Spezifikationen. Die einzige Verpflichtung von MACHEREY-NAGEL und das einzige Rechtsmittel des Kunden beschränken sich auf den kostenlosen Ersatz der Produkte, falls diese nicht die zugesicherten Leistungen erbringen. Ergänzend wird auf die Allgemeinen Geschäftsbedingungen von MACHEREY-NAGEL verwiesen, die auf der Preisliste abgedruckt sind. Bitte wenden Sie sich an uns, wenn Sie ein zusätzliches Exemplar erhalten möchten.

MACHEREY-NAGEL übernimmt keine Garantie und haftet weder für Schäden oder Defekte, die durch Transport und Handhabung (Transportversicherung für Kunden ausgeschlossen) oder durch

Versehen oder unsachgemäßen oder anormalen Gebrauch dieses Produkts entstehen, noch für Defekte an Produkten oder Komponenten, die nicht von MACHEREY-NAGEL hergestellt wurden, oder Schäden, die durch solche nicht von MACHEREY-NAGEL stammenden Komponenten oder Produkte entstehen. MACHEREY-NAGEL übernimmt keine weiteren Garantien jeglicher Art und SCHLIEßT AUSDRÜCKLICH ALLE ANDEREN GARANTIEEN JEGLICHER ART AUS, DIREKT ODER INDIREKT, AUSDRÜCKLICH ODER STILLSCHWEIGEND, EINSCHLIEßLICH, ABER NICHT BESCHRÄNKT AUF DIE EIGNUNG, REPRODUZIERBARKEIT, HALTBARKEIT, EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK ODER GEBRAUCH, MARKTGÄNGIGKEIT, DEN ZUSTAND ODER JEGLICHE ANDERE ANGELEGENHEIT IN BEZUG AUF PRODUKTE VON MACHEREY-NAGEL. In keinem Fall haftet MACHEREY-NAGEL für Ansprüche auf andere Schäden, ob direkt, indirekt, beiläufig, kompensatorisch, vorhersehbar, als Folge oder speziell (einschließlich, aber nicht beschränkt auf Nutzungs-, Umsatz- oder Gewinnverluste), ob auf der Grundlage von Garantie, Vertrag, unerlaubter Handlung (einschließlich Fahrlässigkeit) oder verschuldensunabhängiger Haftung, die im Zusammenhang mit dem Verkauf oder der Nichterfüllung der angegebenen Spezifikationen durch Produkte von MACHEREY-NAGEL entstehen. Diese Garantie ist ausschließlich und MACHEREY-NAGEL übernimmt keine sonstige ausdrückliche oder stillschweigende Garantie. Die hierin enthaltene Garantie sowie die Daten, Spezifikationen und Beschreibungen dieses Produkts von MACHEREY-NAGEL, die in den von MACHEREY-NAGEL veröffentlichten Katalogen und der Produktliteratur erscheinen, sind die alleinigen Erklärungen von MACHEREY-NAGEL bezüglich des Produkts und der Garantie. Andere schriftliche oder mündliche Erklärungen oder Zusicherungen von Mitarbeitern, Agenten oder Vertretern von MACHEREY-NAGEL, mit Ausnahme von schriftlichen Erklärungen, die von einem ordnungsgemäß bevollmächtigten Vertreter von MACHEREY-NAGEL unterzeichnet sind, sind unzulässig; der Kunde darf sich nicht auf sie verlassen und sie sind nicht Teil des Kaufvertrags oder dieser Garantie.

Änderungen der Produktversprechen sind vorbehalten. Wenden Sie sich daher bitte an unseren technischen Kundendienst, um die aktuellsten Informationen über Produkte von MACHEREY-NAGEL zu erhalten. Für allgemeine wissenschaftliche Informationen können Sie sich auch an Ihren Händler vor Ort wenden. Die in der Literatur von MACHEREY-NAGEL erwähnten Anwendungen dienen nur der Information. MACHEREY-NAGEL übernimmt keine Gewähr dafür, dass alle Anwendungen in MACHEREY-NAGEL-Laboratorien mit MACHEREY-NAGEL-Produkten getestet wurden. MACHEREY-NAGEL übernimmt keine Garantie für die Korrektheit dieser Anwendungen.

Zuletzt aktualisiert: April 2022 / Rev. 07

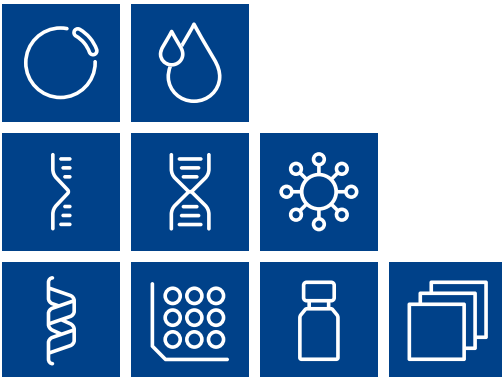
Grund für die Revision:

Hinzufügung von analytischen und klinischen Leistungsdaten zu Kapitel 2.5. Hinweis auf neue Sprachen im Benutzerhandbuch (Kapitel 1.3).

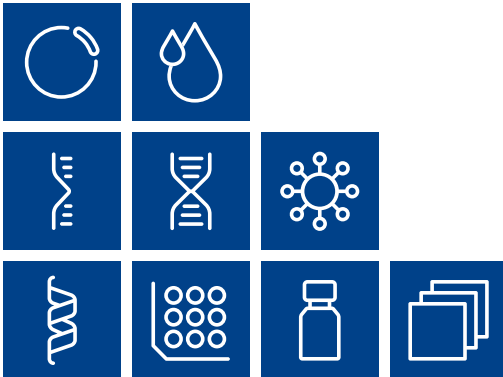
Markenzeichen:

LightCycler ist ein eingetragenes Warenzeichen der Roche Gruppe
NucleoSpin® ist ein Warenzeichen der MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG

Alle verwendeten Namen und Bezeichnungen können Marken, Warenzeichen oder eingetragene Kennzeichen ihrer jeweiligen Eigentümer sein – auch wenn es sich dabei nicht um besondere Bezeichnungen handelt. Die Erwähnung von Produkten und Marken stellt lediglich eine Art von Information dar (d. h. sie verstößt nicht gegen Warenzeichen und Marken und kann nicht als eine Art von Empfehlung oder Bewertung angesehen werden). In Bezug auf diese Produkte oder Dienstleistungen können wir keine Garantien hinsichtlich Auswahl, Leistungsfähigkeit oder Betrieb übernehmen.



Plasmid DNA
Clean up
RNA
DNA
Viral RNA and DNA
Protein
High throughput
Accessories
Auxiliary tools



www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennener Str. 11
52355 Düren · Germany

DE Tel.: +49 24 21 969-0
CH Tel.: +41 62 388 55 00
FR Tel.: +33 388 68 22 68
US Tel.: +1 888 321 62 24

info@mn-net.com
sales-ch@mn-net.com
sales-fr@mn-net.com
sales-us@mn-net.com