

EZ1[®] DSP Virus Kit Instructions for Use (Handbook) (Használati útmutató – kézikönyv)



48

Version 5 (5-ös verzió)



In vitro diagnosztikai használatra
A BioRobot[®] EZ1 DSP, EZ1 Advanced és EZ1 Advanced XL
készülékekkel való használatra
Az EZ2[®] Connect MDx készülékkel való használatra
(1.1-es vagy újabb verziószámú szoftver)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NÉMETORSZÁG



1129846HU

Tartalom

Alkalmazási terület	4
Célfelhasználó	4
Leírás and a kit működési elve	5
Összefoglalás és magyarázat	6
Szállított anyagok	8
A kit tartalma	8
A kit komponensei	9
Szükséges, de nem biztosított anyagok	10
Figyelmeztetések és óvintézkedések	12
Biztonsági információk	12
Óvintézkedések	14
Vészhelyzeti információk	14
Ártalmatlanítás	15
A reagensek tárolása és kezelése	16
Felbontás után stabilitás	17
A minták kezelése és tárolása	18
Plazma- and szérumminták	18
Székletminták	20
UTM-be levett nazopharingeális tamponminták	20
Liquor (CSF) minták	20
Gram-pozitív baktériumminták	21
Elúciós térfogatok és az eluátum kezelése	21

A virális nukleinsavak/bakteriális DNS tárolása	21
Eljárás	22
Az EZ2 Connect MDx készülékek használata	22
Munkavégzés az EZ1 készülékekkel	29
Hordozó RNS (CARRIER) előkészítése.....	36
Belső kontroll (IC) használata.....	37
Protokoll: Széklet előkezelése.....	38
Protokoll: Előkezelés a Gram-pozitív baktériumok genomikus DNS-ének izolálásához.....	40
Protokoll: Virális nukleinsavak és bakteriális DNS tisztítása az EZ2 Connect MDx készülék használatával.....	41
Protokoll: Virális nukleinsavak és bakteriális DNS tisztítása az EZ1 készülék használatával.....	50
Minőség-ellenőrzés	56
Korlátozások	57
Teljesítményjellemzők	58
Hibaelhárítási útmutató.....	59
Szimbólumok	62
Kapcsolatfelvételi adatok	66
A függelék: Kijelzőn megjelenő üzenetek az EZ1/EZ2 készülékeken.....	67
B függelék: A belső kontroll (IC) mennyiségének kiszámítása	88
C függelék: Mintalap az EZ1 DSP Virus rendszerrel való használathoz.....	92
Rendelési információk	94
Dokumentum átdolgozási előzményei.....	96

Alkalmazási terület

Az EZ1 DSP Virus Kit mágneses részecske technológiát alkalmaz a biológiai mintákban lévő virális nukleinsavak és bakteriális DNS automatizált izolálásra és tisztítására.

Az EZ1 DSP Virus Kit in vitro diagnosztikai célra szolgál.

Célfelhasználó

Ezt a terméket csak a molekuláris biológiai technikák területén járatos, képzett szakemberek, pl. labortechnikusok és orvosok használhatják.

Leírás and a kit működési elve

A mágnesesrészecske-technológia egyesíti a szilícium-dioxid-alapú nukleinsav-tisztítás gyorsaságát és hatékonyságát a mágneses részecskék könnyű kezelhetőségével. A tisztítási eljárást úgy alakították ki, hogy biztosítsa a potenciálisan fertőző minták biztonságos és reprodukálható kezelését. A tisztítási eljárás 4 lépésből áll: lízis, kötés, mosás és eluálás (lásd az alábbi fejezeteket és a 7. oldalon található folyamatábrát). Széklet esetében kötelező a minta előkezelése. Lásd az adott mintaanyaghoz tartozó előkezelési protokollt.

Proteináz K-val végzett lízálás

A minták proteolízisét magas hőmérsékleten, erősen denaturáló feltételek között megy végbe. A lízis proteináz K és lízispuffer jelenlétében megy végbe, amelyek együttesen biztosítják a vírusburok-fehérvék emésztését és a nukleázok inaktiválását.

Kötődés a mágneses részecskékhez

A lízált mintákhoz adott kötőpuffer állítja be a kötési feltételeket. A lízátnak és a mágneses részecskék alapos összekeverése lehetővé teszi a virális nukleinsavak és a bakteriális DNS optimális abszorpcióját a szilícium-dioxid felületen. A só- és pH-viszonyok biztosítják, hogy a proteinek és egyéb szennyezőanyagok – amelyek máskülönben gátolhatják a PCR-t és egyéb downstream enzimreakciókat – ne kötődjenek a mágneses részecskékhez.

A megkötött nukleinsavak mosása

A virális nukleinsavak és a bakteriális DNS a mágneses részecskékhez kötődik, miközben a 3 mosási lépésből, öblítésből és levegőn történő szárításból álló szekvencia hatékonyan eltávolítja a szennyezőanyagokat.

Tiszta nukleinsavak eluálása

A nagy tisztaságú virális nukleinsavakat és bakteriális DNS-t egy lépésben eluálják az eluáló pufferbe (AVE-be). A tisztított nukleinsavak azonnal felhasználhatók downstream alkalmazásokhoz, illetve jövőbeli felhasználás céljára tárolhatók.

Összefoglalás és magyarázat

Az EZ1 DSP Virus Kit automatizált eljárást nyújt virális nukleinsavak és bakteriális DNS EZ1 vagy EZ2 Connect MDx készüléken történő egyidejű tisztításához a következő mintaanyagokból:

- Szérum és plazma
- Liquor (CSF)
- Széklet
- UTM-be levett nazopharingeális tamponminták

A készlet különféle DNS- és RNS-vírusokból történő nukleinsav tisztításra, illetve baktériumokból történő DNS tisztításra használható. A készlet teljesítménye azonban nem garantált bármely mintaanyagból kivont valamennyi kórokozó faj esetében, ezért a felhasználónak kell validálnia. A mágnesesrészecske-technológiával való tisztítás lehetővé teszi a jó minőségű, fehérjétől, nukleázoktól és egyéb szennyeződésektől mentes nukleinsavak tisztítását. A tisztított nukleinsavak ezután készen állnak a downstream assay-kben, például amplifikációban történő nagy érzékenységgű kimutatásra. Az EZ1 (EZ1 Advanced, BioRobot EZ1 DSP és EZ1 Advanced XL) és EZ2 Connect MDx készülékek a minta-előkészítés valamennyi lépését elvégzik egyetlen futtatás során legfeljebb 6 minta (EZ1 Advanced vagy BioRobot EZ1 DSP készülék; már egyiket sem gyártják), legfeljebb 14 minta (EZ1 Advanced XL készülék), illetve legfeljebb 24 minta (EZ2 Connect MDx készülék) esetében.

Az EZ1 DSP Virus eljárás

Szérum, plazma, CSF, széklet, és UTM-be levett nazopharingeális tamponminták



Proteináz K-val és lízispufferrel végzett lizálás



Mágneses részecskék és kötőpuffer hozzáadása a lizátumokhoz



A nukleinsavak a mágneses részecskékhez kötődnek



Mágnes



Mágneses elválasztás



Három mosási lépés, öblítés, levegőn történő szárítás

Mágnes



Mágneses elválasztás




Eluálás eluáló pufferrel (AVE)



Tisztított, jó minőségű virális nukleinsavak és/vagy bakteriális DNS

Szállított anyagok

A kit tartalma

EZ1 DSP Virus Kit			(48)
Katalógusszám			62724
Elvégezhető preparálások száma			48
RCV	Reagent Cartridge, Virus 350 µL**	REAG CART VIRUS	48
DTH	Disposable Tip Holders (Egyszer használatos hegytárolók)	DISP TIP HOLD	50
DFT	Disposable Filter-Tips (Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek)	DISP FILT TIP	50
ST	Sample Tubes (2 mL), non-skirted (Mintacsövek (2 ml), nem talpas kivétel)	SAMP TUBE	2 × 50
ET	Elution Tubes (1.5 mL) (Elúciós csövek (1,5 ml))	ELU TUBE	2 × 50
CARRIER	Carrier RNA (Hordozó RNS)	CAR RNA	310 µg
AVE	Elution Buffer† (Elúciós puffert)	ELU BUF	3 × 2 ml
	Q-Card‡ (Q-Kártya‡)		1
	Instructions for Use (Használati útmutató)		1

* Guanidinsót tartalmaz. Fehéritőszert tartalmazó fertőtlenítőszerrel együtt nem használható. Lásd 12. oldal, Biztonsági információk.

† Tartóítószerként nátrium-azidot tartalmaz.

‡ A Q-Card vonalkódjában kódolt adatok szükségesek az EZ1Advanced, EZ1 Advanced XL és EZ2 Connect MDx készülékek segítségével végzett reagensadat nyomon követéshez.

A kit komponensei

Az aktív összetevőket tartalmazó fő komponensek magyarázata alább olvasható.

1. táblázat. Hatóanyagot tartalmazó biztosított reagensek

Reagens	Összetevők	Koncentráció (w/w) [%]
RCV (Reagent Cartridge Virus) (Vírus reagenskazetta)	Ethanol (Etanol)	≥ 70 és < 90
	Isopropanol (Izopropanol)	≥ 70 és < 90
	Guanidinium thiocyanate (Guanidinium-tiocianát)	≥ 30 és < 50
	Guanidine hydrochloride (Guanidin-hidroklorid)	≥ 30 és < 50
	Proteinase K (Proteináz K)	≥ 1 és < 10
Lithium chloride (Lítium-klorid)	≥ 1 és < 10	

Szükséges, de nem biztosított anyagok

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információk a megfelelő biztonsági adatlapokon (Safety Data Sheets, SDS-ek) találhatóak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetők be.

Minden protokollhoz szükséges anyagok

- Pipetták* és steril, RNáz-mentes pipettahegyek
- Reakciócsövek (csak specifikus mintatípusokhoz)
- Puha papírtörölkők
- Víz
- 70%-os etanol (a tisztítási eljárásokhoz)
- **Opcionális:** Vortex keverő* (ha össze kell keverni a mintákat)
- **Opcionális:** mikrocentrifuga* (ha a mágneses részecskéket el kell távolítani az eluátumokból)

Széklet előkészítéséhez

- Buffer ASL (katalógusszám: 19082)
- Vortex keverő
- Száraz inkubátor* vagy 70 °C-os vízfürdő*

Genomikus DNS izolálásához Gram-pozitív baktériumokból

- Lizozim, Tris-HCl, EDTA, Triton X-100
- Száraz inkubátor* vagy 37 °C-os vízfürdő*
- Centrifuga (5000 x g-ig használható)

* Gondoskodjon a készülékek rendszeres, a gyártó ajánlásai szerinti ellenőrzéséről, karbantartásáról és kalibrálásáról.

BioRobot EZ1 felhasználók

- BioRobot EZ1 DSP készülék* (már nem gyártják)
- EZ1 DSP Virus Card (katalógusszám: 9017707)

EZ1 Advanced felhasználók

- EZ1 Advanced készülék* (már nem gyártják)
- EZ1 Advanced DSP Virus Card (katalógusszám: 9018306)

EZ1 Advanced XL felhasználók

- EZ1 Advanced XL készülék* (katalógusszám: 9001492)
- EZ1 Advanced XL DSP Virus Card (katalógusszám: 9018703)

EZ1 Advanced és EZ1 Advanced XL felhasználók

- A minták nyomon követéséhez az alábbiak egyikére van szükség:
 - Számítógép (monitorral) és EZ1 Advanced Communicator Software (az EZ1 Advanced és EZ1 Advanced XL készülékekhez biztosított szoftver)
 - Nyomtató
 - További részletek lásd a megfelelő készülék kézikönyvében

EZ2 Connect MDx felhasználók

- EZ2 Connect MDx készülék* (katalógusszám: 9003230)

* Gondoskodjon a készülékek rendszeres, a gyártó ajánlásai szerinti ellenőrzéséről, karbantartásáról és kalibrálásáról

* Gondoskodjon a készülékek rendszeres, a gyártó ajánlásai szerinti ellenőrzéséről, karbantartásáról és kalibrálásáról.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Tartsa szem előtt, hogy szükséges lehet a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően az eszközzel összefüggésben fellépő súlyos váratlan események jelentése a gyártó és/vagy hivatalos képviselője, valamint a felhasználó és/vagy a beteg tartózkodási helye szerinti illetékes szabályozó hatóság felé.

In vitro diagnosztikai használatra.

A kit használata előtt figyelmesen olvassa el az összes utasítást.

Vegye figyelembe az alábbi fennmaradó kockázatokat:

- Másodlagos csövek (mintacsövek, „ST”) használata esetén ügyeljen arra, hogy a mintaazonosítók ne keveredjenek össze a mintaazonosító elsődleges csőről a másodlagos csőre történő átvitelük során.
- A mintaazonosítók manuálisan is megadhatók (a részletekért lásd az EZ1 vagy EZ2 készülék felhasználói kézikönyvét). Ha helytelen a manuálisan bevitt azonosító, előfordulhat, hogy a minta nem a megfelelő beteghez lesz hozzárendelve.

Biztonsági információk

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheet, SDS) tartalmazznak. Ezek PDF-formátumban elérhetők online a www.qiagen.com/safety címen, ahol megtalálhatja, megtekintheti és kinyomtathatja a minden egyes QIAGEN® kithoz és annak komponenseihez tartozó biztonsági adatlapokat (Safety Data Sheet, SDS).

VIGYÁZAT**Személyi sérülés kockázata**

SOHA NE adjon fehérítőszerrel vagy savat tartalmazó oldatot közvetlenül a mintaelőkészítés hulladékához.

- A reagenskazettákban (RCV) lévő egyes pufferek guanidin-hidrokloridot vagy guanidin-izotiocianátot tartalmaznak, amelyek fehérítőszerrel keverve nagymértékben reakcióképes vegyületeket képeznek.
- Ha ilyen puffereket tartalmazó folyadék ömlik ki, takarítsa fel megfelelő laboratóriumi tisztítószerrel és vízzel. Ha potenciálisan fertőző kórokozókat tartalmazó folyadék ömlik az EZ1/EZ2 készülékre, fertőtlenítsen az EZ1/EZ2 készülékhez mellékelt felhasználói kézikönyvben leírt reagensok segítségével.
- A törött vagy szivárgó reagenskazettákat (RCV) a helyi biztonsági előírásoknak megfelelően kell kezelni és ártalmatlanítani. Ne használjon sérült reagenskazettákat (RCV) vagy a kit egyéb sérült összetevőit, mivel használatuk csökkentheti a kit teljesítményét, illetve a felhasználó sérüléséhez vagy a készülék károsodásához vezethet.
- A QIAGEN nem vizsgálta, hogy az EZ1 DSP Virus eljárás során keletkező folyékony hulladék tartalmaz-e visszamaradt fertőző anyagot. A folyékony hulladék visszamaradt fertőző anyaggal való szennyeződése valószínűtlen, de teljes mértékben nem kizárható esemény. Ebből kifolyólag a visszamaradt folyékony hulladék fertőző anyagnak tekintendő, így kezelése és ártalmatlanítása során a helyi biztonsági előírásoknak megfelelően kell eljárni.
- A minták potenciálisan fertőzőek lehetnek. A mintákat és az assay során képződő hulladékokat a helyi biztonsági eljárásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

Óvintézkedések

Az EZ1 DSP Virus Kit összetevőire az alábbi H (figyelmeztető) és P (óvintézkedésre vonatkozó) mondatok vonatkoznak:

Reagenskazetta, Virus Mini, v2.0 CE (RCV)



Tartalmazott anyagok: etanol, guanidin-hidroklorid, guanidin-tiocianát, izopropanol, lítium-klorid és proteináz K. Veszély! Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz. Lenyelve vagy belélegezve ártalmas. Bőrrel érintkezve ártalmas lehet. Súlyos égési sebeket és szemkárosodást okoz. Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. Légúti irritációt okozhat. Álmoságot vagy szédülést okozhat. Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek. Hőtől/szikrától/nyílt lángtól/forró felületektől távol tartandó. Tilos a dohányzás. Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belégzését. Viseljen védőkesztyűt/védőruházatot/szemvédőt/arcvédőt. Légzésvédelem használata kötelező. **SEMBE KERÜLÉS ESETÉN:** Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Adott esetben kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz. Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. A szennyezett ruhát az újbóli használat előtt ki kell mosni. Jól szellőző helyen tárolandó. A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.

Vészhelyzeti információk

CHEMTREC

USA és Kanada 1-800-424-9300

Az USA-n és Kanadán kívül: +1 703-527-3887

Ártalmatlanítás

A hulladék mintákat és reagenseket tartalmaz. A hulladék toxikus és fertőző anyagokat tartalmazhat, ezért ártalmatlanítását megfelelően kell elvégezni.

A helyi és nemzeti előírásoknak megfelelően veszélyes hulladékként kell ártalmatlanítani. Ez a nem használt termékekre is érvényes.

A folyékony hulladékot tilos a szennyvízhálózatba bocsátani.

Kövesse a biztonsági adatlap (Safety Data Sheet, SDS) ajánlásait.

A helyes hulladékkezelési eljárásokért olvassa el a helyi biztonsági előírásokat. Lásd továbbá „Figyelmeztetések és óvintézkedések” című fejezetet, amely a 12. oldalon kezdődik.




További információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheet, SDS) tartalmaznak. Ezek PDF-formátumban elérhetők online a www.qiagen.com/safety címen, ahol megtalálhatja, megtekintheti és kinyomtathatja az egyes QIAGEN kitekhez és azok összetevőihöz tartozó biztonsági adatlapokat (Safety Data Sheet, SDS).

A reagensek tárolása és kezelése

A reagenskazettákat (RCV) felállítva, szobahőmérsékleten (15–25 °C) kell tárolni. A reagenskazettákban (RCV) lévő mágneses részecskék ezen a hőmérsékleten aktívak maradnak. Ne fagyassza le a reagenskazettákat (RCV). Megfelelő tárolás esetén a reagenskazetták (RCV) a Q-Card, a kit doboza és az RCV vonalkódja által jelzett lejáratási időig stabilak maradnak.

A liofilizált hordozó RNS (CARRIER) szobahőmérsékleten tárolva a kit dobozán jelzett lejáratási időig stabil marad.

A szobahőmérsékleten tárolt előkezelő puffer ASL termékben csapadék képződhet. Inkubálja a flakont 50–56 °C-on 15–20 percig, és kétszer manuálisan rázza össze az inkubációs időszak alatt.



-  A lejárt EZ1 DSP Virus Kit vagy Buffer ASL nem használható. Óvja az RCV vagy Buffer ASL terméket az UV fénytől (pl., a fertőtlenítéshez használt fénytől), mivel ez a pufferek szavatosságának idő előtti elvesztését okozhatja.
-  Ne használja a sérült vagy előzetesen felbontott reagenskazettákat (RCV).
-  Ne távolítsa el a fóliát a reagenskazettákról. A készülék automatikusan átlukasztja a fóliát.

Felbontás után stabilitás

A reagenskazetták (RCV) kizárólag egyszeri felhasználására szolgálnak, ezért nincs megadva hozzájuk a felbontási utáni stabilitás.

A rekonstituált hordozó RNS (CARRIER) törzsoldat koncentrációja 1 ng/μl, és 2–8 °C-on tárolva legfeljebb 4 hétig marad stabil.

Az előkezelő puffer ASL visszazárva és szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolva a flakon első felbontásától/használatától számított 6 hónapig marad stabil.

-  A felbontás utáni stabilitás meghaladásának elkerülése érdekében írja rá a puffer ASL flakonra az első felbontás/használat dátumát.
-  Ha a kit szavatossági idejéig hátra lévő idő 6 hónapnál kevesebb, akkor a puffer ASL nem használható a lejárat dátum után.

A minták kezelése és tárolása

Az előkezelési eljárás és előkészítés után a mintákat megfelelően kell kezelni a minták összekeverésének elkerülése érdekében.

A tisztítási eljárás 100, 200 vagy 400 µl mintatérfogatra optimalizált.

- i** Ne használjon 100, 200 vagy 400 µl-nél kisebb vagy nagyobb mintatérfogatot, mivel ez ronthatja a teljesítményt vagy a készülék károsodásához vezethet.

A minták stabilitása nagymértékben függ különféle tényezőktől, és összefügg az adott downstream alkalmazással. Az EZ1 DSP Virus Kit esetében a minta stabilitását downstream mintaalkalmazásokkal összefüggésben határoztuk meg. A felhasználó felelőssége a laboratóriumban alkalmazott specifikus downstream alkalmazás használati útmutatójának tanulmányozása és/vagy a teljes munkafolyamat validálása a megfelelő tárolási feltételek megállapítása érdekében.

- i** Az általános mintagyűjtési, szállítási és tárolási ajánlásokért lásd a jóváhagyott CLSI irányelvet, MM13-A „Minták gyűjtése, szállítása, előkészítése és tárolása molekuláris módszerekhez”. Továbbá, a minta előkészítése, tárolása, szállítása és általános kezelése során be kell tartani a használt mintavételi eszköz/készlet gyártójának utasításait.

Plazma- and szérumminták

A vérvétel során kövesse a használt vérvételi csövek gyártójának utasításait. Különösen fontos, hogy figyelembe vegye a következő utasításokat: a vérvételi csövek megfelelő pozícióba helyezése a vérvételhez, az előírt töltési térfogat, valamint a vérvételi csövek óvatos keverése és megfordítása a vérvétel után.

Megjegyzés: A vérminták helytelen és/vagy elégtelen összekeverése az egyik legfontosabb a vizsgálatot megelőző változók közül. Ha a vérvételi csövekben lévő adalékok nem keverednek össze homogéneen a mintával, az ronthatja a virális nukleinsav minőségét és emiatt a vizsgálati eredmények érvényességét és megbízhatóságát.

A plazma előkészítéséhez antikoagulánsként EDTA-val vagy citráttal kezelt vérminták használhatók. A plazma vagy szérum minták lehetnek frissek vagy fagyasztottak, feltéve, hogy nem kerültek ismét lefagyasztásra a felolvasztás után.

Virális nukleinsav vizsgálata esetén javasolt közvetlenül a szállítás (legfeljebb 2 óra környezeti hőmérsékleten) után elkezdni a vérminták centrifugálását a plazma előkészítéséhez. Késedelem esetén az EDTA-s és citrátos vérvételi csövek legfeljebb 6 óráig tárolhatók 4 °C-on a centrifugálás és plazma előkészítése előtt. A szérumminták legfeljebb 2 óráig tárolhatók környezeti hőmérsékleten a centrifugálás előtt. A tárolási körülményeket és időtartamot dokumentálni kell.

Ha a plazma és szérum előkészítését követően huzamosabb ideig tárolják a mintákat, akkor javasolt az alikvotokra osztott mintákat -20 °C és -80 °C között tárolni. A lefagyasztott alikvotokat 25 °C-on kell kiolvasztani 30–90 percig. Fordítsa meg a mintacsövet legalább 10-szer, és azonnal dolgozza fel a szobahőmérsékletre ekvilibrálódott mintákat. Felolvasztás után az alikvotokat ne fagyassza vissza. Az ismételt lefagyasztás–kiolvasztás a fehérjék denaturálódásához és kicsapódásához vezet, ami a vírus- és baktériumtiterek esetleges csökkenését, és ezáltal a virális nukleinsav és bakteriális DNS-hozam csökkenését eredményezi. Ha a mintákban krioprecipitátumok láthatók, végezze el a minták centrifugálását 6800 x g-n 3 perc ± 30 másodpercig, a pelleték megbolygatása nélkül vigye át a felülúszókat friss csövekbe, és haladéktalanul kezdje meg a tisztítási eljárást. Ez a lépés nem csökkenti a vírustitert, de befolyásolhatja a baktériumtitert.

Széketminták

Begyűjtés után a székletmintákat 2–8 °C-on kell tárolni és szállítani. A székletben lévő virális vagy bakteriális nukleinsavak extrakciójához 200 µl mintatérfogat javasolt. Az EZ1 vagy EZ2 készüléken történő extrakció előtt előkezelést kell végezni (lásd 38. oldal, „Protokoll: Széklet előkezelése”).

Az általános mintagyűjtési, szállítási és tárolási ajánlásokért lásd a jóváhagyott CLSI irányelvet, MM13-A „Minták gyűjtése, szállítása, előkészítése és tárolása molekuláris módszerekhez”.

UTM-be levett nazopharingeális tamponminták

UTM-be levett nazopharingeális tamponminták szobahőmérsékleten szállíthatók.

Az általános mintagyűjtési, szállítási és tárolási ajánlásokért lásd a jóváhagyott CLSI irányelvet, MM13-A „Minták gyűjtése, szállítása, előkészítése és tárolása molekuláris módszerekhez”.

Liquor (CSF) minták

A DNS vizsgálatokhoz a liquor mintákat 2–8 °C-on kell szállítani. Az RNS vizsgálatokhoz a liquor mintákat szárazjégen fagyasztva kell szállítani.

Az általános mintagyűjtési, szállítási és tárolási ajánlásokért lásd a jóváhagyott CLSI irányelvet, MM13-A „Minták gyűjtése, szállítása, előkészítése és tárolása molekuláris módszerekhez”.

Gram-pozitív baktériumminták

A nehezen lizálható Gram-pozitív baktériumok DNS-extrakciójához lizozimmal végzett további előzetes lizálási lépés végezhető az EZ1 vagy EZ2 Connect MDx készüléken végrehajtott extrakció előtt (lásd 40. oldal, „Protokoll: Előkezelés a Gram-pozitív baktériumok genomikus DNS-ének izolálásához”).

Elúciós térfogatok és az eluátum kezelése

A tisztítási eljárás végső lépése a virális nukleinsavak és bakteriális DNS eluálása 60, 90, 120 vagy 150 µl végső térfogatban.

Ha a minta típusa széklelt, akkor javasolt a 120–150 µl elúciós térfogat választása.

Ha a székletből nyert eluátumok zavarosak, akkor végezzen 3 perces centrifugálást maximális sebességen (20 000 x g) az eluátumok derítéséhez. Ez a kezelés javítja a zavaros eluátumok teljesítményét a downstream alkalmazásokban.

A virális nukleinsavak/bakteriális DNS tárolása

Legfeljebb 24 órás rövid távú tárolás esetén javasolt a tisztított virális nukleinsavakat és bakteriális DNS-t 2–8 °C-on tárolni. A 24 órát meghaladó hosszú távú tárolás esetén javasolt a –80 °C-on történő tárolás legfeljebb 12 hónapig vagy a –20 °C-on történő tárolás legfeljebb 12 hétig. Bizonyos downstream alkalmazások esetében eltérhet a nukleinsavak stabilitása és ezt a felhasználónak kell validálnia.

Az eluátum stabilitása nagymértékben függ különböző tényezőktől, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódik. Az EZ1 DSP DNA Virus Kit esetében a minta stabilitását downstream mintaalkalmazásokkal összefüggésben határoztuk meg. A felhasználó felelőssége a laboratóriumban alkalmazott specifikus downstream alkalmazás használati útmutatójának tanulmányozása és/vagy a teljes munkafolyamat validálása a megfelelő tárolási feltételek megállapítása érdekében.

Eljárás

Az EZ1 DSP Virus Kit többféle típusú készüléken használható:

- EZ2 Connect MDx
- EZ1 Advanced XL és EZ1 Advanced felhasználók (már nem gyártják)
- BioRobot EZ1 DSP (már nem gyártják)

Az EZ2 Connect MDx készülékek használata

Az EZ2 Connect MDx készülékek fő funkciói közé tartoznak az alábbiak:

- Jó minőségű nukleinsavak automatizált tisztítása futtatásonként 1–24 mintából
- Előre telepített, használatra kész protokollok
- Előre töltött, lezárt reagenskazetták a könnyű, biztonságos és gyors beállításhoz
- Külső vonalkódolvasó a mintaazonosítók és kitazonosítók leolvasásához (Q-Card)
- Grafikus felhasználói felület (GUI)
- Belső kamera az automatizált betöltés ellenőrzésére és a reagenskazetta vonalkódjának leolvasásra
- UV-lámpa a munkaasztal felületek fertőtlenítésének támogatására

Az EZ2 Connect MDx további funkciói közé tartoznak a következők:

- LIMS és QIASphere csatlakozás(LAN vagy WiFi, USB portok útján)
- Kiterjesztett felhasználókezelés

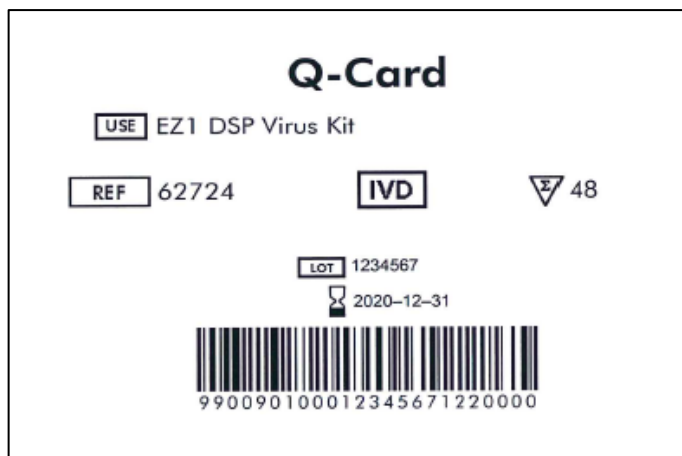
- ⓘ Az UV-fénnyel végzett fertőtlenítés hozzájárul az EZ2 Connect MDx munkaasztal felületek patogénnel történő esetleges kontaminációjának csökkentéséhez. Az inaktíválás hatékonyságot minden egyes kórokozónál egyedileg kell meghatározni, és függ például a rétegvastagságtól és a minta típusától. A QIAGEN nem tudja garantálni, hogy az egyes kórokozók teljes eradikálására sor kerül.

Az EZ2 Connect MDx működtetési eljárás

Mielőtt folytatná, javasoljuk, hogy ismerje meg a készülék funkcióit, ezek leírását lásd az *EZ2 Connect MDx Felhasználói kézikönyvben* (amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapfűlén érhető el).

- ⓘ Az EZ2 Connect MDx fedelét mindig zárva kell tartani és a készülék működtetése közben automatikusan lezáródik. Csak akkor nyissa fel a fedelet, ha a felhasználói kézikönyvben szereplő utasítás felszólítja rá. Az EZ2 Connect MDx készülék munkaasztala a készülék működése közben mozog. Soha ne nyissa ki az EZ2 Connect MDx fedelét a készülék működése közben.

Protokolfuttatás beállításához csukja le a fedelet és kapcsolja be a készüléket. MDx alkalmazások esetében a bejelentkezéskor válassza ki az IVD üzemmódot. A Kezdőlap képernyőn érintse meg a **Setup** (Beállítás) lapfület és olvassa be az EZ1 DSP Virus kithez mellékelt Q-Card 1D vonalkódját (1. ábra) a **Scan** (Szkennelés) gomb megnyomásával. A Q-Card leolvasásakor automatikusan megjelennek a dedikált protokollok.



1. ábra. Q-Card példája.

Az EZ2 Connect MDx szoftver végigkalauzolja a protokolfuttatás beállításának folyamatán.

Reagenskazetták (RCV)

Az egy mintában lévő nukleinsavak tisztításához szükséges reagenseket egyetlen reagenskazetta (RCV) tartalmazza (2. ábra). A kazettában (RCV) lévő cellák többsége egy adott reagenst tartalmaz, mint például a mágneses részecskék, lízispuffer, mosópuffer vagy RNáz-mentes eluáló puffer (AVE). Mivel mindegyik cella csak a szükséges mennyiségű reagenst tartalmazza, így elkerülhető, hogy további hulladék képződjön a tisztítási eljárás végén megmaradt reagensekből.

Az EZ1 DSP Virus Kithoz mellékelt reagenskazettákba (RCV) előre be van töltve a virális nukleinsavak és bakteriális DNS tisztításához szükséges reagensek, kivéve a hordozó RNS (CARRIER). A hordozó RNS (CARRIER) és a belső kontrollok (IC) (opcionális) a reagenskazettán (RCV) kívül lévő csőben vannak hozzáadva.



2. ábra. Reagenskazetta (RCV). Az EZ1 DSP Virus Kit lezárt, előre töltött reagenskazettája (RCV).

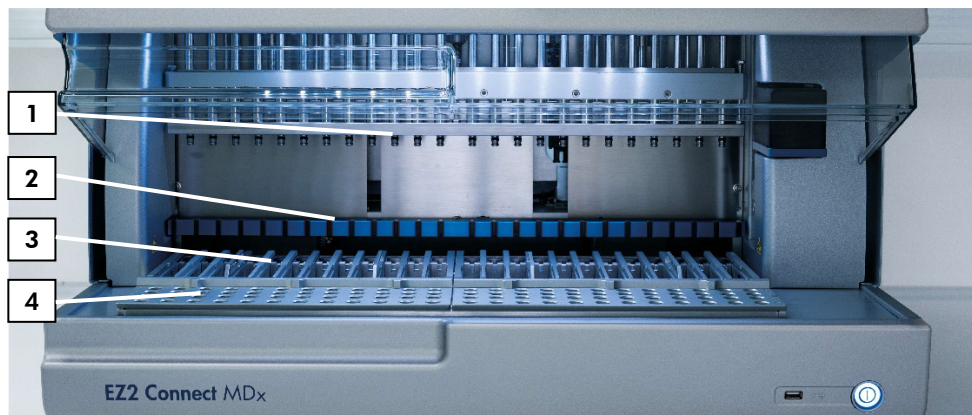


3. ábra. Reagenskazetta-tartó. A reagenskazetta-tartón látható nyíl jelzi, hogy milyen irányban kell betölteni a reagenskazettákat (RCV).

Munkasztal

Az EZ2 Connect MDx készülékek munkasztalán tölti be a felhasználó a mintákat és összetevőket az EZ1 DSP Virus Kitbe (4. ábra és 5. ábra).

A munkasztal részletes beállítása a felhasználói felület érintőképernyőjén látható.



4. ábra. Az EZ2 Connect MDx készülék áttekintése. (1) Pipettázófej, (2) mágnesmodul, (3) kazettatartó állvány és (4) hegytartó állvány (laboreszköztartó).



5. ábra. Az EZ2 Connect MDx készülék munkaasztala. (1) Fűtőblokk a reagenskazettába (RCV) töltött 2 ml csövekkel (ST) lizáláshoz. (2) Az A sorba betöltött mintacsövek (ST) (2 ml). (3) A B sorba betöltött cső (ET) (1,5 ml), amely hordozó RNS-t (CARRIER) és belső kontrollt (IC) (ha használták) tartalmaz eluáló pufferben (AVE). (4) A C sorba töltött egyszer használatos hegytartók (DTH), amelyek egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyeket (DFT) tartalmaznak. (5) A D sorba töltött eluációs csövek (ET) (1,5 ml).

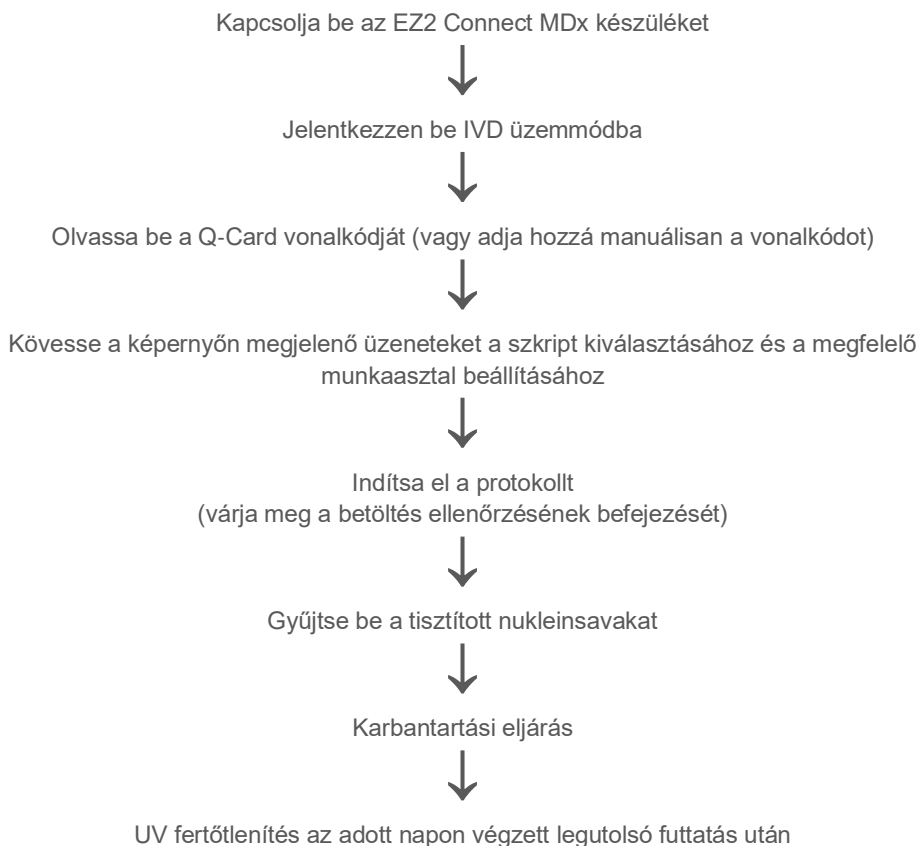
Adatok nyomon követése az EZ2 Connect MDx segítségével

Az EZ2 Connect MDx lehetővé teszi a különféle adatok teljes körű nyomon követését a javított folyamatirányítás és megbízhatóság érdekében. A felhasználói azonosítót a szoftverbe való bejelentkezésen keresztül követi nyomon. Az EZ1 DSP Virus Kit tételszáma és lejárat ideje a protokoll kezdetén a Q-Card vonalkód segítségével vagy manuálisan az érintőképernyőn kerül bevitelre. A mintainformációk és a futtatási beállítások a protokoll beállítása során kerülnek beállításra. A protokollfuttatás végén egy jelentésfájl hozható létre. A grafikus felhasználói felület „Data” (Adatok) szakaszában a futtatási jelentések letölthetők egy USB-adathordozóra (mindig mindkét fájlformátumban, „.pdf” és „.xml”).

Ha az EZ2 Connect MDx készülék WiFi/LAN-kapcsolata létrejött, a futtatási és mintainformációk közvetlenül feldolgozhatók a LIMS-en keresztül (ha konfigurálva van).

Az EZ2 Connect MDx készülék beállításával kapcsolatos további részletekért lásd az *EZ2 Connect MDx Felhasználói kézikönyvet* (amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapfűlén érhető el).

Az EZ1 DSP Virus működtetésének munkafolyamata az EZ2 Connect MDx készüléken




Munkavégzés az EZ1 készülékekkel

Az EZ1 készülékek fő funkciói a következők:

- Jó minőségű nukleinsavak tisztítása futtatásonként 1–6 (BioRobot EZ1 DSP és EZ1 Advanced) vagy 1–14 mintából (EZ Advanced XL)
- Kicsi a helyigénye, ezáltal laboratóriumi helyet takarít meg
- Előre programozott EZ1 DSP kártyák, amelyek használatra kész protokollokat tartalmaznak
- Előre töltött, lezárt reagenskazetták a könnyű, biztonságos és gyors beállításhoz
- A nukleinsav-tisztítás teljes automatizálása

Az EZ1 Advanced és EZ1 Advanced XL készülékek további funkciói:

- Vonalkódolvasás és a minták nyomon követése
- A kit adatainak nyomon követése a kít-hez mellékelt Q-Card segítségével
- UV-lámpa a munkaasztal felületek fertőtlenítésének támogatására

 Az UV-fertőtlenítés segít csökkenteni az EZ1 Advanced és EZ1 Advanced XL készülékek munkaasztal felületeinek kórokozókval való lehetséges szennyeződését. Az inaktiválás hatékonyságot minden egyes kórokozónál egyedileg kell meghatározni, és függ például a rétegvastagságtól és a minta típusától. A QIAGEN nem tudja garantálni, hogy az egyes kórokozók teljes eradikálására sor kerül.

Az EZ1 DSP Card, EZ1 Advanced DSP Card és EZ1 Advanced XL DSP Card kártyák

A virális nukleinsavak és bakteriális DNS tisztítására szolgáló EZ1 DSP Virus protokoll az előre programozott EZ1 kártyákon (integrált áramköri kártyák) van tárolva. A felhasználó egyszerűen behelyez egy EZ1 Advanced XL DSP Card kártyát az EZ1 Advanced XL készülékbe, egy EZ1 Advanced DSP Card kártyát az EZ1 Advanced készülékbe, vagy egy EZ1 DSP Card* kártyát a BioRobot EZ1 DSP készülékbe, és a készülék készen áll a protokoll futtatására (6. ábra és 7. ábra).



6. ábra. Az EZ1 DSP Card kártyák megkönnyítik a protokollok beállítását. A protokollal előre beprogramozott EZ1 Card behelyezése az EZ1 készülékbe.

- i** A készüléket csak az EZ1 Card behelyezése után szabad bekapcsolni, és ügyeljen arra, hogy az EZ1 Card teljesen be legyen helyezve! Ellenkező esetben a készülék lényeges adatai elvesznek, ami memóriahibához vezet. Az EZ1 Cards kártyákat nem szabad kicserélni, amíg a készülék be van kapcsolva.

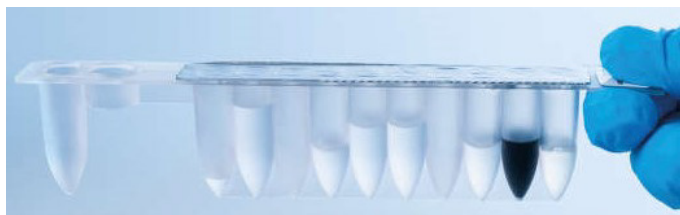


7. ábra. Az EZ1 Card kártyanyílásba teljesen behelyezett kártya.

Reagenskazetták (RCV)

A nukleinsavak egyetlen mintából történő tisztításához szükséges reagenseket egyetlen reagenskazetta (RCV) tartalmazza (8. ábra és 9. ábra). A kazettában (RCV) lévő cellák többsége egy adott reagenst tartalmaz, mint például a mágneses részecskék, lízispuffer, mosópuffer vagy RNáz-mentes eluáló puffer (AVE). Mivel mindegyik cella csak a szükséges mennyiségű reagenst tartalmazza, így elkerülhető, hogy további hulladék képződjön a tisztítási eljárás végén megmaradt reagensekből.

Az EZ1 DSP Virus Kíthez mellékelt reagenskazettákba (RCV) előre be van töltve a virális nukleinsavak és bakteriális DNS tisztításához szükséges reagensek, kivéve a hordozó RNS (CARRIER). A hordozó RNS (CARRIER) és a belső kontrollok (IC) (opcionális) a reagenskazettán (RCV) kívül lévő csőben vannak hozzáadva.



8. ábra. Reagenskazetta (RCV). Az EZ1 DSP Virus Kit lezárt, előre töltött reagenskazettája.

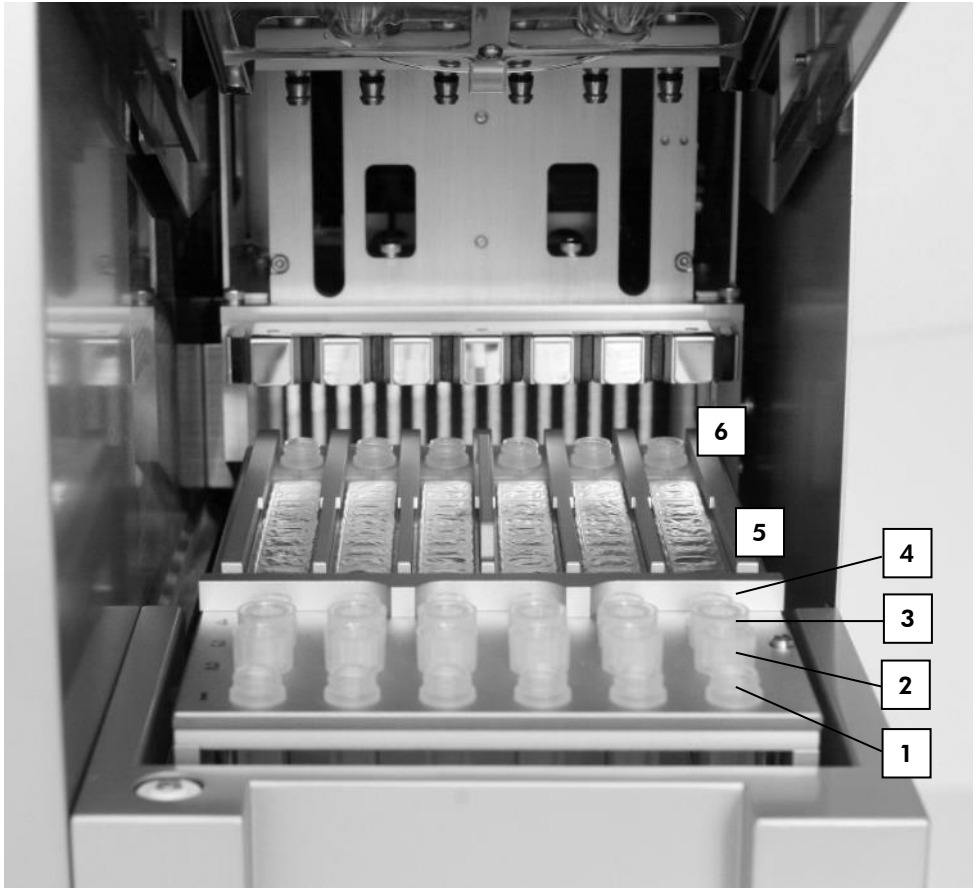


9. ábra. A reagenskazetta-tartó betöltése. A reagenskazetta-tartón látható nyíl jelzi, hogy milyen irányban kell betölteni a reagenskazettákat (RCV).

Munkasztal

Az EZ1 készülékek munkasztalán tölti be a felhasználó a mintákat és összetevőket az EZ1 DSP Virus Kitbe (10. ábra).


A munkasztal beállításának részletei az EZ1 Advanced és az EZ1 Advanced XL vákuumfluoreszcens kijelzőjén (VFD) vagy a BioRobot EZ1 DSP vezérlőpanel folyadékkristályos kijelzőjén (LCD) jelennek meg, amikor a felhasználó elkezdi a munkasztal beállítását.



10. ábra. Az EZ1 készülék munkaasztala. (1) Az 1. sorba töltött elúciós csövek (ET) (1,5 ml). (2) A 2. sorba töltött, egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyeket (DFT) tartalmazó egyszer használatos hegytárolók (DTN). (4) A 3. sorba töltött cső (ET) (1,5 ml), amely hordozó RNS-t (CARRIER) és belső kontroll (IC) (ha használnak) tartalmaz eluáló pufferben (AVE). (4) A 4. sorba töltött mintacsövek (ST) (2 ml). (5) A kazettatartó állványba töltött reagenskazetták (RCV). (6) Fűtőblokk a reagenskazettákba (RCV) töltött 2 ml csövekkel (ST) lizáláshoz.

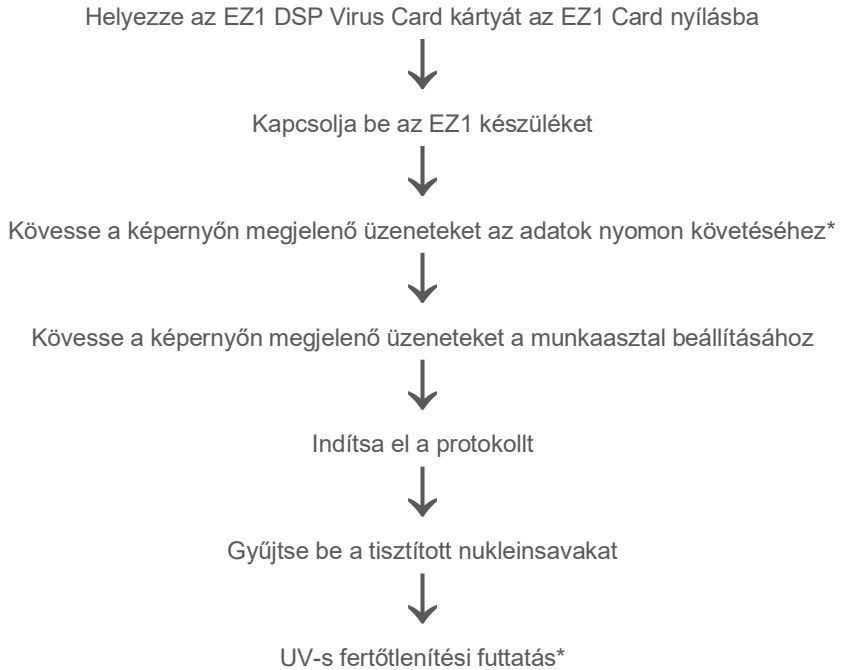
Az adatok nyomon követése az EZ1 Advanced és EZ1 Advanced XL készülékekkel

Az EZ1 Advanced és EZ1 Advanced XL lehetővé teszik a különféle adatok teljes körű nyomon követését a javított folyamatirányítás és megbízhatóság érdekében. Az EZ1 kit tételszáma és lejárat ideje a protokoll kezdetén a Q-Card vonalkód segítségével kerül bevitelre. A felhasználói azonosítót és a Q-Card vonalkódot manuálisan a billentyűzetten keresztül vagy a vonalkódok kézi vonalkódozásával történő beolvasásával lehet megadni. A protokoll elején opcionálisan szintén megadhatók a minta- és assay-információk, valamint a megjegyzések. Minden egyes protokollfuttatás végén automatikusan létrejön egy jelentésfájl. Az EZ1 Advanced és EZ1 Advanced XL legfeljebb 10 eredményfájlt tárolhat, és az adatok átvihetők számítógépre vagy közvetlenül kinyomtathatók a nyomtatón.

-  Az adatok nyomon követése érdekében a minták betöltését mindig az EZ1 Advanced készülék A pozíciójában és az EZ1 Advanced XL készülék 1. pozíciójában kezdje. A fennmaradó mintákat egymás után helyezze a munkaasztal soron következő nyitott pozícióiba.

Az adatkövetéssel kapcsolatos további részletekért lásd a megfelelő felhasználói kézikönyvet, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

Az EZ1 DSP Virus működtetésének munkafolyamata az EZ1 készüléken



* Csak az EZ1 Advanced és EZ1 Advanced XL esetében.

Hordozó RNS (CARRIER) előkészítése

A hordozó RNS (CARRIER) két célra szolgál a tisztítási eljárás során. Először, fokozza a virális nukleinsavak és a bakteriális DNS kötődését a mágneses részecskék szilícium-dioxid felületéhez, különösen akkor, ha a minta nagyon kevés célmolekulát tartalmaz. Másodszor, nagy mennyiségű hordozó RNS hozzáadása csökkenti az RNS lebomlásának esélyét azon ritka esetben, ha a kaotróp sók és a lízispufferben lévő felületaktív anyag nem denaturálja az RNáz-okat. Ha nem ad hordozó RNS-t (CARRIER) a mintához, jelentősen csökkenhet a virális DNS vagy RNS, vagy a bakteriális DNS kinyerése.

A kitéz mellékelt liofilizált hordozó RNS (CARRIER) 48 minta elkészítéséhez elegendő. A tisztítási eljárás során használt hordozó RNS (CARRIER) koncentrációja lehetővé teszi az EZ1 DSP Virus Kit különféle amplifikációs rendszerekkel kompatibilis, általános tisztító rendszerként történő használatát, és sokféle baktériumból, illetve DNS- és RNS-vírusokból történő nukleinsav tisztításra alkalmas. Az amplifikációs rendszerek hatékonysága azonban a reakcióban jelen lévő nukleinsavak teljes mennyiségétől függően változik. Az EZ1 DSP Virus Kit használatával nyert eluátumok virális és bakteriális nukleinsavakat és hordozó RNS-t (CARRIER) tartalmaznak, és az eluátumokban lévő hordozó RNS (CARRIER) mennyisége nagymértékben meghaladja a virális és bakteriális nukleinsavakét. Az amplifikációs reakciók legmagasabb fokú érzékenységének elérése érdekében esetenként módosítani kell a hozzáadott hordozó RNS (CARRIER) oldat mennyiségét.

A liofilizált hordozó RNS-t (CARRIER) alaposan oldja fel 310 µl eluáló pufferben (AVE), ossza célszerű térfogatú alikvotokra, és tárolja 2–8 °C-on. A rekonstituált hordozó RNS (CARRIER) törzsoldat koncentrációja 1 ng/µl, és 2–8 °C-on tárolva legfeljebb 4 hétig marad stabil.

Minden egyes feldolgozott mintához hígítson fel 3,6 µl hordozó RNS (CARRIER) törzsoldatot 60 µl össztérfogatig eluáló pufferrel (AVE) (és/vagy egy belső kontroll oldattal). Ebből a hordozó RNS–eluáló puffer (CARRIER–AVE) oldatból az EZ1/EZ2 készülék átvisz 50 µl-t, vagyis 3 µg hordozó RNS-nek megfelelő térfogatot (CARRIER) a lizáló keverékbe.

Ha belső kontrollt (IC) kíván használni, a további teendőket lásd a „Belső kontroll (IC) használata” részben.

Megjegyzés: A tisztítási eljárás optimalizált, ezáltal mindegyik mintához 3 µg hordozó RNS (CARRIER) kerül hozzáadásra. Ha egy adott amplifikációs rendszerben jobbnak mutatkozik más mennyiségű hordozó RNS (CARRIER) használata, akkor módosítsa a hordozó RNS (CARRIER) törzsoldattal összekevert eluáló puffer (AVE) térfogatát, vagy használjon eltérő koncentrációjú törzsoldatot. A hordozó RNS–eluáló puffer (CARRIER–AVE) oldat össztérfogata 60 µl legyen mintánként, ebből a készülék 50 µl-t fog átvinni a lizáló keverékbe. Az eltérő mennyiségű hordozó RNS (CARRIER) használatát minden érintett mintatípus és downstream assay esetében validálni kell.

Belső kontroll (IC) használata

Az EZ1 DSP Virus Kit kereskedelmi forgalomban kapható amplifikációs rendszerekkel kombinált használata szükségessé teheti egy belső kontroll (IC) beillesztését a tisztítási eljárásba a mintaelőkészítés hatékonyságának monitorozása érdekében.

A belső kontroll DNS-t vagy RNS-t a hordozó RNS (CARRIER) törzsoldattal (3,6 µl) kell összekeverni. Minden egyes minta esetében 60 µl hordozó RNS–belső kontroll (CARRIER–internal control) keverékre van szükség, ebből a készülék 50 µl-t fog átvinni a lizáló keverékbe. Ez a mennyiség 3 µl hordozó RNS (CARRIER) törzsoldatnak plusz 47 µL eluáló puffernek (AVE) és/vagy belső kontroll oldatnak felel meg.

i Ne adja a belső kontrollt (IC) közvetlenül a mintához. A belső kontrollt kizárólag a CARRIER oldattal képzett keverék formájában alkalmazza.

Az adott downstream alkalmazáshoz szükséges belső kontroll (IC) optimális mennyiségének meghatározásához olvassa el a gyártó utasításait. Az ajánlottól eltérő mennyiség csökkentheti az amplifikáció hatékonyságát. Az EZ1 DSP Virus protokollhoz szükséges belső kontroll (IC) mennyiségének meghatározásához figyelembe kell venni az eluátum térfogatát. Lásd „B függelék: A belső kontroll”, 88. oldal, a belső kontroll (IC) helyes térfogatának kiszámítására vonatkozó részletes utasításokért.

Az EZ1 DSP Virus Kit nem tartalmaz mellékelt belső kontrollokat (IC).

Protokoll: Széklet előkezelése

Ez a protokoll a szilárd és folyékony székletminták előkezelésére szolgál a nukleinsav tisztítás előtt (41. oldal az EZ2 Connect MDx készülékekre, illetve 50. oldal az EZ1 készülékekre vonatkozóan).

Eljárás

1. Szuszpendáljon újra 100 mg szilárd vagy folyékony székletmintát 900 µl Buffer ASL pufferben.

A Buffer ASL puffer külön kell megrendelni, lásd Rendelési információk, 94. oldal.



Ha a megadottnál több vagy kevesebb székletet használ, akkor a Buffer ASL mennyiségét is módosítani kell az 1:10 (w/v) arány megőrzése érdekében. A minimális követelmény a 30 mg széklet használata legalább 200 µl mintatérfogat kinyeréséhez az EZ1/EZ2 készülékkel végzett extrakciót megelőző előkezelés befejezése után.

2. Vortexelje erősen a mintát 1–2 percig, vagy amíg a szuszpenzió homogénné nem válik.



Ha nagyon szilárd székletet használ, akkor megnyúlhat az újraszuszpendálási eljáráshoz szükséges idő, illetve a minta szétosztásához pipettázza fel-le a folyadékot. A könnyebb pipettázás érdekében levághatja a pipettahegy végét. Előfordulhat, hogy a részecskék egy része nem oldódik fel, ezek eltávolítására a következő lépésben kerül sor.

3. Inkubálja a mintát 10 percig szobahőmérsékleten az asztalon, ez lehetővé teszi a nagy széklet részecskék kiülepedését.
4. Vigyen át legalább 400 µl felülúszót a szuszpenzió tetejéről egy csavaros kupakkal ellátott friss 1,5 ml-es csőbe, de ügyeljen arra, hogy ne vigye át a nagy széklet részecskéket.

- ① Ügyeljen arra, hogy a felülúszóval együtt ne vigyen át székletrészeszkéket az EZ1 készülékbe. A mintában lévő nagy székletrészeszkék eltömíthetik a szűrővel ellátott hegyet az EZ1/EZ2 készülékben.

5. Inkubálja a mintát 10 percig 70 °C-on egy vízfürdőben* vagy száraz inkubátorban.*

6. Folytassa a tisztítási protokollal (41. oldal vagy 50. oldal).

- ① Székletminták esetében 200 µl mintatérfogat javasolt az extrakcióhoz és 120–150 µl térfogat javasolt az elúcióhoz. Az ennél nagyobb mintatérfogatok és kisebb elúciós térfogatok csökkenthetik a downstream alkalmazások érzékenységét.

- ① Ha székletből nyert eluátumok zavarosak, akkor végezzen 3 perces centrifugálást maximális sebességen (20 000 x g) az eluátumok derítéséhez. Ez nem gyakorol negatív hatást a tiszta eluátumokra, de javítja a zavaros eluátumok teljesítményét a downstream alkalmazásokban.

* Gondoskodjon a készülékek rendszeres, a gyártó ajánlásai szerinti ellenőrzéséről, karbantartásáról és kalibrálásáról.

Protokoll: Előkezelés a Gram-pozitív baktériumok genomikus DNS-ének izolálásához

Egyes Gram-pozitív baktériumok esetében az enzimatis éelőkezelés javíthatja a DNS extrakciót, mielőtt átviszik a mintát az EZ1/EZ2 Connect MDx készülékbe. Ez a protokoll nem alkalmas székletminták kezelésére.

Eljárás:

1. A baktériumpellet képzéséhez végezzen centrifugálást 10 percig 5000 x *g*-n.
2. Szuszpendálja a baktériumpelletet 180 µl enzimoldatban (20 mg/mL lizozim; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100) egy csavaros kupakkal ellátott 2 ml-es csőben.
3. Helyezze vízfürdőbe* vagy száraz inkubátorba*, és inkubálja legalább 30 percig 37 °C-on.
4. A fedél belsején lévő cseppek eltávolításához rövid ideig centrifugálja a csövet.
5. Folytassa a tisztítási protokollal (41. oldal vagy 50. oldal).

* Gondoskodjon a készülékek rendszeres, a gyártó ajánlásai szerinti ellenőrzéséről, karbantartásáról és kalibrálásáról.

Protokoll: Virális nukleinsavak és bakteriális DNS tisztítása az EZ2 Connect MDx készülék használatával

Kezdés előtti fontos szempontok

- Ha először használja az EZ1 DSP Virus Kit terméket, olvassa el „A reagensek tárolása és kezelése”, „A minták kezelése és tárolása” és „Az EZ2 Connect MDx készülékek használata” című részeket, amelyek a 16. oldalon kezdődnek.
- A reagenskazetták (RCV) guanidinsókat tartalmaznak és emiatt nem használhatók fehérítőszeret tartalmazó fertőtlenítőszerekkel. A kezelés során tegye meg a megfelelő biztonsági intézkedéseket, és viseljen kesztyűt. Lásd 12. oldal, Biztonsági információk.
- A protokoll mindegyik lépését szobahőmérsékleten (15–25 °C) kell végrehajtani. Dolgozzon gyorsan a beállítási eljárás során.
- A kit átvételét követően ellenőrizze a kit összetevőinek épségét. Ha a reagenskazetták (RCV) vagy a kit egyéb összetevői sérültek, lépjen kapcsolatba a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatával vagy a helyi forgalmazóval. Folyadék kiömlése esetén lásd „Figyelmeztetések és óvintézkedések” (12. oldal). Ne használjon sérült reagenskazettákat (RCV) vagy a kit egyéb összetevőit, mivel használatuk csökkentheti a kit teljesítményét, illetve a felhasználó sérüléséhez vagy a készülék károsodásához vezethet. Ne távolítsa el a fóliát a reagenskazettákról.

Teendők az eljárás megkezdése előtt

- Készítse elő a szérumot, plazmát, liquort, vagy UTM-be levett nazopharingeális tampont „A minták kezelése és tárolása” című részben, a 18. oldalon leírt módon. Ha a felolvasztott mintákban krioprecipitátumok láthatók, végezze el a minták centrifugálását 6800 x g-vel 3 percen keresztül, a pelleték megbolygatása nélkül vigye át a felülúszót friss csövekbe, és haladéktalanul kezdje meg a tisztítási eljárást.

- Készítse elő a székletmintákat „A minták kezelése és tárolása” című részben, a 18 oldalon és a „Protokoll: Széklet előkezelése” című részben, a 38. oldalon leírt módon.
- A Gram-pozitív baktériumokból történő DNS izoláláshoz készítse elő a mintákat a „Protokoll: Előkezelés a Gram-pozitív baktériumok genomikus DNS-ének izolálásához” (40. oldal) című részben leírt módon.
- Az első használat előtt készítse elő a hordozó RNS (CARRIER) törzsoldatot (az opcionális belső kontrollal [IC]). Oldja fel a liofilizált hordozó RNS-t (CARRIER) (a kitéhez mellékelt) 310 µl eluáló pufferben (AVE), majd keverje össze az (opcionális) belső kontrollal (IC) (optional) a „Hordozó RNS (CARRIER) előkészítése” című részben (36. oldal) és „Belső kontroll (IC) használata” című részben (37. oldal) leírt módon.

Eljárás

1. Mindegyik mintához készítsen 3,6 µl feloldott hordozó RNS-t (CARRIER) tartalmazó 60 µl hordozó RNS-oldatot (opcionális belső kontrollal [IC]) egy 1,5 ml-es csőben (ET) (mellékelve). Óvatosan keverje össze 10-szer fel-le pipetázva. Ne vortexelje.

A 1,5 ml-es csövet (ET) a B sorba kell betölteni a képernyőn megjelenő utasítások szerint.



Gondoskodjon arról, hogy a hordozó RNS (CARRIER) oldat a 1,5 ml-es cső (ET) alján legyen, tehát megfelelő mennyiség lehet átvinni az EZ2 Connect MDx készülékbe.

2. Ekvilibrálnon legfeljebb 24 mintát szobahőmérsékleten (15–25 °C) és vigyen át 100, 200 vagy 400 µl mintát 2 ml-es mintacsövekbe (ST) (nem talpas; a kitéhez mellékelve), majd tölts be a munkaasztalra. Ha fagyasztott mintákat használ, olvassza ki és ekvilibrálna szobahőmérsékleten, és alaposan keverje össze vortex keverő segítségével.

A székletben lévő virális/bakteriális nukleinsavak extrakciójához 200 µl mintatérfogat javasolt. A minták előkezeléséhez olvassa el a megfelelő előkezelési protokollt.

- ❗ Kizárólag a kithez mellékelte 2 ml-es (ST) (nem talpas) csöveket használja.
- ❗ Ne fagyassza le ismét a kiolvasztott mintákat, illetve ne tárolja a mintákat 6 óránál hosszabb ideig 2–8 °C-on, mivel ez jelentősen csökkentheti a virális nukleinsavak vagy bakteriális DNS kinyerését.
- ❗ Ügyeljen arra, hogy ne vigyen át összetapadt mintaanyagot a mintacsövekbe. Ez az eljárás megszakításához és a készülék lefagyásához vezethet.
- ❗ Ne használjon az előírt 100, 200 vagy 400 µl-nél nagyobb mintatérfogatot. A lizálás, majd a virális nukleinsavaknak vagy bakteriális DNS-nek a mágneses részecskékhez való kötődését követően a lizátum egy részét át kell vinni a mintacsőbe (ST). Ne használja fel újra a mintacsőben (ST) maradt mintaanyagot.

3. Kapcsolja be az EZ2 Connect MDx készüléket.

A főkapcsoló a készülék előlapjának jobb oldalán található.

4. Jelentkezzen be a készüléken és válassza a szoftver IVD üzemmódját. Adja meg felhasználói azonosítóját és jelszavát.

Az EZ2 Connect MDx szoftver végigkalauzolja a protokolfuttatás beállításának folyamatán. A folyamat elindításához érintse meg a beállítások lapfülön lévő **SCAN** (Szkenelés) vagy **LIMS** gombot.

- ❗ Ha a LIMS funkció/gomb segítségével szeretne beállítani egy futtatást, olvassa el az *EZ2 Connect MDx Felhasználói kézikönyvet*.

5. Nyomja meg a **Scan** (Szkenelés) gombot és érintse meg a következő képernyőn megjelenő mezőt. Szkenelje be a kithez mellékelte Q-Card kártyán lévő 1D vonalkódot.

A Q-Card kártyán lévő 1D vonalkód beszkenelésével a készülék automatikusan kiválasztja a protokoll típusát.

- ❗ Ha sikertelen a Q-Card szkennelése, akkor a felhasználói felületen is beviheti a kit számát.
- ❗ A Q-Card szkennelése csak akkor hajtható végre, ha elvégezték az összes előírt karbantartási eljárást. Ellenkező esetben indítsa el a karbantartási eljárást, és utána szkennelje be a Q-Card kártyát.
- ❗ Ne használjon lejárt reagenskazettát, mivel ez rossz teljesítményhez vezethet; a készülék érvénytelennek jelöli a mintákat.

6. A folytatáshoz érintse meg a **Next** (Következő) lehetőséget.

Megjegyzés: A Setup (Beállítások) képernyőre való visszatéréshez érintse meg a **Back** (Vissza) vagy a **Cancel** (Mégse) gombot.

7. Ha eltérő protokoll paramétereket szeretne választani, érintse meg az egyes paraméter opciók mellett négyzetet.

8. A folytatáshoz érintse meg a **Next** (Következő) lehetőséget.


9. A minták pozíciójának kiválasztásához érintse meg a megfelelő sorokat a munkaasztal diagramon, vagy érintse meg a megfelelő sorok számát a diagram alatt. A kiválasztott pozíciók kiemeléssel láthatók. Az összes pozíció kiválasztásához vagy a kiválasztás törléséhez érintse meg a **Select all** (Mindent kijelöl) váltógombot.

- ❗ Legalább egy mintapozíció kiválasztása után elérhetővé válik a **Next** (Következő) gomb.

10. A folytatáshoz érintse meg a **Next** (Következő) lehetőséget.

11. Vigye be a mintaazonosítókat manuálisan vagy a kézi vonalkódolvasóval.


- ❗ Ha vonalkódolvasót használ, akkor ügyelnie kell arra, hogy a vonalkód megfelelő típusú és a szkennertől olvasható minőségű legyen.
- ❗ A mintaazonosítók manuális módosításához érintse meg az azonosítót és használja a képernyőn megjelenő billentyűzetet.


 A mintaazonosítóknak egyedinek kell lenniük. A **Next** (Következő) gomb csak akkor válik elérhetővé, ha minden mintához egyedi mintaazonosítót adott meg.

 A beállítás folytatása előtt ellenőrizze, hogy helyes-e a mintaazonosító.

12. A folytatáshoz érintse meg a **Next** (Következő) lehetőséget.

13. Nyissa ki a készülék ajtaját, és vegye ki a kazetta- és a hegytartó állványokat (más néven laboreshoztartót) a készülékből. Helyezze biztonságos helyre az asztalon. A hegytartó állvány eltávolításhoz fogja meg az állvány két oldalát és óvatosan húzza felfelé.


 Attól függően, hogy melyik pozíciót választotta a minták számára, a munkaasztal bal és/vagy jobb oldaláról távolítsa el az állványokat.

 Ne cserélje fel a kazettatartó- és a hegytartó állványokat a különböző készülékek között.

14. A mágneses részecskék összekeveréséhez négyszer fordítsa meg a reagenskazettákat (RCV). A reagenskazetta használata előtt olvassa el a „Teendők az eljárás megkezdése előtt” című részt.


15. Helyezze a reagenskazettát a kazettatartó állványba, majd nyomja le a kazettát, amíg az a helyére nem kattan.

16. Mindegyik betöltött reagenskazetta 11. cellájába helyezzen egy üres mintacsövet (ST) (nem talpas; a kíthez mellékelte).


 Gondoskodjon arról, hogy az üres mintacsövön (ST) ne legyen fedél.

Az üres csőre a protokoll lízis lépéséhez van szükség. Az EZ2 Connect MDx készülék nem érzékeli a cső jelenlétét.


17. Miután minden reagenskazettát előkészített, helyezze mindkét kazettatartó állványt a munkaasztalra.

 Győződjön meg arról, hogy a kazettatartó állvány a megfelelő pozícióba van helyezve, és a pozíciószámok az állványba vannak gravírozva. A számozás balról jobbra 1-től 24-ig tart.

18. A folytatáshoz érintse meg a **Next** (Következő) lehetőséget.
19. Töltse be a CARRIER (IC) csöveket (1,5 ml-es elúciós csövek, ET; a kithez mellékelt) a hegytartó állvány B sorába („laboreszköztartó állvány”).
- Lásd „Hordozó RNS (CARRIER) előkészítése” (36. oldal) és „B függelék: A belső kontroll (IC) mennyiségének kiszámítása” (88. oldal) a CARRIER (IC) keverék készítésének részletes leírásáért.
- ① Gondoskodjon arról, hogy a 1,5 ml-es elúciós csövek (ET) megfelelő térfogatú CARRIER (IC) oldatot tartalmazzanak és fedél nélkül legyenek behelyezve.
20. Helyezze a hegyeket a hegytárolókba és töltse be a hegytároló állvány C sorába.
- ① A hegyek és a hegytárolók előkészítése során csak a hegyek felső részét szabad megérinteni kesztyűs kézzel.
21. Töltse be a 1,5 ml-es elúciós csöveket (ET) az állvány D sorába.
- ① Gondoskodjon arról, hogy az elúciós csövek fedél nélkül legyenek behelyezve.
22. Töltse be a (a kiválasztott protokoll paraméternek megfelelően) 100, 200 vagy 400 µl mintát tartalmazó 2 ml-es mintacsöveket (ST) (nem talpas) az állvány A sorába.
- ① Gondoskodjon arról, hogy a mintacsöveket a 11. lépésben kiválasztott helyes pozíciókba töltse be. **Opcionális:** Használja a „C függelék: Mintalap az EZ1 DSP Virus rendszerrel való használathoz” űrlapot a mintaazonosítók és az elhelyezés nyomon követéséhez.
 - ① Gondoskodjon arról, hogy a mintacsövek fedél nélkül legyenek behelyezve.
 - ① Bizonyosodjon meg arról, hogy a mintacsövek a megfelelő térfogatot tartalmazzák a mintaanyagból. A betöltés ellenőrzése nem észleli, hogy a megfelelő mintatérfogat lett-e betöltve.
 - ① Ügyeljen arra, hogy képződjön hab vagy buborékok a minta tetején vagy a mintacsövek peremén, mivel ez betöltés ellenőrzési hibát okozhat.

 Amint a munkaasztalra helyezte a mintákat, haladéktalanul indítsa el a protokollt, mivel a készülékben történő hosszabb tárolás a minták elpárolgásához vezethet vagy befolyásolhatja a betöltés utáni stabilitást.


23. A csövek és a hegyek betöltése után helyezze az egyes hegytartó állványokat (bal és jobb oldali állvány) a munkaasztalra, és csukja be a fedelet.

 Győződjön meg arról, hogy az állványok a megfelelő pozícióba vannak helyezve, és a pozíciószámok az állványba vannak gravírozva. A számozás balról jobbra 1-től 24-ig tart. A két hegytartó állványt mindig a használt mintapozícióktól függetlenül kell a munkaasztalra helyezni.


24. A folytatáshoz érintse meg a **Next** (Következő) lehetőséget.

25. Ellenőrizze a képernyőn megjelenített információkat a futtatási beállítások áttekintésén, hogy megfelelő-e a protokoll, a minta- és az elúciós térfogat, és a minták száma.

26. Ha minden információ helyes, érintse meg a **Start** (Indítás) gombot a protokollfuttatás folytatásához.



 Ha módosítást szeretne végezni, érintse meg a **Return** (Visszatérés) gombot a futtatási beállításokhoz való visszatéréshez.

27. Ekkor végbemegy a betöltés ellenőrzése. A betöltés ellenőrzésének sikeres befejezése után automatikusan elindul a protokoll.


 Várjon, amíg a betöltés ellenőrzése sikeresen véget ér, mielőtt felügyelet nélkül hagyja a készüléket. Ha sikertelen a betöltés ellenőrzése (pl., a munkaasztal beállítása során ejtett hibák miatt), a futtatás nem indul el és felhasználói beavatkozásra lesz szükség. Ha hosszabb időre felügyelet nélkül hagyja a készüléket, akkor a minták és a reagensek stabilitása csökkenhet.

A betöltés sikeres ellenőrzése után folytassa a 30. lépéssel.


28. Ha a betöltés ellenőrzése sikertelen, akkor megjelenik a „Load check failed” (Betöltés ellenőrzése sikertelen) képernyő. A helytelenül elhelyezett laboreshozók piros jelöléssel láthatók. A megfelelő oszlopot megérintve jelenítse meg a sikertelen betöltési ellenőrzés részletes adatait.

-  Vizuálisan ellenőrizze a kiemelt pozíciókba töltött csöveket a munkaasztalon. Csak a vizuális ellenőrzés után ismételje meg a sikertelen betöltési ellenőrzés futtatását.
-  A betöltés ellenőrzésére vonatkozó korlátozásokra és hibára vonatkozó részletes információkat lásd az *EZ2 Connect MDx Felhasználói kézikönyvet*.

29. A munkaasztal helyes betöltésének megerősítése után érintse meg a **Next** (Következő) gombot a „Load the tip rack” (A hegytartó állvány betöltése) képernyőn. Megjelenik a „Run setup selection overview” (Futtatási beállítások kiválasztásának áttekintése) képernyő, amelyen elérhető a **Skip load check** (Betöltés ellenőrzésének kihagyása) gomb. A protokollfuttatás folytatásához érintse meg a **Skip load check** (Betöltés ellenőrzésének kihagyása) vagy a **Start** (Indítás) gombot.

-  A **Skip load check** (Betöltés ellenőrzésének kihagyása) opció használata esetén a kezelő felelőssége, hogy vizuálisan megerősítse MINDEN munkaasztal pozíció MINDEN fogyóeszközének helyes elhelyezését.


Fontos: A betöltési ellenőrzés kihagyása rögzítésre kerül a futtatási jelentésben, és minden minta érvénytelen jelölést kap.

-  **Fontos:** Ha másodszor is sikertelen a betöltési ellenőrzés, távolítsa el a mintákat és a CARRIER (IC) csöveket a munkaasztalról, helyezze fel a fedelet a csövekre, és tárolja a csöveket megfelelő körülmények között. Kalibrálja újra a kamerát és további támogatásért lépjen kapcsolatba a QIAGEN műszaki támogatásával.

30. A betöltési ellenőrzés sikeres befejezése után a futtatás állása és a futtatásból eltelt idő megjelenik a „Protocol run in progress” (Protokollfuttatás folyamatban) képernyőn.

31. A protokoll sikeres befejezése után megjelenik a „Protocol run completed” (Protokollfuttatás befejezve) képernyő.


32. Nyissa fel a fedelet, óvatosan távolítsa el a hegytartó állványokat és helyezze az asztalra. Elsőként távolítsa el a tisztított DNS- \bar{r} /RNS-t a D sorból. Az egyes elúciós csövek (ET) eltávolítása során nem érintse meg a többi csövet. Zárja le az elúciós csöveket a kithoz mellékelt fedéllel.


 A futtatás befejeződése után haladéktalanul távolítsa el és tárolja az eluátumokat.

33. Ártalmatlanítsa az A sorban lévő minta-előkészítési hulladékot*. Dobja ki a hegytartókat és a hegyeket, valamint a CARRIER (IC) csöveket.


 A hulladékok ártalmatlanítása során kövesse a helyi biztonsági előírásokat.


34. Távolítsa el a kazettatartó állványokat, és dobja ki a reagenskazettát és a 11. cellában lévő csövet.

 A reagenskazetta eltávolítása előtt távolítsa el és dobja ki az egyes kazetták 11. cellában lévő csövét. Ellenkező esetben nem tudja eltávolítani a reagenskazettát a kazettatartó állványból.

 A hulladékok ártalmatlanítása során kövesse a helyi biztonsági előírásokat (lásd továbbá „Figyelmeztetések és óvintézkedések”, 12. oldal).

35. Kövesse a „Futtatás utáni karbantartás” utasításait és a végén érintse meg a jelölőnégyzetet.

 A lyukasztóegység éles! Dupla kesztyű használata javasolt.

 A további karbantartási eljárásokra vonatkozóan lásd az *EZ2 Connect MDx Felhasználói kézikönyvét*.

36. Nyomja meg a **Finish** (Befejezés) gombot a futtatási jelentés létrehozásához, majd lépjen vissza a Home (Kezdőlap) képernyőre. A futtatás befejezésének időpontja és a karbantartási állapot csak a **Finish** (Befejezés) gomb megnyomása után kerül át a futtatási jelentésbe.

37. Az adott munkanap legutolsó futtatása után végezze el a napi karbantartási eljárást, majd az UV-s fertőtlenítést.

38. A napi karbantartás után szükség szerint végezze el a heti karbantartási eljárást.

* A minták hulladéka guanidinsókat tartalmaz, ezért nem kompatibilis a fehérítőszerrel. Lásd 12. oldal, Biztonsági információk.

Protokoll: Virális nukleinsavak és bakteriális DNS tisztítása az EZ1 készülék használatával

Kezdés előtti fontos szempontok

- Ha először használja az EZ1 DSP Virus Kit terméket, olvassa el „A reagensek tárolása és kezelése”, „A minták kezelése és tárolása” és „Munkavégzés az EZ1 készülékekkel” című részeket, amelyek a 16. oldalon kezdődnek.
- A reagenskazetták (RCV) guanidinsókat tartalmaznak és emiatt nem használhatók fehérítőszeret tartalmazó fertőtlenítőszerekkel. A kezelés során tegye meg a megfelelő biztonsági intézkedéseket, és viseljen kesztyűt. Lásd 12. oldal, Figyelmeztetések és óvintézkedések.
- A protokoll mindegyik lépését szobahőmérsékleten (15–25 °C) kell végrehajtani. Dolgozzon gyorsan a beállítási eljárás során.
- A kit átvételét követően ellenőrizze a kit összetevőinek épségét. Ha a reagenskazetták (RCV) vagy a kit egyéb összetevői sérültek, lépjen kapcsolatba a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatával vagy a helyi forgalmazóval. Folyadék kiömlése esetén lásd „Figyelmeztetések és óvintézkedések” (12. oldal). Ne használjon sérült reagenskazettákat (RCV) vagy a kit egyéb összetevőit, mivel használatuk csökkentheti a kit teljesítményét, illetve a felhasználó sérüléséhez vagy a készülék károsodásához vezethet. Ne távolítsa el a fóliát a reagenskazettákról.
- Az eljárás egyes lépéseinél 2 lehetőség közül lehet választani. Válassza a ▲ lehetőséget, ha az EZ1 Advanced vagy az EZ1 Advanced XL készüléket használja; válassza a □ lehetőséget, ha a BioRobot EZ1 DSP készüléket használja.

Teendők az eljárás megkezdése előtt

- Készítse elő a szérumot, plazmát, liquort, vagy UTM-be levett nazopharingeális tampont „A minták kezelése és tárolása” című részben, a 18. oldalon leírt módon. Ha a felolvasztott mintákban krioprecipitátumok láthatók, végezze el a minták centrifugálását 6800 x *g*-vel 3 percen keresztül, a pelletek megbolygatása nélkül vigye át a felülúszót friss csövekbe, és haladéktalanul kezdje meg a tisztítási eljárást.
- Készítse elő a székletmintákat „A minták kezelése és tárolása” című részben, a 18. oldalon és a „Protokoll: Széklet előkezelése” című részben, a 38. oldalon leírt módon.
- A Gram-pozitív baktériumokból történő DNS izoláláshoz készítse elő a mintákat a „Protokoll: Előkezelés a Gram-pozitív baktériumok genomikus DNS-ének izolálásához” (40. oldal) című részben leírt módon.
- Az első használat előtt készítse elő a hordozó RNS (CARRIER) törzsoldatot (az opcionális belső kontrollal [IC]). Oldja fel a liofilizált hordozó RNS-t (CARRIER) (a kitéhez mellékelt) 310 µl eluáló pufferben (AVE), majd keverje össze az (opcionális) belső kontrollal (IC) (optional) a „Hordozó RNS (CARRIER) előkészítése” című részben és „Belső kontroll (IC) használata” című részben, 36–37. oldalon leírt módon.

Eljárás

1. Mindegyik mintához készítsen 3,6 µl feloldott hordozó RNS-t (CARRIER) tartalmazó 60 µl oldatot (opcionális belső kontrollal [IC]) egy 1,5 ml-es csőben (ET) (mellékelve). Óvatosan keverje össze 10-szer fel-le pipetázva. Ne vortexelje.

A 1,5 ml-es csövet (ET) a 3. sorba kell betölteni a képernyőn megjelenő utasítások szerint.





Gondoskodjon arról, hogy a hordozó RNS (CARRIER) oldat a 1,5 ml-es cső (ET) alján legyen, tehát megfelelő mennyiség lehet átvinni az EZ1 készülékbe.


2. Ekvilibrálja a mintákat szobahőmérsékleten (15–25 °C) és vigyen át 100, 200 vagy 400 µl mintát 2 ml-es mintacsövekbe (ST) (nem talpas; a kithez mellékelve), majd töltsse be a munkaasztalra. Ha fagyasztott mintákat használ, olvassa ki és ekvilibrálja szobahőmérsékleten, és alaposan keverje össze vortex keverő segítségével.

A székletben lévő virális/bakteriális nukleinsavak extrakciójához 200 µl mintatérfogat javasolt. A minták előkezeléséhez olvassa el a megfelelő előkezelési protokollt.

 Kizárólag a kithez mellékelt 2 ml-es (ST) (nem talpas) csöveket használja.

 Ne fagyassza le ismét a kiolvasztott mintákat, illetve ne tárolja a mintákat 6 óránál hosszabb ideig 2–8 °C-on, mivel ez jelentősen csökkentheti a virális nukleinsavak vagy bakteriális DNS kinyerését.

 Ügyeljen arra, hogy ne vigyen át összetapadt mintaanyagot a mintacsövekbe. Ez az eljárás megszakításához és a készülék lefagyásához vezethet.

 Ne használjon az előírt 100, 200 vagy 400 µl-nél nagyobb mintatérfogatot. A lizálás, majd a virális nukleinsavaknak vagy bakteriális DNS-nek a mágneses részecskékhez való kötődését követően a lizátum egy részét át kell vinni a mintacsőbe (ST). Ne használja fel újra a mintacsőben (ST) maradt mintaanyagot.


3. Helyezze ▲ az EZ1 Advanced DSP Virus Card kártyát teljesen az EZ1 Advanced Card nyílásba az EZ1 Advanced készüléken, vagy az EZ1 Advanced XL DSP Virus Card kártyát teljesen az EZ1 Advanced XL Card nyílásba az EZ1 Advanced XL készüléken, vagy □ az EZ1 DSP Virus Card kártyát teljesen az EZ1 Card nyílásba a BioRobot EZ1 DSP készüléken.

4. Kapcsolja be az EZ1 készüléket.

A főkapcsoló a készülék bal hátsó részén található.

5. Nyomja meg a **START** (INDÍTÁS) gombot az EZ1 DSP Virus protokoll munkaasztal beállításának elkezdéséhez.


6. Kövesse a képernyőn megjelenő utasításokat a munkaasztal beállításához, a protokoll változók kiválasztásához és a ▲ adatok nyomon követéséhez.


-  Amint a munkaasztalra helyezte a mintákat, haladéktalanul indítsa el a protokollt, mivel a készülékben történő hosszabb tárolás befolyásolhatja a betöltés utáni stabilitást.


7. Nyissa fel a készülék ajtaját.

8. A mágneses részecskék összekeveréséhez 4-szer fordítsa meg a reagenskazettákat (RCV).


9. Töltse be a reagenskazettákat a kazettatartó állványba, majd nyomja le a kazettát, amíg az a helyére nem kattant.

-  Ha 6-nál kevesebb (BioRobot EZ1 DSP, EZ1 Advanced) vagy 14-nél kevesebb (EZ1 Advanced XL) reagenskazetta (RCV) van, akkor tetszőleges sorrendben tölthetők be az állványba. A többi laboratóriumi eszköz betöltése során azonban ugyanezt a sorrendet kell követni.

-  ▲: Az adatok nyomon követése érdekében a minták betöltését mindig az EZ1 Advanced készülék A pozíciójában és az EZ1 Advanced XL készülék 1. pozíciójában kezdje. A fennmaradó mintákat egymás után helyezze a munkaasztal soron következő nyitott pozícióiba.


-  ▲: Az adatok nyomon követése opció használata esetén az adatok összekeverésének elkerülése érdekében gondoskodjon arról, hogy a mintaazonosítók ugyanabban a sorrendben követik egymást, mint a minták a munkaasztalon.


10. Mindegyik betöltött reagenskazetta 11. cellájába helyezzen egy üres 2 ml-es csövet (ST) (nem talpas; a kithoz mellékelte).


-  Gondoskodjon arról, hogy az üres mintacsövön (ST) ne legyen fedél.
Az üres csőre a protokoll lízis lépéséhez van szükség.

11. A munkaasztal további beállításaihoz kövesse a képernyőn megjelenő utasításokat.

Elő kell készíteni az elúciós csöveket, hegyeket és a hegytárolót, a CARRIER (IC) csöveket, valamint a mintacsöveket.


 A hegyek és a hegytárolók előkészítése során csak a hegyek felső részét szabad megérinteni kesztyűs kézzel.


 Gondoskodjon arról, hogy az elúciós csövek (ET, 1,5 ml-es csövek) fedél nélkül legyenek behelyezve.


 Gondoskodjon arról, hogy a mintacsöveket a 9. lépésben kiválasztott helyes pozíciókba töltsse be.

Opcionális: Használja a „C függelék: Mintalap az EZ1 DSP Virus rendszerrel való használathoz” űrlapot a mintaazonosítók és az elhelyezés nyomon követéséhez.


 Gondoskodjon arról, hogy a mintacsövek fedél nélkül legyenek behelyezve.

 Bizonyosodjon meg arról, hogy a mintacsövek a megfelelő térfogatot tartalmazzák a mintaanyagból.

 Ügyeljen arra, hogy képződjön hab vagy buborékok a minta tetején vagy a mintacsövek peremén.

 Amint a munkaasztalra helyezte a mintákat, haladéktalanul indítsa el a protokollt, mivel a készülékben történő hosszabb tárolás befolyásolhatja a betöltés utáni stabilitást.

12. Helyezze a készülékbe az előkészített kazettatartó állványt és hegytartó állványt.

 Ne cserélje fel a kazettatartó- és a hegytartó állványokat a különböző készülékek között.

13. Csukja be a készülék ajtaját.





14. A protokoll elindításához nyomja meg a **START** billentyűt.

15. A protokoll végén a kijelző a „Protocol finished” (Protokoll kész) feliratot mutatja.

▲ Nyomja meg az **ENT** billentyűt a jelentésfájl létrehozásához.

▲ Az EZ1 Advanced és az EZ1 Advanced XL legfeljebb 10 eredményfájlt tárolhat.

A jelentésfájlok közvetlenül kinyomtathatók a csatlakoztatott nyomtatón, illetve átvihetők egy számítógépre.

16. Nyissa fel a készülék ajtaját, óvatosan távolítsa el a hegytartó állványt és helyezze az asztalra.
17. Távolítsa el az 1. sorból a tisztított virális nukleinsavakat és/vagy bakteriális DNS-t tartalmazó elúciós csöveket. Az egyes elúciós csövek eltávolítása során nem érintse meg a többi csövet. Zárja le az elúciós csöveket a kithoz mellékelt fedéllel.
-  A futtatás befejeződése után haladéktalanul távolítsa el a munkaasztalról és tárolja az eluátumokat.
18. Dobja ki a minta-előkészítés során képződött hulladékot.* Dobja ki a hegytartókat és a hegyeket, valamint a CARRIER (IC) csöveket.
19. Távolítsa el a kazettatartó állványt, és dobja ki a reagenskazettát és a 11. cellában lévő csövet.
-  A hulladékok ártalmatlanítása során kövesse a helyi biztonsági előírásokat (lásd továbbá „Figyelmeztetések és óvintézkedések”, 12. oldal).
20. ▲ Javasolt: Kövesse a képernyőn megjelenő utasításokat a munkaasztal felületeinek UV-fertőtlenítéséhez.
21. Végezze ez a rendszeres karbantartási eljárást, például az UV futtatást az EZ1 készülékhez mellékelt felhasználói kézikönyvben leírt módon.
- Minden egyes protokollfuttatás végén el kell végezni a rendszeres karbantartást. Ez a lyukasztóegység és a munkaasztal felületeinek tisztítását foglalja magában.
-  A lyukasztóegység éles! Dupla kesztyű használata javasolt.
-  A további karbantartási eljárásokra vonatkozóan lásd az *EZ1 Advanced XL Felhasználói kézikönyvét*.
22. Másik protokoll futtatásához nyomja meg a **START** (INDÍTÁS) gombot, hajtsa végre a protokoll 1. és 2. lépését, majd kövesse a protokollt az 5. lépéstől kezdve. Egyéb esetben nyomja meg kétszer a **STOP** gombot a kijelző első képernyőjére való visszatéréshez, csukja be a készülék ajtaját, és kapcsolja ki az EZ1 készüléket.
- Másik protokoll futtatása során nem kell elvégezni a 3. és 4. lépést. Hagyja ki ezeket a lépéseket.

* A minták hulladéka guanidinsókat tartalmaz, ezért nem kompatibilis a fehérítőszerrel. Lásd 12. oldal, Figyelmeztetések és óvintézkedések.

Minőség-ellenőrzés

A QIAGEN ISO-minősített minőségirányítási rendszerének megfelelően az EZ1 DSP Virus Kit minden egyes gyártási tételét leellenőrzik, hogy az megfelel-e az előre meghatározott specifikációknak, ezzel biztosítva a termék állandó minőségét.

Korlátozások

Azoknak a laboratóriumi eljárásoknak az esetében, amelyekre nem terjednek ki a QIAGEN teljesítményértékelő vizsgálatok, a felhasználónak kell elvégeznie a rendszer teljesítményének validálását.

A rendszer teljesítményét a teljesítményértékelési vizsgálatok során plazma, szérum, liquor, széklet és UTM-be levett nazopharingeális tamponok felhasználásával, virális nukleinsavak és bakteriális DNS izolálása és szabályszerűen elvégzett downstream alkalmazások során állapították meg. Mivel az általános teljesítmény nagymértékben függ a downstream alkalmazástól, a felhasználó felelőssége a teljes diagnosztikai munkafolyamat teljesítményének validálása, beleértve a mintaelőkészítést és a konkrét downstream alkalmazást is.

A diagnosztikai eredményeket negatívan befolyásoló hatások kockázatának minimalizálása érdekében a downstream alkalmazásokhoz megfelelő kontrollokat kell használni. További validáláshoz javasoljuk az International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH, Műszaki Követelmények Nemzetközi Harmonizációs Konferenciája) által az *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology are recommended*.

A kapott diagnosztikai eredményeket mindig az egyéb klinikai vagy laboratóriumi leletekkel összefüggésben kell értelmezni.

Teljesítményjellemzők

A vonatkozó teljesítményjellemzők a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapfülén érhetők el.

Hibaelhárítási útmutató

Ez a hibaelhárítási útmutató bármely felmerülő hiba esetén segíthet a megoldásban. További információkért kérjük, olvassa el műszaki támogatási oldalunkon a gyakran ismételt kérdéseket: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. A QIAGEN műszaki ügyfélszolgálat kutató szakemberei örömmel állnak rendelkezésére, ha bármilyen kérdése van akár ennek a kézikönyvnek a tartalmával és/vagy a benne szereplő protokollokkal, akár a mintafeldolgozás és az assay módszerével kapcsolatban (az elérhetőség a következő címen található: www.qiagen.com).

Megjegyzések és javaslatok

Általános kezelés

- | | | |
|----|--|---|
| a) | A készülék kijelzőjén megjelenő hibaüzenet | Lásd az EZ1 vagy EZ2 készülékhez mellékelt felhasználói kézikönyvet. |
| b) | Jelentésfájl nem került kinyomtatásra (EZ1 készülék) | Ellenőrizze, hogy a nyomtató a „PC/Printer” soros porton keresztül csatlakozik-e az EZ1 Advanced vagy az EZ1 Advanced XL készülékhez.
Ellenőrizze, hogy a soros port be van-e állítva nyomtató használatára. |
| c) | Jelentésfájl nem lett elküldve a számítógépre (EZ1 készülék) | Ellenőrizze, hogy a számítógép a „PC/Printer” soros porton keresztül csatlakozik-e az EZ1 Advanced vagy az EZ1 Advanced XL készülékhez.
Ellenőrizze, hogy a soros port be van-e állítva számítógép használatára. |
| d) | Hibás Q-Card azonosítót adtak meg (EZ1 készülék) | Ha a Q-Card azonosítója helyett hibás azonosítót adtak meg, az EZ1 Advanced vagy EZ1 Advanced XL nem fogadja el az azonosítót, és a Q-Card azonosító megadásáig a helyes azonosító megadását kéri. Nyomja meg a STOP billentyűt kétszer a főmenübe lépéshez. |
| e) | Hibás Q-Card azonosítót adtak meg (EZ2 Connect MDx készülék) | Ha a Q-Card azonosítója helyett hibás azonosítót adtak meg, az EZ2 Connect MDx nem jeleníti meg a használni kívánt helyes protokollt. Az előírt protokoll megjelenítéséhez adja meg a helyes Q-Card azonosítót.
Az EZ2 Connect MDx a betöltési ellenőrzés során ellenőrzi, hogy a kiválasztott protokoll és a betöltött reagenskazetták megfelelnek-e egymásnak. Ha a hibás Q-Card azonosító miatt nem megfelelő protokoll lett kiválasztva, szakítsa meg a futtatást, és kezdje előlről a készülékfuttatás beállítását. |

Virális nukleinsavak vagy bakteriális DNS alacsony hozama

- | | | |
|----|--|---|
| a) | A mágneses részecskék nem voltak teljesen újraszuspendálva | Gondoskodjon arról, hogy a mágneses részecskéket alaposan reszuszpendálja, mielőtt a reagenskazettákat (RCV) a tartóba tölti. |
|----|--|---|

Megjegyzések és javaslatok

- | | | |
|----|--|--|
| b) | Elégtelen mennyiségű reagens lett felszívva | Miután megfordítja a reagenskazettákat (RCV) a mágneses részecskék újrasszuszpendálása céljából, gondoskodjon arról, hogy az RCV reagensai a cellák aljára ülepednek. |
| c) | Hibás mintatérfogató in mintacsőben | Ügyeljen arra, hogy pontos térfogatú mintát pipettázzon a mintacsőbe. |
| d) | Nem megfelelő mennyiségű minta átvitele (a vártnál kisebb mennyiség került át a mintacsőből) | Ellenőrizze, hogy a mintacsövek a futtatás után majdnem üresek-e. Ellenőrizze, hogy a kiválasztott és a bevitt mintamennyiség összhangban van-e. Ellenőrizze, hogy a csövekben maradt mintaanyag nem tartalmaz-e alvadékokat vagy csapadékot. Ellenőrizze a pipettázó O-gyűrűinek kenését (heti karbantartás). |
| e) | A reagenseket hibás sorrendben töltötték a munkaszaltra | Győződjön meg arról, hogy az összes cső (ET, ST) és a hegyeket (DFT) tartalmazó hegytárolók (DTH) megfelelő sorrendben kerültek a munkaszaltra. Ismétlje meg a tisztítási eljárást új mintákkal. |
| f) | Hordozó RNS (CARRIER) nem lett hozzáadva | Rekonstituálja a liofilizált hordozó RNS-t (CARRIER) 310 µl eluáló pufferben (AVE). Minden mintához adjon 3,6 µl-t ebből a hordozó RNS (CARRIER) törzsoldatból, és keverje össze belső kontrollal (IC) (opcionális) és további eluáló pufferrel (AVE), amíg 60 µl végső térfogatot kap, ennek leírását lásd „Hordozó RNS (CARRIER) előkészítése” és „Belső kontroll (IC) használata”, 36–37. oldal. Ismétlje meg a tisztítási eljárást új mintákkal. |
| g) | Nincs megfelelően összekeverve a hordozó RNS (CARRIER) és az eluáló puffer (AVE) | Legalább 10-szeri fel-le pipettázással keverje össze a hordozó RNS-t (CARRIER), belső kontrollt (IC) (opcionális) és eluáló puffert (AVE). |
| h) | Lebomlott RNS | Lehetséges, hogy az eredeti mintákban lévő RNázok lebontották az RNS-t. Biztosítsa, hogy a minták feldolgozása a gyűjtés vagy a tárolóból való kivétel után azonnal megtörténjen. |

Az RNS vagy a DNS nem jól teljesít a downstream alkalmazásokban

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Az eluátumban kevés vagy egyáltalán nincs nukleinsav | A lehetséges okokat lásd „Virális nukleinsavak vagy bakteriális DNS alacsony hozama”, 59. oldal. Ha lehetséges, növelje a downstream enzimátikus reakcióhoz hozzáadott eluátum mennyiségét. |
| b) | A fagyasztott minták felolvasztás után nem keveredtek össze megfelelően | A fagyasztott mintákat szobahőmérsékleten (15–25 °C) olvassza fel, majd 15 másodpercig pulzávala vortexelje. |
| c) | A mintákban lévő nukleinsavak már a tisztítás előtt lebomlottak | Ez akkor fordulhat elő, ha a mintákat egyszeri felolvasztás után újra lefagyasztották, vagy túl sokáig tárolták szobahőmérsékleten. Mindig friss, vagy legfeljebb egyszer felolvasztott mintákat használjon. Ismétlje meg a tisztítási eljárást új mintákkal. |
| d) | A minta lízise nem volt teljes | Ez akkor fordulhat elő, ha a reagenskazettákat (RCV) túl sokáig tárolták magas hőmérsékleten, ami a proteináz K inaktiválásához vezetett. Ismétlje meg a tisztítási eljárást új minták és reagenskazetták (RCV) felhasználásával. |
| e) | Só-átzennyezés elúció közben | A legjobb eredmény elérése érdekében gondoskodjon arról, hogy a reagenskazetták (RCV) 20–30 °C-os hőmérsékleten legyenek. |











Megjegyzések és javaslatok

- | | | |
|----|---|--|
| f) | Túl sok vagy túl kevés hordozó RNS (CARRIER) van az eluátumban | Határozza meg az amplifikációs reakcióhoz megfelelő maximális hordozó RNS (CARRIER) mennyiséget. Módosítsa a hordozó RNS (CARRIER) oldat koncentrációját. |
| g) | Túl sok eluátum van az amplifikációs reakcióban | Határozza meg az amplifikációs reakcióhoz megfelelő maximális eluátum térfogatot. Ennek megfelelően csökkentse az amplifikációs reakcióhoz adott eluátum térfogatát, vagy növelje az elúciós térfogatot. Ha szükséges, pozitív kontrollt lehet az eluátumhoz adni (preparált eluátum) az eluátum által az amplifikációs reakcióra gyakorolt hatás meghatározása céljából. |
| h) | A tisztított nukleinsavak eltérő teljesítményt adnak a downstream assay-k során | Lehetséges, hogy a kazettában (RCV) lévő 1. mosópufferben vagy 2. mosópufferben lévő só és etanol összetevők szétváltak a hosszú távú tárolás miatt. A kazettákat (RCV) mindig alaposan forgassa meg, és győződjön meg arról, hogy az RCV reagensei leülepedtek a cellák aljára. |
| i) | Érzékenység hiánya a gátló anyagok miatt | Növelje az elúciós térfogatot. Ha szükséges, pozitív kontrollt lehet az eluátumhoz adni (preparált eluátum) az elúciós térfogat által az amplifikációs reakcióra gyakorolt hatás meghatározása céljából.
Ha székletmintákból nyert eluátumok zavarosak, akkor végezzen 3 perces centrifugálást maximális sebességen (20 000 x g) az eluátumok derítéséhez. Ez nem gyakorol negatív hatást a tiszta eluátumokra, de javítja a zavaros eluátumok teljesítményét a downstream alkalmazásokban. Centrifugálás után vigye át az eluátumot egy új mintacsőbe anélkül, hogy felkavarná a pelletet. |
| j) | A reverz transzkriptáz és a <i>Taq</i> DNS-polimeráz új kombinációja | Ha az enzimeket megváltoztatják, lehetséges, hogy módosítani kell az eluáló pufferhez (AVE) hozzáadott hordozó RNS (CARRIER) és a felhasznált eluátum mennyiségét. |
| k) | Mágneses részecskék átszennyezése | A mágneses részecskék eluátummal történő átszennyezés általában nem befolyásolja a downstream alkalmazásokat, így az RT-PCR-t sem. Ha minimalizálni kell a mágneses részecskék átszennyezésének kockázatát (pl. real-time PCR-nél és hasonló alkalmazásoknál), akkor az eluátumot tartalmazó csöveket először tegye 1 percre egy megfelelő mágneses szeparátorba, majd az eluátumokat vigye át tiszta csövekbe. Ha nem áll rendelkezésre megfelelő mágnes, az eluátumokat tartalmazó csöveket centrifugálja mikrocentrifugában teljes fordulatszámon 1 percig, amíg a maradék mágneses részecskék pelletet nem képeznek, majd a felülúszókat vigye át tiszta csövekbe. |

Szimbólumok

A használati útmutatóban, a csomagoláson és a címkéken a következő szimbólumok szerepelnek:

Szimbólum	Szimbólum meghatározása
 <N>	<N> reakcióhoz elegendő reagenst tartalmaz
	Lejárat dátum
	Ez a termék megfelel az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökre vonatkozó 2017/746 számú európai rendelet követelményeinek.
	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Katalógusszám
	Tételszám
	Anyagszám (azaz az összetevők címkeje)
	Egyedi eszközazonosító
	Összetevők

Szimbólum	Szimbólum meghatározása
	Tartalom
	Számok
	Térfogat
	Globális kereskedelmi áruazonosító szám (GTIN)
Rn	Az R a használati útmutató átdolgozását, az n pedig az átdolgozás számát jelöli
	Hőmérsékleti korlátozás
	Cím/ Hivatalos gyártó
	Fontos megjegyzés
	Olvassa el a használati útmutatót
	Napfénytől védve tartandó
	Vigyázat/figyelem

Szimbólum

Szimbólum meghatározása

USE

Kizárólag ezzel használandó

REAG **CART** **VIRUS**

RCV: Vírus reagenskazetta

CAR **RNA**

CARRIER: Hordozó RNS

ELU **BUF**

AVE: Eluáló puffer AVE

DISP **FILT** **TIP**

DFT: Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek

DISP **TIP** **HOLD**

DTH: Egyszer használatos hegytároló

SAMP **TUBE**

ST: Mintacső

ELU **TUBE**

ET: Elúciós cső

GITC

Guanidin-izotiocianát

GuHCl

Guanidine hydrochloride (Guanidin-hidroklorid)

EtOH

Ethanol (Etanol)

IPA

Isopropanol (Izopropanol)

LiCl

Lithium chloride (Lítium-klorid)

Szimbólum

Szimbólum meghatározása



Proteinase K (Proteináz K)



Felnyitáskor ez az oldal legyen lefelé

Kapcsolatfelvételi adatok

Műszaki segítségnyújtásért és további információkért tekintse meg műszaki támogatásunk weblapját a www.qiagen.com/Support címen, hívja a 00800-22-44-6000 telefonszámot, vagy forduljon a QIAGEN valamelyik műszaki szervizosztályához vagy a területileg illetékes forgalmazóhoz (lásd a hátsó borítón vagy a www.qiagen.com webhelyen).

A függelék: Kijelzőn megjelenő üzenetek az EZ1/EZ2 készülékeken

Az EZ1 készülékeken a szoftverprotokoll által a munkaasztal beállítása, a protokoll futtatása közben és a protokoll futtatása után megjelenített üzeneteket a 2–4. táblázat mutatja. A táblázatokban felsorolt üzenetek számai megfelelnek a szoftver által megjelenített üzenetek számainak.

Az EZ1 készülék kijelzőjén megjelenő általános hibaüzeneteket lásd az EZ1 készülékhez mellékelte felhasználói kézikönyvben.

Az EZ2 Connect MDx készüléken megjelenő általános hibaüzeneteket lásd a vonatkozó felhasználói kézikönyvben. Hibaelhárítási támogatásért forduljon a QIAGEN műszaki szolgálatához.

2. táblázat. Az EZ1 Advanced XL DSP Virus eljárás üzenetei

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced XL üzenet szövege
Nincs	Útmutatás	Date/time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup (Dátum/idő, INDÍTÁS: Futtatás, 1: UV 2: Manuális, 3: Tesztelés 4: Beállítás)
1	Útmutatás	EZ1 Advanced XL DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced XL DSP Virus, 1.0 verzió)
2	Adatok nyomon követése	Enter User ID ENT: Next (Felhasználói azonosító megadása, ENT: Következő)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

2. táblázat. Az EZ1 Advanced XL DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced XL üzenet szövege
3	Adatok nyomon követése	Enter Q-Card bar code ENT: Next (Q-Card vonalkód bevitelle, ENT: Következő)
4	Útmutatás	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT: Back (Helytelen kit! Kérem, töltsön be EZ1 DSP Virus Kitet, ENT: Vissza)
5	Útmutatás	Kit expired MMYY ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Kit lejárt: HHÉÉ, ENT: Használjon új kitet, ESC: Állítsa le a protokollt)
6	Adatok nyomon követése	Use Q-Card data with sample 1 to xx Enter 1 to 14 ENT: Next (Használja a Q-Card adatait az 1.–xx. mintához, Vigyen be 1 és 14 közötti számot, ENT: Következő)
7	Útmutatás	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No (Szeretne további mintákat feldolgozni egy másik kit tétellel? ENT: Igen, ESC: Nem)
8	Adatok nyomon követése	Do you want to add sample ID ENT: Yes ESC: No (Szeretné hozzáadni a mintaazonosítót? ENT: Igen, ESC: Nem)
9	Adatok nyomon követése	Enter Sample ID for sample no. [x] ENT: Next (Adja meg [x] mintaszám mintaazonosítóját, ENT: Következő)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

2. táblázat. Az EZ1 Advanced XL DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced XL üzenet szövege
10	Adatok nyomon követése	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No (Szeretné ellenőrizni a mintaazonosítókat?, ENT: Igen, ESC: Nem)
11	Adatok nyomon követése	ID 1 ID 2: ID 3 DOWN: Next (1. azon: 2. azon: 3. azon: LE: Következő)
12	Adatok nyomon követése	ID 4 ID 5 ID 6 DOWN: Next, UP: Back (4. azon: 5. azon: 6. azon: LE: Következő, FEL: Vissza)
13	Adatok nyomon követése	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back (7. azon: 8. azon: 9. azon: LE: Következő, FEL: Vissza)
14	Adatok nyomon követése	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back (10. azon: 11. azon: 12. azon: LE: Következő, FEL: Vissza)
15	Adatok nyomon követése	ID 13: ID 14: ESC: Rescan DOWN: Next, UP: Back (13. azon: 14. azon: ESC: Újraszkenelés, LE: Következő, UP: Vissza)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

2. táblázat. Az EZ1 Advanced XL DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced XL üzenet szövege
16	Adatok nyomon követése	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Szeretné hozzáadni a vizsgálat adatait?) ENT: Igen, ESC: Nem)
17	Adatok nyomon követése	Enter assay ID for sample no. [x] ENT: Next (Adja meg [x] mintaszám vizsgálatazonosítóját) ENT: Következő)
18	Adatok nyomon követése	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No (Szeretné ellenőrizni a vizsgálatazonosítókat?) ENT: Igen, ESC: Nem)
19	Adatok nyomon követése	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Szeretne megjegyzéseket hozzáadni?) ENT: Igen, ESC: Nem)
20	Adatok nyomon követése	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next (Adjon megjegyzést [x] mintaszámhoz, ENT: Következő)
21	Adatok nyomon követése	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No (Szeretné ellenőrizni a megjegyzéseket?) ENT: Igen, ESC: Nem)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

2. táblázat. Az EZ1 Advanced XL DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced XL üzenet szövege
22	Kiválasztás	Select sample volume 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl (Válassza ki a minta térfogatát: 1:100 µl 2:200 µl 3:400 µl)
23	Kiválasztás	Select elution volume 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Válassza ki az elúciós térfogatot: 1:60 µl 2:90 µl 3:120 µl 4:150 µl)
24	Útmutatás	You have chosen: Sample volume: xxx µl Elution volume: yyy µl ENT: Next, ESC: Back (Ön ezt választotta: Mintatérfogat: xxx µl, Elúciós térfogat: yyy µl, ENT: Következő, ESC: Vissza)
25	Útmutatás	Load Cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back (Töltse be a kazettákat ugyanabba a pozícióba, mint a mintákat, ENT: Következő, ESC: Vissza)
26	Útmutatás	Load empty 2 ml tubes into heating block ENT: Next, ESC: Back (Töltsön üres 2 ml-es csöveket a fűtőblokkba, ENT: Következő, ESC: Vissza)
27	Útmutatás	Load elution tubes (1.5 ml) into first row ENT: Next, ESC: Back (Töltsön be elúciós csöveket (1,5 ml) az első sorba, ENT: Következő, ESC: Vissza)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

2. táblázat. Az EZ1 Advanced XL DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced XL üzenet szövege
28	Útmutatás	Load tip holders and tips into second row ENT: Next, ESC: Back (Töltse be a hegytárolókat és a hegyeket a második sorba, ENT: Következő, ESC: Vissza)
29	Útmutatás	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC into third row ENT: Next, ESC: Back (Töltse be a kontroll RNS-t és belső kontrollt tartalmazó 1,5 ml-es csöveket a harmadik sorba, ENT: Következő, ESC: Vissza)
30	Útmutatás	Load 2 ml tubes with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back (Töltse be a mintákat tartalmazó 2 ml-es csöveket a negyedik sorba, ENT: Következő, ESC: Vissza)
31	Útmutatás	Loading finished Close door and press START ESC: Back (Betöltés kész. Csukja be az ajtót, majd nyomja meg az INDÍTÁS gombot. ESC:Vissza)
32	Útmutatás	Please close door! ENT: Next (Kérem, csukja be az ajtót! ENT: Következő)
33	Útmutatás	Checking Temperature Set: Cur: (Hőmérséklet ellenőrzése, Beállított: Aktuális:)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

2. táblázat. Az EZ1 Advanced XL DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced XL üzenet szövege
34	Állapot	Protocol started (Protokoll elindítva)
35	Állapot	Piercing foil [x] of 43 min left (Fólia lyukasztása, 43/[x] perc van hátra)
36	Állapot	Collecting elution buffer [x] of 43 min left (Eluáló puffer AVE gyűjtése, 43/[x] perc van hátra)
37	Állapot	Collecting cRNA + IC [x] of 43 min left (Kontroll RNS + belső kontroll, 43/[x] perc van hátra)
38	Állapot	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Lízispuffer gyűjtése, 43/[x] perc van hátra)
39	Állapot	Collecting Sample [x] of 43 min left (Minta gyűjtése, 43/[x] perc van hátra)
40	Állapot	Collecting Proteinase K [x] of 43 min left (Proteináz K gyűjtése, 43/[x] perc van hátra)
41	Állapot	Mixing lysate [x] of 43 min left (Lizátum keverése, 43/[x] perc van hátra)
42	Állapot	15 min Incubation [x] of 43 min left (15 perc, Inkubálás, 43/[x] perc van hátra)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

2. táblázat. Az EZ1 Advanced XL DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced XL üzenet szövege
43	Állapot	Tip touch [x] of 43 min left (Hegy érintése, 43/[x] perc van hátra)
44	Állapot	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (Kötőpuffer gyűjtése, 43/[x] perc van hátra)
45	Állapot	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Lízispuffer gyűjtése, 43/[x] perc van hátra)
46	Állapot	Collecting Beads [x] of 43 min left (Gyöngyök gyűjtése, 43/[x] perc van hátra)
47	Állapot	Resuspending Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left (Gyöngyök újraszuszpendálása kötőpufferben, 43/[x] perc van hátra)
48	Állapot	Transferring Lysate [x] of 43 min left (Lizátum átvitele, 43/[x] perc van hátra)
49	Állapot	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (Kötés: Mágneses elválasztás, 43/[x] perc van hátra)
50	Állapot	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left (1. mosás, Mágneses elválasztás, 43/[x] perc van hátra)
51	Állapot	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (2. mosás, Mágneses elválasztás, 43/[x] perc van hátra)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

2. táblázat. Az EZ1 Advanced XL DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced XL üzenet szövege
52	Állapot	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (3. mosás, Mágneses elválasztás, 43/[x] perc van hátra)
53	Állapot	Drying Beads [x] of 43 min left (Gyöngyök szárítása, 43/[x] perc van hátra)
54	Állapot	Rinse [x] of 43 min left (Öblítés, 43/[x] perc van hátra)
55	Állapot	Elution [x] of 43 min left (Elúció, 43/[x] perc van hátra)
56	Útmutatás	Check transfer of cRNA + IC (row 3) ENT: Next (Kontroll RNS és belső kontroll átvitelének ellenőrzése (3. sor) ENT: Következő)
57	Útmutatás	Check transfer of sample (row 4) ENT: Next (Kontroll RNS és belső kontroll átvitelének ellenőrzése (4. sor) ENT: Következő)
58	Útmutatás	Protocol finished ENT: Next (Protokoll kész ENT: Következő)
59	Adatok nyomon követése	Transferring report file Attempt no. (Jelentésfájl átvitel, x. kísérlet)
60	Nincs	

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

2. táblázat. Az EZ1 Advanced XL DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced XL üzenet szövege
Nincs	Útmutatás	Report file sent Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k. (Jelentésfájl elküldve. Rendesen kinyomtatódott?) 1: igen, 2: nem)
61	Útmutatás	Report file sent ENT: Next (Jelentésfájl elküldve ENT: Következő)
62	Útmutatás	Report file could not be sent ENT: Resend (Jelentésfájlt nem lehetett elküldeni, ENT: Újraküldés)
63	Útmutatás	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (UV futtatást végez?) ENT: Igen, ESC: Nem)
64	Útmutatás	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next (Távolítsa el az eluátumokat és a fogyóeszközöket a munkaasztalról, ENT: Következő)
65	Útmutatás	UV decontamination: Enter 20-60 min ENT: Next (UV-fertőtlenítés: Adjon meg 20–60 perces időszakot, ENT: Következő)
66	Útmutatás	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back (UV-fertőtlenítés időtartama 20–60 perc legyen), ESC: Vissza)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

2. táblázat. Az EZ1 Advanced XL DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced XL üzenet szövege
67	Útmutatás	UV decontamination Total time: min Time left: min (UV-fertőtlenítés, Teljes idő: perc, Hátralévő idő: perc)
68	Útmutatás	Perform regular Maintenance after each run ESC: Main menu (Minden futtatás után végezzen szokásos karbantartást, ESC: Főmenü)
69	Útmutatás	UV lamps expire Soon UV runs left: ENT: Next (UV lámpák nemsokára lejárnak, A fennmaradó UV futtatások száma: ENT: Következő)
70	Útmutatás	UV lamps are Expired ENT: Next ESC: Abort (UV lámpák lejártak, ENT: Következő, ESC: Megszakít)
71	Útmutatás	Decontamination UV lamps cooling Please stand by (Fertőtlenítés, UV lámpák hűtése folyamatban. Kérjük, várjon.)
72	Útmutatás	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (Minden futtatás után végezzen szokásos karbantartást, ESC: Főmenü)

3. táblázat. Az EZ1 Advanced DSP Virus eljárás üzenetei

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced üzenet szövege
Nincs	Útmutatás	Date/Time START:Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Dátum/Idő INDÍTÁS:Futtatás, 1: UV 2: Manuális 3: Tesztelés 4: Beállítás, Billentyű: INDÍTÁS, 1, 2, 3, 4)
1	Útmutatás	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus, 1.0 verzió)
2	Adatok nyomon követése	Scan/enter user ID (Felhasználói azonosító szkennelése/megadása)
3	Adatok nyomon követése	Scan/enter Q-Card barcode (Q-Card vonalkód szkennelése/megadása)
4	Útmutatás	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT=back (Helytelen kit! Kérem, töltsön be EZ1 DSP Virus Kitet. ENT=vissza)
5	Útmutatás	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Kit lejárt. ENT: Használjon új kitet, ESC: Állítsa le a protokollt)
6	Adatok nyomon követése	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6 (Használja a Q-Card adatokat az 1. mintával az 1–6 beviteléhez)
7	Útmutatás	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No (Szeretne további mintákat feldolgozni egy másik kit tétellel? ENT: Igen, ESC: Nem)
8	Adatok nyomon követése	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No (Szeretné hozzáadni a mintaazonosítót? ENT: Igen, ESC: Nem)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

3. táblázat. Az EZ1 Advanced DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced üzenet szövege
9	Adatok nyomon követése	Scan/enter sample ID sample no. [x] (Szkenelje be/adja meg a [x]. sz. minta mintaazonosítóját)
10	Adatok nyomon követése	ID1: ID2: ID3: Next=ENT (1. azon: 2. azon: 3. azon: Következő=ENT)
11	Adatok nyomon követése	ID4: ID5: ID6: Next=ENT, ID1-3=Up (4. azon: 5. azon: 6. azon: Következő=ENT, 1–3. azon=Fel)
12	Adatok nyomon követése	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Szeretné hozzáadni a vizsgálat adatait? ENT: Igen, ESC: Nem)
13	Adatok nyomon követése	Scan/enter assay ID ID sample no. [x] (Assay-azonosító beszkennelése/megadása, [x]. sz. minta mintaazonosítója)
14	Adatok nyomon követése	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Szeretne megjegyzéseket hozzáadni? ENT: Igen, ESC: Nem)
15	Adatok nyomon követése	Scan/enter notes sample no. [x] (Szkenelje be/adja meg [x]. sz. minta megjegyzéseit)
16	Útmutatás	Select sample volume: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl (Válassza ki a mintatérfogatot: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

3. táblázat. Az EZ1 Advanced DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced üzenet szövege
17	Útmutatás	Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Válassza ki az elúciós térfogatot: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl)
18	Útmutatás	You have chosen: Sample volume: [xxx] µl Elution volume: [yyy] µl Next=Any, Prev=Esc (Ön ezt választotta: Mintatérfogat: [xxx] µl, Elúciós térfogat: [yyy] µl, Következő=Bármely billentyű, Előző=Esc)
19	Útmutatás	Load cartridges at same positions as sample Next=Any, Prev=Esc (Töltse be a kazettákat ugyanabba a pozícióba, mint a mintákat Következő=Bármely billentyű, Előző=Esc)
20	Útmutatás	Load empty 2.0 ml tubes at heating block Next=Any, Prev=Esc (Töltsön üres 2,0 ml-es csöveket a fűtőblokkba, Következő=Bármely billentyű, Előző=Esc)
21	Útmutatás	Load Elution Tubes (1,5 ml) into first row Next=Any, Prev=Esc (Töltsön be elúciós csöveket (1,5 ml) az első sorba, Következő=Bármely billentyű, Előző=Esc)
22	Útmutatás	Load tip holders and tips into second row Next=Any, Prev=Esc (Töltse be a hegytárolókat és a hegyeket a második sorba, Következő=Bármely billentyű, Előző=Esc)
23	Útmutatás	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC in third row Next=Any, Prev=Esc (Töltsön be kontroll RNS-t és belső kontrollt tartalmazó 1,5 ml-es csöveket a harmadik sorba, Következő=Bármely billentyű, Előző=Esc)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

3. táblázat. Az EZ1 Advanced DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced üzenet szövege
24	Útmutatás	Load 2.0 ml tubes with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc (Töltse a mintákat tartalmazó 2,0 ml-es csöveket a negyedik sorba, Következő=Bármely billentyű, Előző=Esc)
25	Útmutatás	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc (Betöltés kész. Csukja be az ajtót és nyomja meg az INDÍTÁS gombot Előző=Esc)
26	Útmutatás	Please close door! (Kérem, csukja be az ajtót!)
27	Útmutatás	Checking temperature Set: Cur: (Hőmérséklet ellenőrzése. Beállított: Aktuális:)
28	Állapot	Protocol started (Protokoll elindítva)
29	Állapot	Piercing foil (Fólia lyukasztása)
30	Állapot	Collecting Elution Buffer AVE (Eluáló puffer AVE gyűjtése)
31	Állapot	Collecting cRNA + IC (Kontroll RNS + belső kontroll gyűjtése)
32	Állapot	Collecting Lysis Buffer (Lízispuffer gyűjtése)
33	Állapot	Collecting Sample (Minta gyűjtése)
34	Állapot	Collecting Proteinase K (Proteináz K gyűjtése)
35	Állapot	Mixing Lysate (Lizátum keverése)
36	Állapot	15 min Incubation [x] of 43 min left (15 perc inkubálás, 43/[x] perc van hátra)
37	Állapot	Kick [x] of 43 min left (Kick, 43/[x] perc van hátra)
38	Állapot	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (Kötőpuffer gyűjtése, 43/[x] perc van hátra)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

3. táblázat. Az EZ1 Advanced DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced üzenet szövege
39	Állapot	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Lízispuffer gyűjtése, 43/[x] perc van hátra)
40	Állapot	Collecting Beads [x] of 43 min left (Gyöngyök gyűjtése, 43/[x] perc van hátra)
41	Állapot	Resuspension of Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left (Gyöngyök újraszuspendálása kötőpufferben, 43/[x] perc van hátra)
42	Állapot	Transferring Lysate [x] of 43 min left (Lizátum átvitele, 43/[x] perc van hátra)
43	Állapot	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (Kötés: Mágneses elválasztás, 43/[x] perc van hátra)
44	Állapot	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left (1. mosás, Mágneses elválasztás, 43/[x] perc van hátra)
45	Állapot	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (2. mosás, Mágneses elválasztás, 43/[x] perc van hátra)
46	Állapot	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (3. mosás, Mágneses elválasztás, 43/[x] perc van hátra)
47	Állapot	Dry Beads [x] of 43 min left (Gyöngyök szárítása, 43/[x] perc van hátra)
48	Állapot	Rinse [x] of 43 min left (Öblítés, 43/[x] perc van hátra)
49	Állapot	Elution [x] of 43 min left (Elúció, 43/[x] perc van hátra)
50	Útmutatás	Check transfer of cRNA + IC (row 3) Next=Any (Kontroll RNS és belső kontroll átvitelének ellenőrzése (3. sor), Következő=Bármelyik billentyű)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

3. táblázat. Az EZ1 Advanced DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced üzenet szövege
51	Útmutatás	Check transfer of sample (row 4) Next=Any (Minta átvitelének ellenőrzése (4. sor), Következő=Bármelyik billentyű)
52	Útmutatás	Protocol finished (Protokoll kész)
53	Adatok nyomon követése	Transfer Report file, attempt no. (Jelentésfájl átvitele, x. sz. kísérlet)
54	Útmutatás	Report file sent Next=ENT (Jelentésfájl elküldve Következő=ENT)
55	Útmutatás	Report file could not be sent Resend=ENT (Jelentésfájlt nem lehetett elküldeni. Újraküldés=ENT)
56	Útmutatás	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (UV futtatást végezz? ENT: Igen, ESC: Nem)
57	Útmutatás	UV decontamination Set Time min Key:0-9, ENT (UV-ferőtlenítés, Beállított idő perc, Billentyű:0-9, ENT)
58	Útmutatás	UV decontamination. Time must be between 20-60 min Key:ESC (UV-ferőtlenítés. Az időtartamnak 20-60 perc között kell lennie. Billentyű:ESC)
59	Útmutatás	UV decontamination Time left: min (UV-ferőtlenítés. Hátralévő idő: perc)
60	Útmutatás	Perform regular maintenance after each run ESC=Main menu (Minden egyes futtatás után végezz rendszeres karbantartást. ESC=Főmenü)
61	Útmutatás	UV lamp expires soon UV runs left: ENT=continue (Az UV lámpa élettartama rövidesen lejár. A fennmaradó UV futtatások száma: ENT=folytatás)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

3. táblázat. Az EZ1 Advanced DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	EZ1 Advanced üzenet szövege
62	Útmutatás	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort (UV lámpa lejárt. ENT=folytatás, ESC=megszakítás)
63	Útmutatás	Decontamination UV lamp cooling Please stand by (Fertőtlenítés, UV lámpa hűlés, Kérjük, várjon)

4. táblázat. A BioRobot EZ1 DSP Virus eljárás üzenetei

Üzenet száma	Üzenet típusa	BioRobot EZ1 DSP üzenet szövege
Nincs	Útmutatás	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Dátum/Idő INDÍTÁS: Futtatás, 1: UV 2: Manuális 3: Tesztelés 4: Beállítás, Billentyű: INDÍTÁS, 1, 2, 3, 4)
1	Útmutatás	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus 1.0 verzió)
2	Adatok nyomon követése	Scan/enter user ID (Felhasználói azonosító szkennelése/megadása)
3	Útmutatás	Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Válassza ki az elúciós térfogatot: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl)
4	Útmutatás	You have chosen Sample Volume:[sample volume] µl Elution Volume:[elution volume] µl Next=Any, Prev=ESC (Ön ezt választotta: Mintatérfogat:[mintatérfogat] µl, Elúciós térfogat:[elúciós térfogat] µl, Következő=Bármely billentyű, Előző=ESC)
5	Útmutatás	Load cartridges (RCV) at same positions as samples Next=Any, Prev=ESC (Töltse be a kazettákat ugyanabba a pozícióba, mint a mintákat, Következő=Bármely billentyű, Előző=ESC)
6	Útmutatás	Load empty 2.0 ml tubes (ST) at heating block Next=Any, Prev=ESC (Töltsön üres 2,0 ml-es mintacsöveket a fűtőblokkba. Következő=Bármely billentyű, Előző=ESC)
7	Útmutatás	Load elution tubes (ET) (1,5 ml) into first row Next=Any, Prev=ESC (Töltsön be elúciós csöveket (1,5 ml) az első sorba. Következő=Bármely billentyű, Előző=ESC)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

4. táblázat. A BioRobot EZ1 DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	BioRobot EZ1 DSP üzenet szövege
8	Útmutatás	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC (Töltse be a hegytárolókat és a hegyeket a második sorba. Következő=Bármely billentyű, Előző=ESC)
9	Útmutatás	Load 1.5 ml tubes (ET) with (CARRIER) + IC in third row Next=Any, Prev=ESC (Töltse be hordozó RNS-t és belső kontrollt tartalmazó 1,5 ml-es csöveket a harmadik sorba. Következő=Bármely billentyű, Előző=ESC)
10	Útmutatás	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=ESC (Töltse a mintákat tartalmazó 2,0 ml-es csöveket a negyedik sorba. Következő=Bármely billentyű, Előző=ESC)
11	Útmutatás	Start protocol Press START Prev=Esc (Indítsa el a protokollt. Nyomja meg az INDÍTÁS gombot. Előző=Esc)
12	Állapot	Checking Temperature Set: 63.0 [deg] Cur: [deg] (Hőmérséklet ellenőrzése. Beállított: 63,0 [fok] Aktuális: [fok])
13	Állapot	Protocol started (Protokoll elindítva)
14	Állapot	Piercing Foil (Fólia lyukasztása)
15	Állapot	Collecting Elution Buffer (AVE) (Eluáló puffer gyűjtése)
16	Állapot	Collecting cRNA (CARRIER) + IC (Kontroll (hordozó) RNS és belső kontroll gyűjtése)
17	Állapot	Collecting Lysis Buffer (Lizispuffer gyűjtése)
18	Állapot	Collecting Sample (Minta gyűjtése)
19	Állapot	Collecting (Gyűjtés)
20	Állapot	Mixing Lysate (Lizátum keverése)
21	Állapot	Checking Temperature Set: 56.0 [deg] Cur: [deg] (Hőmérséklet ellenőrzése. Beállított: 56,0 [fok], Aktuális: [fok])
22	Állapot	15 min Incubation (15 perc inkubálás)
23	Állapot	Kick
24	Állapot	Collecting Binding Buffer (Kötőpuffer gyűjtése)

A táblázat a következő oldalon folytatódik.

4. táblázat. A BioRobot EZ1 DSP Virus eljárás üzenetei (folytatás)

Üzenet száma	Üzenet típusa	BioRobot EZ1 DSP üzenet szövege
25	Állapot	Collecting Lysis Buffer (Lizispuffer gyűjtése)
26	Állapot	Collecting Beads (Gyöngyök gyűjtése)
27	Állapot	Resuspension of Beads in Binding Buffer (Gyöngyök újraszuspendálása kötőpufferben)
28	Állapot	Transferring Lysate (Lizátum átvitele)
29	Állapot	Binding Magnetic Separation (Kötés Mágneses elválasztás)
30	Állapot	Wash 1 Magnetic Separation (1. mosás Mágneses elválasztás)
31	Állapot	Wash 2 Magnetic Separation (2. mosás Mágneses elválasztás)
32	Állapot	Wash 3 Magnetic Separation (3. mosás Mágneses elválasztás)
33	Állapot	Dry Beads (Gyöngyök szárítása)
34	Állapot	Kick
35	Állapot	Dry Beads (Gyöngyök szárítása)
36	Állapot	Kick
37	Állapot	Rinse (Öblítés)
38	Állapot	Checking Temperature Set: 65.0 [deg] Cur: [deg] (Hőmérséklet ellenőrzése. Beállított: 65,0 [fok] Aktuális: [fok])
39	Állapot	Elution (Elúció)
40	Útmutatás	Check transfer of cRNA (CARRIER) + IC (row 3) Next=Any (Kontroll (hordozó) RNS és belső kontroll átvitelének ellenőrzése (3. sor). Következő=Bármelyik billentyű)
41	Útmutatás	Check transfer of sample (tube [ST], row 4) Next=Any (Minta átvitelének ellenőrzése (mintacső, 4. sor). Következő=Bármelyik billentyű)
42	Útmutatás	Protocol finished! Press ESC to return to Menu (Protokoll kész! A menübe való visszatéréshez nyomja meg az ESC billentyűt)

B függelék: A belső kontroll (IC) mennyiségének kiszámítása

A mintaelőkészítés és a downstream assay hatékonyságának monitorozásához szükség lehet belső kontroll (IC) hozzáadására a mintaelőkészítési folyamathoz. Az EZ1 DSP Virus protokollban szükséges belső kontroll (IC) mennyiségének kiszámításához figyelembe kell venni a mintánként hozzáadott IC-tartalmú puffer térfogatát és az adott assay-hez szükséges elúciós térfogatot.

A downstream reakciókba jutó belső kontroll (IC) mennyiségének kiszámítása

Egy adott downstream assay-ben jelen lévő belső kontroll (IC) térfogatának kiszámításához használja az alábbi képletet:

$$IC_{RXN} = \frac{IC_{LB} \times LB_{SAM} \times EL_{RXN}}{(LB_{TOT} + IC_{LB}) \times EL_{SAM}}$$

ahol:

IC_{RXN} = a belső kontroll (IC) térfogata downstream reakciónként

IC_{LB} = a lízispufferhez (LB) adott belső kontroll (IC) térfogata

LB_{SAM} = a lízispuffer (LB) térfogata mintánként

EL_{RXN} = Az eluátum térfogata downstream reakciónként

LB_{TOT} = a protokollban használt lízispuffer (LB) plusz hordozó RNS (CARRIER) összes térfogata

EL_{SAM} = Az eluátum térfogata mintánként

Például, a korábban kidolgozott assay rendszert használva az 1. felhasználó 39 µl belső kontroll oldatot (ICLB) ad 8,4 ml lízispufferhez (LB) és 140 µl hordozó RNS-hez (CARRIER). Az assay rendszer manuális referencia eljárását használva 625 µl lízispuffer (LB) kerül hozzáadásra mintánként (LB_{SAM}), és a használt elúció térfogat 75 µl (EL_{SAM}). Az 1. felhasználó 50 µl eluátumot használ downstream reakciónként (EL_{RXN}). A belső kontroll térfogata downstream reakciónként (IC_{RXN}):

$$IC_{RXN} = \frac{39 \mu l \times 625 \mu l \times 50 \mu l}{(8540 \mu l + 39 \mu l) \times 75 \mu l} = 1,89 \mu l$$

Az adott assay rendszer downstream reakciói 1,89 µl belső kontroll oldatot tartalmaznak reakciónként.

Az indulás előtt hozzáadandó belső kontroll mennyiség meghatározása

Ha tudja, hogy milyen mennyiségű belső kontrollt (IC) szeretne a downstream assay-ben (IC_{RXN}), akkor meg kell határoznia, hogy mennyi belső kontrollt (IC) kell hígítani eluáló pufferrel (AVE) és hordozó RNS-sel (CARRIER) (IC_{AVE}) a tisztítás elkezdése előtt. Használja az alábbi képletet az érték kiszámításához:

$$IC_{AVE} = \frac{IC_{RXN} \times IC_{TOT} \times EL_{SAM}}{IC_{SAM} \times EL_{RXN}}$$

ahol:

IC_{AVE} = Az eluálópuffer–hordozó RNS (AVE–CARRIER) (IC) keverékben hígított belső kontroll (IC) térfogata

IC_{RXN} = A belső kontroll (IC) térfogata downstream reakciónként

- IC_{TOT} = Az eluálópuffer–hordozó RNS (AVE–CARRIER) (IC) keverékben hígított belső kontroll (IC) összes térfogata futtatásonként
- IC_{SAM} = A hozzáadott hígított belső kontroll (IC) térfogata mintánként (50 μ l)
- EL_{SAM} = Az eluátum térfogata mintánként
- EL_{RXN} = Az eluátum térfogata downstream reakciónként

Például, a 2. felhasználó olyan assay-t végez, amely reakciónként 1.0 μ l belső kontroll oldat (IC_{RXN}) és reakciónként 20 μ l eluátum (EL_{RXN}) használatára van optimalizálva. A 2. felhasználó az EZ1 DSP Virus protokollt követi, és 60 μ l elúciós térfogatot (EL_{SAM}) választott ki. Mindegyik feldolgozott mintához 60 μ l hígított belső kontrollt (IC) kell manuálisan pipettázni a 1,5 ml-es csőbe (ET) az EZ1 munkaasztal 3. pozíciójában vagy az EZ2 munkaasztal B sorában, de az EZ1 DSP Virus protokoll minta-előkészítési eljárása során az EZ1/EZ2 készülék csak 50 μ l hígított belső kontrollt (IC_{SAM}) visz át a 3. cellából/B sorból a kötési reakcióba. Ha egyetlen futtatásban 6 mintát dolgoznak fel, akkor a készítenő hígított belső kontroll (IC_{TOT}) térfogata:

$$IC_{TOT} = \text{Minták száma futtatásonként} \times 60 \mu\text{l}$$

$$= 6 \times 60 \mu\text{l} = 360 \mu\text{l}$$

A 2. felhasználó által 6 mintához igényelt belső kontroll oldat (IC_{AVE}) térfogata:

$$IC_{AVE} = \frac{1 \mu\text{l} \times 360 \mu\text{l} \times 60 \mu\text{l}}{(50 \mu\text{l} \times 20 \mu\text{l})} = 21,6 \mu\text{l}$$

Mindegyik mintához 3,6 µl 1 µg/µl koncentrációjú hordozó RNS (CARRIER) törzsoldatot kell hozzáadni az IC hígításhoz. 6 mintához szükséges összes térfogat számítása:

Hordozó RNS törzsoldat összes térfogata = 6 x 3,6 µl hordozó RNS törzsoldat = 21,6 µl

A hígított belső kontroll (IC) végső összes 360 µl térfogatához a felhasználónak a következő eluáló puffert (AVE) kell hozzáadnia:

$$\begin{aligned} \text{Eluáló puffer (AVE) térfogata} &= IC_{\text{TOT}} - IC_{\text{AVE}} - \text{hordozó RNS (CARRIER) térfogata} \\ &= 360 \mu\text{l} - 21,6 \mu\text{l} - 21,6 \mu\text{l} = 316,8 \mu\text{l} \end{aligned}$$

A 2. felhasználónak 21,6 µl belső kontroll oldatot kell hozzáadnia 316,8 µl eluáló pufferhez (AVE) és 21,6 µl hordozó RNS (CARRIER) törzsoldathoz, hogy 360 µl hígított belső kontrollt (IC) kapjon. Ebből a hígított belső kontrollból (IC) 60 µl-t kell manuálisan átvinni a 1,5 ml-es csövekbe (ET) az EZ1 munkaasztal 3. pozíciójában vagy az EZ2 munkaasztal B sorában az EZ1 DSP Virus protokoll elkezdése előtt.

C függelék: Mintalap az EZ1 DSP Virus rendszerrel való használathoz

Ez a mintalap sablon hasznos lehet a nyilvántartáshoz az EZ1 DSP Virus eljárás során. Ez a lap fénymásolható, vagy kinyomtatható, és hozzáadható a minták leírása és a futtatás részletes adatai.

EZ1 DSP Virus rendszer

Dátum/idő: _____ Kit tételszám: _____

Kezelő: _____ Futtatási azonosító: _____

EZ1 sorozatszám: _____

Pozíció a munkaasztalon	Mintaazonosító	Mintaanyag	Reagenskazetta és üres cső betöltve?	Mintacső betöltve?	Elúciós cső betöltve?	Hegytároló és hegyek betöltve?	Hordozót és belső kontroll tartalmazó elúciós cső betöltve?
1 (bal)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14 (jobb)							

Dátum/idő: _____ Kit tételszám: _____

Kezelő: _____ Futtatási azonosító: _____

E22 sorozatszám: _____

Pozíció a munkasztalon	Mintaazonosító	Mintaanyag	Reagenskazetta és üres cső betöltve?	Mintacső betöltve?	Elúciós cső betöltve?	Hegytároló és hegyek betöltve?	Hordozót és belső kontroll tartalmazó elúciós cső betöltve?
1 (bal)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24 (jobb)							

Rendelési információk

Termék	Tartalom	Katalógusszám
EZ1 DSP Virus Kit (48)	48 preparátum, virális nukleinsavak és/vagy bakteriális DNS: Előltöltött reagenskazetták, eldobható hegytartók, eldobható szűrős hegyek, mintacsövek, eluáló csövek, pufferek, hordozó RNS	62724
EZ1 Advanced XL DSP Virus Card	Előre programozott kártya EZ1 DSP Virus protokollhoz; az EZ1 Advanced XL készülékkel való használatra	9018703
EZ1 Advanced DSP Virus Card	Előre programozott kártya EZ1 DSP Virus protokollhoz; az EZ1 Advanced készülékkel való használatra	9018306
EZ1 DSP Virus Card	Előre programozott kártya EZ1 DSP Virus protokollhoz; a BioRobot EZ1 DSP készülékkel való használatra*	9017707
EZ1 Advanced XL	Robotizált készülék nukleinsavak automatizált tisztításához, 14 mintából, EZ1 Kitek használatával, 1 éves jótállás az alkatrészekre és munkadíjra*	9001492

* PLUS 2 jótállás (kat.sz. 9237720) javasolt: 3 éves jótállás, 1 megelőző karbantartási vizit évenként, 48 órás elsőbbségi válaszadás, minden munkadíj, utazási költség és javításhoz szükséges alkatrészek.

Termék	Tartalom	Katalógusszám
EZ2 Connect MDx	Asztali készülék nukleinsavak automatizált tisztításához, akár 24 minta párhuzamosan, lezárt, előre töltött EZ1 Kit kazetták használatával; 1 éves jótállás az alkatrészekre és munkadíjra WiFi csatlakozás, könnyen használható LIMS és QIASphere	9003230
Buffer ASL (4 x 140 mL)	4 x 140 ml Buffer ASL	19082

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit használati utasításában található. A QIAGEN kitek használati utasításai a www.qiagen.com weboldalon érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Dokumentum átdolgozási előzményei

Átdolgozás	Leírás
R1, 2022. június	<ul style="list-style-type: none">• Új Kit verzió V5, megfelel a 2017/746 EU rendeletnek (IVDR)• Az új EZ2 Connect MDx készülék használatának hozzáadása• Mellékelt anyagok frissítése (hatóanyagok hozzáadása)• Korlátozások fejezet frissítése: teljes vér, vizelet, szárított tamponok, köpet eltávolítása az alkalmas mintaanyagok közül• Figyelmeztetések és óvintézkedések frissítése• A reagensek tárolása és kezelése fejezet frissítése• Hordozó RNS felbontás utáni stabilitásának frissítése• Ártalmatlanítás fejezet hozzáadása• Hibaelhárítási útmutató frissítése
R2, 2022. november	Katalógusszám és reagens nevének javítása a Kit tartalma táblázatban.

Korlátozott licenc megállapodás az EZ1 DSP Virus Kíthez

A termék használatával a termék vásárlója vagy felhasználója elfogadja a következő feltételeket:

1. A terméket kizárólag a hozzá tartozó protokollok és a jelen kézikönyv szerint, valamint a panelhez tartozó összetevőkkel együtt szabad használni. A QIAGEN a szellemi tulajdonát képező termékek egyikének esetében sem engedélyezi, hogy a panelhez tartozó összetevőket a termékhez mellékelte protokollokban, a jelen kézikönyvben és a www.qiagen.com webhelyen elérhető további protokollokban leírtak kivételével más, nem a panelhez tartozó összetevőkbe beépítsék vagy azokkal együtt használják. E kiegészítő protokollok némelyikét a QIAGEN felhasználói bocsátották rendelkezésre a QIAGEN felhasználói számára. A QIAGEN nem végezte el ezeknek a protokolloknak az alapos vizsgálatát és optimalizálását. A QIAGEN nem vállal jótállást ezekért a protokollokért, és nem garantálja azt sem, hogy azok nem sérítik harmadik felek jogait.
2. Az itt leírt licencen kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ez a panel és/vagy ennek használata nem sérti harmadik felek jogait.
3. A panel és összetevőinek licence csak egyszeri használatra jogosít; újrafelhasználása, felújítása vagy újraértékesítése tilos.
4. A QIAGEN a kifejezett licencen kívül különösen kizár minden más konkrét vagy vélelmezett jogot.
5. A panel vásárlója és felhasználója elfogadja, hogy semmilyen olyan lépést nem tesz, és másnak sem engedélyezi semmilyen olyan lépés megtételét, amely a fentiekben előírtak megszegéséhez vezet vagy azt elősegíti. A QIAGEN jogosult a jelen korlátozott licencszerződésben foglalt tilalmak bármely bíróságon keresetűli érvényesítésére és a korlátozott licencre vonatkozó jelen szerződés vagy a pannellel és/vagy összetevőivel kapcsolatos bármilyen szellemi tulajdonjog érvényesítése céljából indított peres eljárással kapcsolatban felmerülő összes vizsgálati és perki költség követelésére, beleértve az ügyvédi költségeket is.

A frissített licencfeltételekért lásd www.qiagen.com.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, EZ1®, EZ2®, BioRobot® (QIAGEN Group). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvény védelméen kívül esőnek, ha nincsenek külön jelöléssel ellátva.

2022. november HB-3026-002 1129846HU © 2022 QIAGEN, minden jog fenntartva.

Rendelés: www.qiagen.com/shop | Műszaki támogatás: support.qiagen.com |
Webhely: www.qiagen.com