

# Navodila (priročnik) za uporabo kompleta EZ1<sup>®</sup> DSP Virus Kit



48

Različica 5



Za diagnostično uporabo in vitro.

Za uporabo z instrumenti BioRobot<sup>®</sup> EZ1 DSP, EZ1 Advanced in EZ1 Advanced XL

Za uporabo z instrumentom EZ2<sup>®</sup> Connect MDx (različica programske opreme 1.1 ali novejša)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NEMČIJA



R1

1127536SL

# Contents

Namen uporabe.....	4
Predvideni uporabnik.....	4
Opis in načelo delovanja .....	5
Povzetek in obrazložitev .....	6
Potrebna oprema, ki je vključena v dobavo .....	8
Vsebina kompleta.....	8
Sestavni deli kompleta .....	9
Potrebna oprema, ki ni vključena v dobavo .....	10
Opozorila in varnostni ukrepi.....	12
Varnostne informacije .....	12
Varnostni ukrepi .....	14
Informacije za nujne primere .....	14
Odlaganje med odpadke .....	15
Shranjevanje in ravnanje z reagenti .....	16
Stabilnost med uporabo .....	17
Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim .....	18
Vzorci plazme in seruma.....	19
Vzorci blata .....	20
Nazofaringealni brisi v univerzalnem mediju za transport (Universal Transport Medium, UTM).....	20
Vzorci cerebrospinalne tekočine (Cerebrospinal Fluid, CSF).....	20
Vzorci grampozitivnih bakterij.....	21

Elucijski volumni in ravnanje z eluati .....	21
Shranjevanje virusnih nukleinskih kislin/bakterijske DNA.....	21
Postopek .....	22
Delo z instrumenti EZ2 Connect MDx .....	22
Delo z instrumenti EZ1 .....	29
Priprava prenašalne RNA (CARRIER).....	36
Uporaba interne kontrole (Internal Control, IC) .....	37
Protokol: Predhodna obdelava blata .....	39
Protokol: Predhodna obdelava za izolacijo genomske DNA grampozitivnih bakterij .....	41
Protokol: Prečiščevanje virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA z uporabo EZ2 Connect MDx .....	42
Protokol: Prečiščevanje virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA z uporabo instrumentov EZ1 .....	51
Nadzor kakovosti .....	58
Omejitve .....	59
Značilnosti delovanja .....	60
Navodila za odpravljanje težav .....	61
Simboli.....	64
Kontaktne podatki .....	68
Dodatek A: Prikazna sporočila na instrumentih EZ1/EZ2 .....	69
Dodatek B: Izračun količine interne kontrole (Internal Control, IC) .....	89
Dodatek C: Vzorčni list za uporabo s sistemom EZ1 DSP Virus System .....	93
Informacije za naročanje .....	96
Zgodovina revizije dokumenta .....	98

## Namen uporabe

Komplet EZ1 DSP Virus Kit uporablja tehnologijo magnetnih delcev za samodejno izolacijo in prečiščevanje nukleinskih kislin in bakterijske DNA iz bioloških vzorcev.

Komplet EZ1 DSP Virus Kit je namenjen za diagnostično uporabo in vitro.

## Predvideni uporabnik

Izdelek je namenjen za uporabo s strani profesionalnih uporabnikov, npr. tehnikov in zdravnikov, ki so usposobljeni glede molekularnih bioloških tehnik.

# Opis in načelo delovanja

Tehnologija magnetnih delcev združuje hitrost in učinkovitost prečiščevanja nukleinskih kislin na osnovi silicijevega dioksida s priročno uporabo magnetnih delcev. Postopek prečiščevanja je zasnovan tako, da zagotavlja varno in ponovljivo uporabo potencialno kužnih vzorcev. Postopek prečiščevanja zajema 4 korake: liza, vezava, izpiranje in elucija (glejte naslednje razdelke in diagram na strani 7). Za blato je obvezna predhodna obdelava vzorca. Glejte protokol za predhodno obdelavo za zadevni vzorčni material.

## Liza s proteinazo K

Proteoliza vzorcev se izvede pod zelo denaturacijskimi pogoji pri povišanih temperaturah. Liza se izvede ob prisotnosti proteinaze K in pufera za lizo, ki skupaj zagotovita razgradnjo virusnih plaščnih beljakovin in inaktivacijo nukleaz.

## Vezava na magnetne delce

Liziranim vzorcem se doda vezalni pufer za prilagoditev pogojev vezave. Lizati se dobro premešajo z magnetnimi delci, kar zagotovi optimalno adsorpcijo virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA na silicijevo površino. Sol in pogoji pH zagotavljajo, da se beljakovine in druga onesnaževala, ki lahko zavirajo verižno reakcijo s polimerazo (Polymerase Chain Reaction, PCR) in druge nadaljnje encimske reakcije, ne vežejo na magnetne delce.

## Izpiranje vezanih nukleinskih kislin

Onesnaževala se učinkovito izperejo med 3 zaporednimi koraki izpiranja, ki jim sledita koraka splakovanja in zračnega sušenja, virusne nukleinske kisline in bakterijska DNA pa pri tem ostanejo vezane na magnetne delce.

## Elucija čistih nukleinskih kislin

Zelo čiste virusne nukleinske kisline in bakterijska DNA se eluirajo v elucijskem pufri (AVE) v enem koraku. Prečiščene nukleinske kisline je mogoče uporabiti takoj v nadaljnjih postopkih, lahko pa jih tudi shranite za prihodnjo uporabo.

## Povzetek in obrazložitev

Komplet EZ1 DSP Virus Kit omogoča samodejni postopek za simultano prečiščevanje virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA z uporabo instrumentov EZ1 ali EZ2 Connect MDx iz naslednjih vzorčnih materialov:

- Serum in plazma
- Cerebrospinalna tekočina (Cerebrospinal Fluid, CSF)
- Blato
- Nazofaringealni brisi v univerzalnem mediju za transport (Universal Transport Medium, UTM)

Komplet je mogoče uporabiti za prečiščevanje nukleinskih kislin iz širokega nabora virusov DNA in RNA ter DNA iz bakterij. Vendar pa učinkovitost kompleta ni zagotovljena za vse vrste patogenov, ekstrahiranih iz posameznega vzorčnega materiala, ter jo mora validirati uporabnik. Tehnologija magnetnih delcev omogoča prečiščevanje visokokakovostnih nukleinskih kislin, ki so brez beljakovin, nukleaz in drugih nečistoč. Prečiščene nukleinske kisline so pripravljene za uporabo za visoko občutljivo detekcijo v nadaljnjih postopkih, kot je pomnoževanje. Instrumenti EZ1 (EZ1 Advanced, BioRobot EZ1 DSP in EZ1 Advanced XL) in EZ2 Connect MDx izvedejo vse korake postopka priprave vzorcev za do 6 vzorcev (z uporabo EZ1 Advanced ali BioRobot EZ1 DSP; oba ukinjena), za do 14 vzorcev (z uporabo EZ1 Advanced XL) ali za do 24 vzorcev (z uporabo EZ2 Connect MDx) med enim samim izvajanjem.

## Postopek EZ1 DSP Virus

Serum, plazma, cerebrospinalna tekočina (Cerebrospinal Fluid, CSF) in nazofaringealni brisi v univerzalnem mediju za transport (Universal Transport Medium, UTM)



Liza s proteinazo K in pufrom za lizo



Lizatam so dodani magnetni delci in vezalni pufer



Nukleinske kisline se vežejo na magnetne delce



Magnet

Magnetno ločevanje



Trije koraki izpiranja, nato splakovanje in zračno sušenje



Magnet

Magnetno ločevanje




Elucija z elucijskim pufrom (AVE)



Prečiščene virusne nukleinske kisline in/ali bakterijska DNA visoke kakovosti

# Potrebna oprema, ki je vključena v dobavo

## Vsebina kompleta

<b>EZ1 DSP Virus Kit</b>			<b>(48)</b>
<b>Kataloška št.</b>			<b>62124</b>
<b>Število pripravkov</b>			<b>48</b>
RCB	Reagent Cartridge (kartuša z reagenti), virus 350 µl*†	<b>REAG</b> <b>CART</b> <b>BLOOD</b>	48
DTH	Disposable Tip Holders (držala za konice za enkratno uporabo)	<b>DISP</b> <b>TIP</b> <b>HOLD</b>	50
DFT	Disposable Filter-Tips (konice za filtre za enkratno uporabo)	<b>DISP</b> <b>FILT</b> <b>TIP</b>	50
ST	Sample Tubes (epruvete za vzorec) (2 ml), brez spodnjega roba	<b>SAMP</b> <b>TUBE</b>	50
ET	Elution Tubes (epruvete za elucijo) (1,5 ml)	<b>ELU</b> <b>TUBE</b>	50
CARRIER	Carrier RNA (Prenašalna RNA)	<b>CAR</b> <b>RNA</b>	310 µg
AVE	Elution Buffer† (elucijski pufer)	<b>ELU</b> <b>BUF</b>	3 x 2 ml
	Q-Card‡		1
	Navodila za uporabo		1

\* Vsebuje gvanidinijevo sol. Ni združljiv z razkužili, ki vsebujejo belilo. Glejte stran 12 za Varnostne informacije.

† Vsebuje konzervans natrijev azid.

‡ Informacije, kodirane v črtni kodi na kartici Q-Card, so potrebne za spremljanje podatkov o reagentih pri uporabi instrumentov EZ1Advanced, EZ1 Advanced XL in EZ2 Connect MDx.



## Sestavni deli kompleta

Glavne komponente kompleta, ki vsebujejo aktivne sestavine, so pojasnjene spodaj.

**Preglednica 1. Dobavljeni reagenti, ki vsebujejo aktivne sestavine**

<b>Reagent</b>	<b>Komponente</b>	<b>Koncentracija (w/w) [%]</b>
Kartuša z reagenti za viruse (RCV)	Etanol	≥ 70 do < 90
	Izopropanol	≥ 70 do < 90
	Gvanidinijev tiocianat	≥ 30 do < 50
	Gvanidinijev klorid	≥ 30 do < 50
	Proteinaza K	≥ 1 do < 10
	Litijev klorid	≥ 1 do < 10

## Potrebna oprema, ki ni vključena v dobavo

Pri delu s kemikalijami vedno nosite ustrezno laboratorijsko haljo, rokavice za enkratno uporabo in zaščitna očala. Več informacij poiščite v ustreznih varnostnih listih (Safety Data Sheets, SDS), ki so na voljo pri dobavitelju izdelka.

### Vsi protokoli

- Pipete\* in sterilne konice za pipete brez RNaz
- Reakcijske epruvete (samo za specifične vrste vzorcev)
- Mehki papirnati robčki
- Voda
- 70-% etanol (za postopke čiščenja)
- **Izbirno:** vibracijski mešalnik\* (če je treba premešati vzorce)
- **Izbirno:** mikrocentrifuga\* (če je treba odstraniti magnetne delce iz eluatov)

### Za prehodno obdelavo blata

- Pufer Buffer ASL (kat. št. 19082)
- Vibracijski mešalnik
- Toplotni stresalnik\* ali vodna kopel s 70 °C\*

### Za izolacijo genomske DNA grampozitivnih bakterij

- Lizocim, Tris-HCl, EDTA, Triton X-100
- Toplotni stresalnik\* ali vodna kopel s 37 °C\*
- Centrifuga (z zmogljivostjo 5000 x g)

\* Zagotovite, da so bili instrumenti redno pregledani, vzdrževani in umerjeni v skladu s priporočili proizvajalca.

## Za uporabnike instrumenta BioRobot EZ1

- Instrument BioRobot EZ1 DSP\* (ukinjen)
- Kartica EZ1 DSP Virus Card (kat. št. 9017707)

## Za uporabnike instrumenta EZ1 Advanced

- Instrument EZ1 Advanced\* (ukinjen)
- Kartica EZ1 Advanced DSP Virus Card (kat. št. 9018306)

## Za uporabnike instrumenta EZ1 Advanced XL

- Kartica EZ1 Advanced XL\* (kat. št. 9001492)
- Kartica EZ1 Advanced XL DSP Virus Card (kat. št. 9018703)

## Za uporabnike instrumentov EZ1 Advanced in EZ1 Advanced XL

- Za spremljanje vzorca je obvezno nekaj od naslednjega:
  - Osebni računalnik (z zaslonom) s programsko opremo EZ1 Advanced Communicator (programska oprema, dobavljena skupaj z instrumentoma EZ1 Advanced in EZ1 Advanced XL)
  - Tiskalnik
  - Za več podrobnosti glejte priročnik za ustrezeni instrument.

## Za uporabnike instrumenta EZ2 Connect MDx

- Instrument EZ2 Connect MDx\* (kat. št. 9003230)

\* Zagotovite, da so bili instrumenti redno pregledani, vzdrževani in umerjeni v skladu s priporočili proizvajalca  
\* Zagotovite, da so bili instrumenti redno pregledani, vzdrževani in umerjeni v skladu s priporočili proizvajalca.

## Opozorila in varnostni ukrepi

Upoštevajte, da boste morda morali upoštevati lokalne predpise glede poročanja o resnih dogodkih, ki se zgodijo v zvezi s pripomočkom, proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu zastopniku in regulatornemu organu glede na lokacijo uporabnika in/ali bolnika.

Za diagnostično uporabo in vitro.

Pred uporabo kompleta skrbno preberite navodila.

Zavedajte se naslednjih preostalih tveganj:

- Pri uporabi sekundarnih epruvet (epruvet za vzorec (ST)) poskrbite, da ne pride do zamenjave ID-jev vzorcev med prenosom ID-ja vzorca s primarne na sekundarno epruveto.
- ID-je vzorcev lahko vnesete tudi ročno (za podrobnosti glejte uporabniški priročnik za instrument EZ1 ali EZ2). Če ročno vnesete napačno številko ID, lahko pride do napačnega ujemanja med vzorcem in bolnikom.

## Varnostne informacije

Pri delu s kemikalijami vedno nosite ustrezno laboratorijsko haljo, rokavice za enkratno uporabo in zaščitna očala. Več informacij poiščite v ustreznih varnostnih listih (Safety Data Sheet, SDS). Ti so na voljo v obliki PDF na spletnem naslovu [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), kjer lahko najdete, preberete in natisnete varnostne liste (Safety Data Sheet, SDS) za vse komplete QIAGEN® ter njihove sestavne dele.

### **OPOZORILO Nevarnost osebnih poškodb**



Ne dodajajte belila ali kislih raztopin neposredno v odpadke, nastale pri pripravi vzorca.

- Nekateri pufri v kartušah z reagenti (RCV) vsebujejo gvanidinijev klorid ali gvanidinijev tiocianat, ki lahko v kombinaciji z belilom tvorita zelo reaktivne spojine.
- Če se tekočina, ki vsebuje te pufre, razlije, jo očistite z ustreznim laboratorijskim detergentom in vodo. Če se na instrument EZ1/EZ2 polije tekočina, ki vsebuje potencialne patogene, razkužite instrument z reagenti, opisanimi v uporabniškem priročniku, ki je priložen instrumentu EZ1/EZ2.
- Kartuše z reagenti (RCV), ki so poškodovane ali puščajo, morate obravnavati in zavreči v skladu z lokalnimi varnostnimi predpisi. Ne uporabljajte poškodovanih kartuš z reagenti (RCV) ali drugih poškodovanih komponent kompleta, saj lahko to povzroči slabo delovanje kompleta, poškodbe uporabnika ali poškodovanje instrumenta.
- Družba QIAGEN ni testirala tekočih odpadkov, ki nastanejo pri postopku EZ1 DSP Virus, glede ostankov kužnega materiala. Onesnaženje tekočih odpadkov z ostanki kužnih snovi je malo verjetno, vendar ga ni mogoče popolnoma izključiti. Zato je treba preostale tekoče odpadke obravnavati kot kužne ter jih obravnavati in zavreči v skladu z lokalnimi varnostnimi predpisi.
- Primerki in vzorci so lahko kužni. Vzorce in odpadke, ki nastanejo med postopkom, zavrzite v skladu z lokalnimi varnostnimi postopki.

## Varnostni ukrepi

Za sestavne dele kompleta EZ1 DSP Virus Kit veljajo naslednji stavki o nevarnosti in previdnostni stavki:

### Reagent Cartridge, Virus Mini, v2.0 CE (RCV)



Vsebuje: etanol, gvanidinijev klorid, gvadaninijev tiocianat, izopropanol, litijev klorid in proteinazo K. Nevarnost! Lahko vnetljiva tekočina in hlapi. Zdravju škodljivo pri zaužitju ali vdihavanju. Lahko je škodljivo pri stiku s kožo. Povzroča hude opekline in okvare oči. Lahko povzroči simptome alergije ali astme ali težave z dihanjem pri vdihavanju. Lahko povzroči draženje dihal. Lahko povzroči zaspanost ali omotico. Škodljivo za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki. Stik s kislinami sprosti zelo strupen plin. Hraniti ločeno od vročine/isker/odprtega ognja/vročih površin. Kajenje prepovedano. Ne vdihavati prahu/dima/plina/meglice/hlapov/razpršila. Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za obraz/oči. Nositi zaščito za dihala. PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem. Pri izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti: Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE ali zdravnika. Osebo premaknite na svež zrak in jo ohranjajte v udobnem položaju za dihanje. Kontaminirana oblačila oprati pred ponovno uporabo. Hraniti na dobro prezračevanem mestu. Vsebino/posode je treba zavreči na odobrena odlagališča.

## Informacije za nujne primere

CHEMTREC

ZDA in Kanada: 1-800-424-9300

Zunaj ZDA in Kanade: +1 703-527-3887

## Odlaganje med odpadke

Odpadki vsebujejo vzorce in reagente. Ti odpadki lahko vsebujejo nevarne ali kužne snovi in jih je treba ustrezno odstraniti.

Nevarne odpadke zavržite v skladu z lokalnimi in nacionalnimi predpisi. To velja tudi za neuporabljene izdelke.

Tekočih odpadkov ne smete zavreči v kanalizacijo.

Upoštevajte priporočila v varnostnem listu (Safety Data Sheet, SDS).

Za pravilne postopke odstranjevanja upoštevajte lokalne varnostne predpise. Glejte tudi »Opozorila in varnostni ukrepi« od strani 12 naprej.




Več informacij poiščite v ustreznih varnostnih listih (Safety Data Sheet, SDS). Ti so na voljo v obliki PDF na spletnem naslovu [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), kjer lahko najdete, preberete in natisnete varnostne liste (Safety Data Sheet, SDS) za vse komplete QIAGEN ter njihove sestavne dele.

## Shranjevanje in ravnanje z reagenti

Kartuše z reagenti (RCV) shranjujte v pokončnem položaju pri sobni temperaturi (15–25 °C). Magnetni delci v kartušah z reagenti (RCV) ostanejo aktivni, če so shranjeni pri tej temperaturi. Kartuš z reagenti (RCV) ne zamrzujte. Pravilno shranjene kartuše z reagenti (RCV) so stabilne do datuma roka uporabnosti, ki je naveden na kartici Q-Card, škatli kompleta in črtni kodi na kartuši.

Liofilizirana prenašalna RNA (CARRIER) je stabilna do roka uporabnosti, ki je naveden na škatli kompleta, če je shranjena pri sobni temperaturi.

V pufru za predhodno obdelavo ASL lahko med shranjevanjem pri sobni temperaturi nastane usedlina. Inkubirajte steklenico 15–20 minut pri 50–56 °C in jo med tem časom inkubacije dvakrat ročno pretresite.

-  Komplet EZ1 DSP Virus Kit ali Buffer ASL ne uporabljajte po preteku roka uporabnosti. Preprečite, da bi bile kartuše z reagenti (RCV) ali Buffer ASL izpostavljeni UV svetlobi (npr. za dekontaminacijo), saj lahko to pospeši staranje puetrov.
-  Če so kartuše z reagenti (RCV) poškodovane ali predhodno odprte, jih ne uporabljajte.
-  Ne odstranjujte folije s kartuš z reagenti. Instrument jo bo preluknjel samodejno.





## Stabilnost med uporabo

Kartuše z reagenti (RCV) so namenjene enkratni uporabi in ne zagotavljajo stabilnosti med uporabo.

Rekonstituirana osnovna raztopina prenašalne RNA (CARRIER) ima koncentracijo 1 ng/μl in je stabilna do 4 tedne, če je shranjena pri 2–8 °C.

Pufer za predhodno obdelavo ASL je stabilen do 6 mesecev po prvem odprtju/uporabi steklenice, če je steklenica zaprta in shranjena pri sobni temperaturi (15–25 °C).

-  Priporočamo, da datum prvega odprtja/uporabe puфра ASL zabeležite na steklenico in poskrbite, da ne boste presegli stabilnosti med uporabo.
-  Če je rok uporabnosti preostalih delov kompleta krajši od 6 mesecev, puфра ASL ni dovoljeno uporabljati po datumu izteka uporabnosti.

# Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim

Med postopkom predhodne obdelave in nadaljnjimi pripravami je treba z vzorci ustrezno ravnati, da preprečite njihovo zamenjavo.

Postopek prečiščevanja je optimiziran za uporabo s prostorninami vzorcev 100, 200 ali 400 µl.

- ❗ Ne uporabljajte manjših ali večjih prostornin vzorcev razen 100, 200 ali 400 µl, saj lahko to povzroči težave pri delovanju ali poškoduje instrument.

Stabilnost vzorca je močno odvisna od različnih dejavnikov in je povezana s specifično nadaljnjo uporabo. Za EZ1 DSP Virus Kit je bila določena v kombinaciji z vzorčnimi nadaljnjimi postopki. Uporabnik je odgovoren za to, da preveri navodila za uporabo specifičnega nadaljnega postopka, ki se uporablja v njihovem laboratoriju, in/ali validira celoten potek dela in določi ustrezne pogoje shranjevanja.

- ❗ Za splošna priporočila glede odvzema, transporta in shranjevanja glejte odobreno smernico CLSI MM13-A »Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods« (Odvzem, transport, priprava in shranjevanje vzorcev za molekularne metode). Poleg tega je treba med pripravo, shranjevanjem, transportom in splošno obravnavo vzorca upoštevati proizvajalčeva navodila za uporabljen napravo/komplet za odvzem vzorca.

## Vzorci plazme in seruma

Pri odvzemu krvi upoštevajte navodila proizvajalca epruvet za odvzem krvi (Blood Collection Tube, BCT), ki jih uporabljate. Zlasti upoštevajte navodila glede pravilnega položaja epruvete za odvzem krvi (Blood Collection Tube, BCT) med odvzемом krvi, zahtevanega volumna polnjenja ter navodila za nežno mešanje in obračanje epruvete za odvzem krvi (Blood Collection Tube, BCT) po odvzemu krvi.

**Opomba:** Napačno in/ali nezadostno mešanje vzorcev krvi je lahko ena najpomembnejših spremenljivk pred preiskavo. Če aditivi v epruvetah za odvzem krvi niso homogeno premešani z vzorcem, je lahko ogrožena kakovost virusnih nukleinskih kislin, kar lahko vpliva na veljavnost in zanesljivost rezultatov preiskave.

Za pripravo plazme je mogoče uporabiti vzorce krvi, obdelane z EDTA ali citratom kot antikoagulantom. Vzorci plazme in seruma so lahko sveži ali zamrznjeni, pod pogojem, da niso bili ponovno zamrznjeni po odtaljevanju.

Za preiskavo virusnih nukleinskih kislin (NA, nucleic acid) priporočamo, da začnete s pripravo plazme iz vzorcev krvi s centrifugiranjem takoj po transportu (največ 2 uri pri sobni temperaturi). V primeru zamude so lahko epruvete za odvzem krvi z EDTA in citratom do centrifugiranja in priprave plazme shranjene do 6 ur pri 4 °C. Vzorci seruma so lahko do centrifugiranja shranjeni pri sobni temperaturi do 2 uri. Pogoje in trajanje shranjevanja je treba evidentirati.

Po pripravi plazme in seruma za daljše shranjevanje priporočamo, da hranite alikvote vzorcev pri -20 °C do -80 °C. Zamrznjene alikvote vzorca odmrzujte 30–90 minut pri 25 °C. Epruvete z vzorcem obrnite vsaj 10-krat, vzorce pa obdelajte takoj, ko se ogrejejo na sobno temperaturo. Odtaljenih alikvotov ne zamrzujte ponovno. Večkratno zamrzovanje in odtaljevanje povzroči denaturacijo in obarjanje beljakovin, kar povzroči zmanjšanje virusnih in bakterijskih titrov ter posledično zmanjša izkoristke virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA. Če so v vzorcih vidni krioprecipitanti, jih centrifugirajte 3 minute ± 30 sekund pri 6800 x g, prenesite supernatante v sveže epruvete brez premikanja sedimenta in takoj zaženite postopek čiščenja. Ta korak ne bo zmanjšal virusnih titrov, lahko pa vpliva na bakterijske titre.

## Vzorci blata

Po odvzemu hranite in transportirajte vzorce blata pri 2–8 °C. Za ekstrakcijo virusnih ali bakterijskih nukleinskih kislin iz blata je priporočen volumen vzorca 200 µl. Pred ekstrakcijo je treba izvesti predhodno obdelavo na instrumentu EZ1 ali EZ2 (glejte stran 39 za »Protokol: Predhodna obdelava blata«).

Za splošna priporočila glede odvzema, transporta in shranjevanja glejte odobreno smernico CLSI MM13-A »Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods« (Odvzem, transport, priprava in shranjevanje vzorcev za molekularne metode).

## Nazofaringealni brisi v univerzalnem mediju za transport (Universal Transport Medium, UTM)

Nazofaringealne brise v univerzalnem mediju za transport (Universal Transport Medium, UTM) je mogoče transportirati pri sobni temperaturi.

Za splošna priporočila glede odvzema, transporta in shranjevanja glejte odobreno smernico CLSI MM13-A »Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods« (Odvzem, transport, priprava in shranjevanje vzorcev za molekularne metode).

## Vzorci cerebrospinalne tekočine (Cerebrospinal Fluid, CSF)

Za raziskave DNA je treba vzorce cerebrospinalne tekočine (Cerebrospinal Fluid, CSF) transportirati pri 2–8 °C. Za raziskave RNA je treba vzorce cerebrospinalne tekočine transportirati na suhem ledu.

Za splošna priporočila glede odvzema, transporta in shranjevanja glejte odobreno smernico CLSI MM13-A »Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods« (Odvzem, transport, priprava in shranjevanje vzorcev za molekularne metode).

## Vzorci grampozitivnih bakterij

Za ekstrakcijo DNA iz grampozitivnih bakterij, ki jih je težko lizirati, lahko pred ekstrakcijo na instrumentu EZ1 ali EZ2 Connect MDx izvedete dodatni korak pred lizo, ki zajema lizocimsko razgradnjo (glejte stran 41, »Protokol: Predhodna obdelava za izolacijo genomske DNA grampozitivnih bakterij«).

## Elucijski volumni in ravnanje z eluati

Končni korak postopka prečiščevanja je elucija virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA v končnem volumnu 60, 90, 120 ali 150 µl.

Če je vzorčni material blato, priporočamo, da izberete elucijski volumen 120–150 µl.

Če so eluati, pridobljeni iz blata, motni, jih 3 minute centrifugirajte pri polni hitrosti (20.000 x g), da se zbistrijo. Takšna obdelava bo izboljšala rezultate motnih eluatov pri nadaljnji uporabi.

## Shranjevanje virusnih nukleinskih kislin/bakterijske DNA

Za kratkotrajno shranjevanje do 24 ur priporočamo, da shranjujete očiščene virusne nukleinske kisline ali bakterijsko DNA pri 2–8 °C. Za dolgoročno shranjevanje, ki traja več kot 24 ur, priporočamo shranjevanje pri –80 °C do 12 mesecev ali pri –20 °C do 12 tednov. Stabilnost nukleinskih kislin se lahko razlikuje za specifične nadaljnje uporabljene postopke in jo mora uporabnik validirati sam.

Stabilnost eluata je močno odvisna od različnih dejavnikov in je povezana s specifično nadaljnjo uporabo. Za EZ1 DSP DNA Virus Kit je bila določena v kombinaciji z vzorčnimi nadaljnjimi postopki. Uporabnik je odgovoren za to, da preveri navodila za uporabo specifičnega nadaljnjega postopka, ki se uporablja v njihovem laboratoriju, in/ali validira celoten potek dela in določi ustrezne pogoje shranjevanja.

# Postopek

Komplet EZ1 DSP Virus Kit je mogoče uporabiti na več vrstah instrumentov:

- EZ2 Connect MDx
- EZ1 Advanced XL in EZ1 Advanced (ukinjena)
- BioRobot EZ1 DSP (ukinjen)

## Delo z instrumenti EZ2 Connect MDx

Glavne značilnosti instrumentov EZ2 Connect MDx vključujejo naslednje:

- Samodejno prečiščevanje visokokakovostnih nukleinskih kislin iz 1 do 24 vzorcev na izvajanje
- Predhodno nameščeni protokoli, pripravljeni za uporabo
- Predhodno napolnjene, zapečatenе kartuše z reagenti za enostavno, varno in hitro namestitvev
- Zunanji bralnik črtnih kod, ki se uporablja za branje ID-jev vzorcev in ID-jev kompleta (Q-Card)
- Grafični uporabniški vmesnik (Graphical User Interface, GUI)
- Interna kamera, ki se uporablja za samodejno preverjanje vstavljenih komponent in branje črtne kode kartuše z reagenti
- UV svetilka, ki omogoča dekontaminacijo delovne plošče

Dodatne značilnosti EZ2 Connect MDx vključujejo naslednje:

- Povezljivost LIMS in QIASphere (LAN ali WiFi prek USB vrat)
- Razširjeno upravljanje uporabnikov

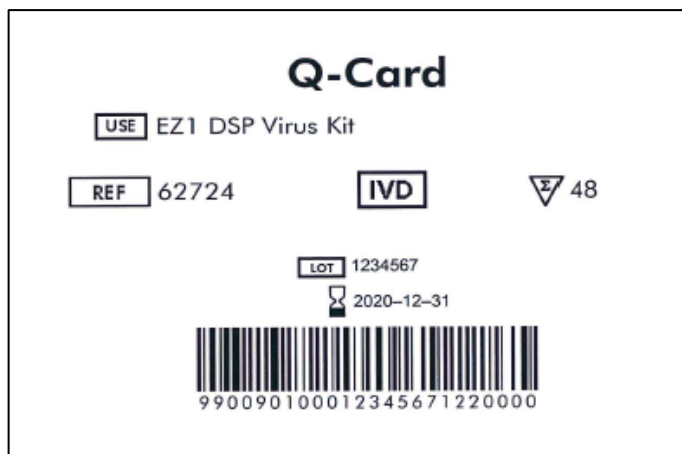
- i** UV dekontaminacija pomaga zmanjšati morebitno kontaminacijo površin delovne plošče instrumenta EZ2 Connect MDx s patogeni. Učinkovitost inaktivacije je treba določiti za vsak specifičen organizem in je odvisna npr. od debeline sloja in vrste vzorca. Družba QIAGEN ne more jamčiti za popolno uničenje specifičnih patogenov.

## Postopek delovanja EZ2 Connect MDx

Preden nadaljujete, priporočamo, da se seznanite z značilnostmi instrumenta, ki so opisane v *uporabniškem priročniku za EZ2 Connect MDx* (ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

- i** Pokrov instrumenta EZ2 Connect MDx mora med delovanjem instrumenta ostati zaprt in se bo med delovanjem samodejno zaklenil. Pokrov odprite samo v primerih, ko to narekujejo navodila za uporabo. Delovna plošča instrumenta EZ2 Connect MDx se med delovanjem instrumenta premika. Med delovanjem instrumenta EZ2 Connect MDx nikoli ne odpirajte pokrova.

Za nastavitve izvajanja protokola zaprite pokrov in vklopite instrument. Za postopke MDx ob prijavi izberite način IVD. Pritisnite zavihek »**Setup**« (**Namestitev**) na začetnem zaslonu in skenirajte črtno kodo 1D na kartici Q-card, ki je priložena kompletu EZ1 DSP Virus Kit (slika 1), tako da kliknete gumb »**Scan**« (Skeniraj). Po skeniranju kartice Q-Card so samodejno prikazani namenski protokoli.



Slika 1. Primer kartice Q-Card.

Programska oprema EZ2 Connect MDx vas bo vodila skozi postopek za nastavitev izvajanja protokola.

### Kartuše z reagenti (RCV)

Reagenti za prečiščevanje nukleinskih kislin iz enega vzorca so vsebovani v eni kartuši z reagenti (RCV) (slika 2). Večina razdelkov kartuše (RCV) vsebuje določen reagent, kot so magnetni delci, pufer za lizo, pufer za izpiranje ali elucijski pufer brez RNaz (AVE). Vsak razdelek vsebuje samo potrebno količino reagenta, kar preprečuje nastajanje dodatnih odpadkov zaradi preostalih reagentov po koncu postopka prečiščevanja.

Kartuše z reagenti (RCV), dobavljene skupaj s kompletom EZ1 DSP Virus Kit, so predhodno napolnjene z vsemi potrebnimi reagenti za prečiščevanje virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA, ne vsebujejo pa prenašalne RNA (CARRIER). Prenasalna RNA (CARRIER) in interne kontrole (Internal Control, IC) (izbirno) se dodajo v epruveto zunaj kartuše z reagenti (RCV).





**Slika 2. Kartuša z reagenti (RCV).** Zapečaten, predhodno napolnjena kartuša z reagenti (RCV) iz kompleta EZ1 DSP Virus Kit.

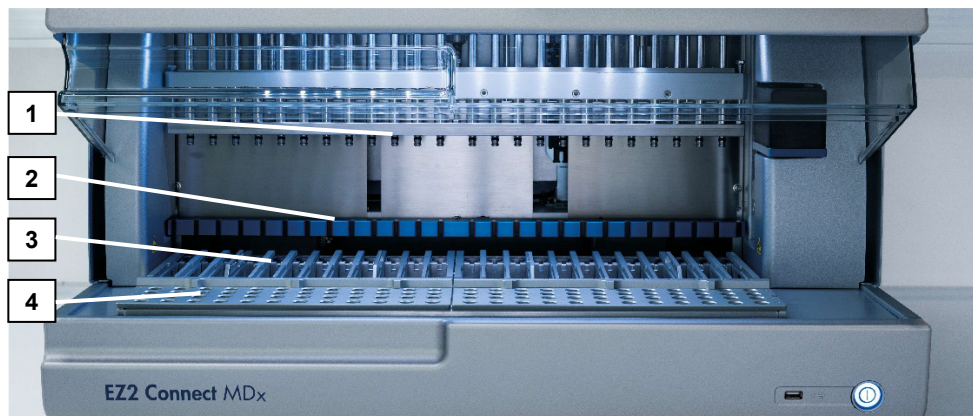


**Slika 3. Stojalo za kartuše z reagenti.** Stojalo za kartuše je označeno s puščico, ki označuje smer, kako je treba vstaviti kartuše z reagenti (RCV).

## Delovna plošča

Delovna plošča instrumenta EZ2 Connect MDx je predel, kamor uporabnik vstavi vzorce in sestavne dele kompleta EZ1 DSP Virus Kit (slika 4 in slika 5).

Podrobnosti o namestitvi delovne plošče so prikazane v uporabniškem vmesniku (Graphical User Interface, GUI) na zaslonu na dotik.



**Slika 4. Pregled instrumenta EZ2 Connect MDx.** (1) Glava pipetorja, (2) magnetni modul, (3) stojalo za kartuše in (4) stojalo za konice (držalo za laboratorijsko opremo).



**Slika 5. Delovna plošča instrumenta EZ2 Connect MDx.** (1) Grelna enota z 2-ml epruvetami za vzorce (ST), vstavljenimi v kartuše z reagenti (RCV) za lizo. (2) Epruvete za vzorce (ST) (2 ml), vstavljene v vrstico A. (3) Epruvete za elucijo (ET) (1,5 ml) s prenašalno RNA (CARRIER) in interno kontrolo (Internal Control, IC) (če se uporablja) v elucijskem pufru (AVE), vstavljene v vrstico B. (4) Držala za konice za enkratno uporabo (DTH) s konicami za filtre za enkratno uporabo (DFT) vstavljeni v vrstico C. (5) Epruvete za elucijo (ET) (1,5 ml), vstavljene v vrstico D.

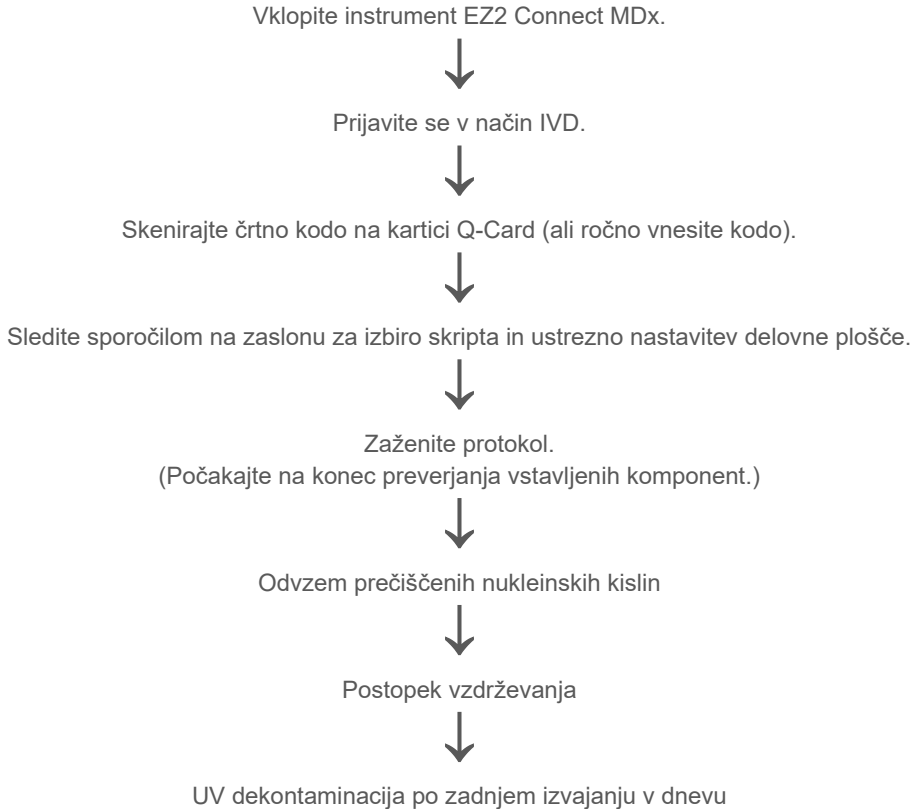
## Sledenje podatkom z instrumentom EZ2 Connect MDx

EZ2 Connect MDx omogoča popolno sledenje različnim podatkom za boljši nadzor nad postopkom in zanesljivost. ID uporabnika se spremlja prek prijave v programsko opremo. Serijska številka in rok uporabnosti kompleta EZ1 DSP Virus Kit se vnese na začetku protokola z uporabo črtne kode na kartici Q-Card ali ročno na zaslonu na dotik. Informacije o vzorcu in nastavitve izvajanja se vnesejo med nastavitvijo protokola. Ob koncu izvajanja protokola je mogoče ustvariti datoteko s poročilom. V razdelku uporabniškega vmesnika (Graphical User Interface, GUI) »Data« (Podatki) je mogoče poročila o izvajanju prenesti na USB ključ (vedno v obliki ».pdf« in ».xml«).

Če je bila za instrument EZ2 Connect MDx vzpostavljena povezava WiFi/LAN, je mogoče informacije o izvajanju in vzorcu obdelati neposredno prek LIMS (če je konfiguriran).

Za več podrobnosti o nastavitvi instrumenta EZ2 Connect MDx glejte *Uporabniški priročnik za EZ2 Connect MDx* (ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Potek dela za postopek EZ1 DSP Virus v instrumentu EZ2 Connect MDx




## Delo z instrumenti EZ1

Glavne značilnosti instrumentov EZ1 vključujejo naslednje:

- Prečiščevanje visokokakovostnih nukleinskih kislin iz 1 do 6 (BioRobot EZ1 DSP in EZ1 Advanced) ali 1 do 14 (EZ Advanced XL) vzorcev na izvajanje
- Majhna velikost za prihranek prostora v laboratoriju
- Predhodno programirane kartice EZ1 DSP s protokoli, ki so pripravljene za uporabo
- Predhodno napolnjene, zapečatenе kartuše z reagenti za enostavno, varno in hitro namestitvev
- Popolna avtomatizacija prečiščevanja nukleinskih kislin

Dodatne značilnosti instrumentov EZ1 Advanced in EZ1 Advanced XL vključujejo naslednje:

- Branje črtnih kod in sledenje vzorcem
- Sledenje podatkom o kompletu s kartico Q-Card, dobavljeno v kompletu
- UV svetilka, ki omogoča dekontaminacijo delovne plošče

 UV dekontaminacija pomaga zmanjšati morebitno kontaminacijo površin delovne plošče instrumenta EZ1 Advanced in EZ1 Advanced XL s patogeni. Učinkovitost inaktivacije je treba določiti za vsak specifičen organizem in je odvisna npr. od debeline sloja in vrste vzorca. Družba QIAGEN ne more jamčiti za popolno uničenje specifičnih patogenov.

## Kartice EZ1 DSP, EZ1 Advanced DSP in EZ1 Advanced XL DSP

Protokol EZ1 DSP Virus za prečiščevanje virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA je shranjen na predhodno programiranih karticah EZ1 (kartice z integriranim vezjem). Uporabnik preprosto vstavi kartico EZ1 Advanced XL DSP Card v EZ1 Advanced XL, kartico EZ1 Advanced DSP Card v EZ1 Advanced oziroma kartico EZ1 DSP Card\* v instrument BioRobot EZ1 DSP, nato pa je instrument pripravljen na izvajanje protokola (slika 6 in slika 7).



**Slika 6. Enostavna nastavev protokola z uporabo kartic EZ1 DSP.** Vstavljanje kartice EZ1 Card s predhodno programiranim protokolom v instrument EZ1.

- ⓘ Instrument je dovoljeno vklopiti šele po tem, ko vstavite kartico EZ1 Card in se prepričate, da je kartica EZ1 Card vstavljena do konca! V nasprotnem primeru bo prišlo do izgube bistvenih podatkov instrumenta in napake pomnilnika. Kartice EZ1 ne smete zamenjati, medtem ko je instrument vklopljen.



Slika 7. Kartica je do konca vstavljena v režo za kartico EZ1 Card.

## Kartuše z reagenti (RCV)

Reagenti za prečiščevanje nukleinskih kislin iz enega vzorca so vsebovani v eni kartuši z reagenti (RCV) (slika 8 in slika 9). Večina razdelkov kartuše (RCV) vsebuje določen reagent, kot so magnetni delci, pufer za lizo, pufer za izpiranje ali elucijski pufer brez RNaz (AVE). Vsak razdelek vsebuje samo potrebno količino reagenta, kar preprečuje nastajanje dodatnih odpadkov zaradi preostalih reagentov po koncu postopka prečiščevanja.

Kartuše z reagenti (RCV), dobavljene skupaj s kompletom EZ1 DSP Virus Kit, so predhodno napolnjene z vsemi potrebnimi reagenti za prečiščevanje virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA, ne vsebujejo pa prenašalne RNA (CARRIER). Prenašalna RNA (CARRIER) in interne kontrole (Internal Control, IC) (izbirno) se dodajo v epruveto zunaj kartuše z reagenti (RCV).



**Slika 8. Kartuša z reagenti (RCV).** Zapečatená, predhodno napolnjena kartuša (RCV) iz kompleta EZ1 DSP Virus Kit.



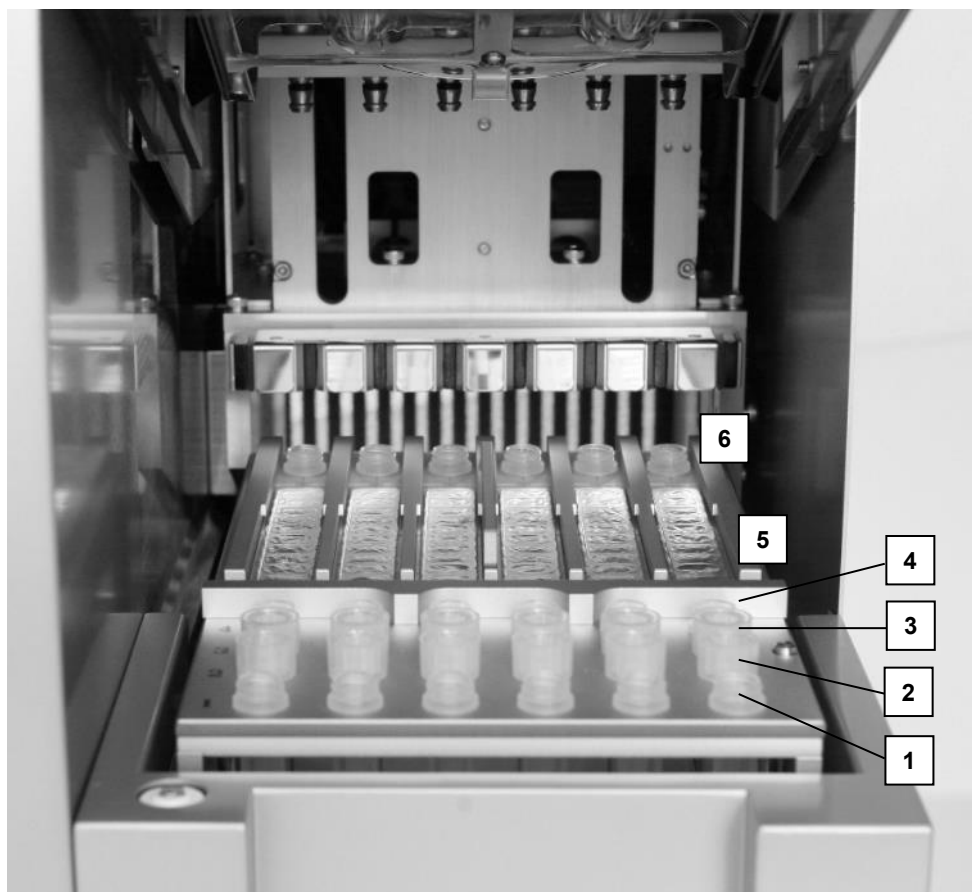
**Slika 9. Vstavljanje kartuš z reagenti na stojalo.** Stojalo za kartuše je označeno s puščico, ki označuje smer, kako je treba vstaviti kartuše z reagenti (RCV).

## Delovna plošča

Delovna plošča instrumentov EZ1 je predel, kamor uporabnik vstavi vzorce in sestavne dele kompleta EZ1 DSP Virus Kit (slika 10).

Podrobnosti o nastavitvi delovne plošče so prikazane na vakuumskem fluorescentnem zaslonu (Vacuum Fluorescent Display, VFD) instrumenta EZ1 Advanced in EZ1 Advanced XL oziroma na zaslonu s tekočimi kristali (Liquid-Crystal Display, LCD) nadzorne plošče instrumenta BioRobot EZ1 DSP, ko uporabnik zažene namestitev delovne plošče.






**Slika 10. Delovna plošča instrumenta EZ1.** (1) Epruvete za elucijo (ET) (1,5 ml), vstavljene v vrstico 1. (2) Držala za konice za enkratno uporabo (DTH) s konicami za filtre za enkratno uporabo (DFT), vstavljena v vrstico 2. (3) Epruvete za elucijo (ET) (1,5 ml) s prenašalno RNA (CARRIER) in interno kontrolo (Internal Control, IC) (če se uporablja) v elucijskem pufru (AVE), vstavljene v vrstico 3. (4) Epruvete za vzorce (ST) (2 ml), vstavljene v vrstico 4. (5) Kartuze z reagenti (RCV), vstavljene v stojalo za kartuze. (6) Grelna enota z 2-ml epruvetami za vzorce (ST) v kartužah z reagenti za lizo.

## Sledenje podatkom z instrumentom EZ1 Advanced in EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced in EZ1 Advanced XL omogočata sledenje različnim podatkom za boljši nadzor nad postopkom in boljšo zanesljivost. Serijska številka in rok uporabnosti kompleta EZ1 se vneseta na začetku protokola z uporabo črtne kode na kartici Q-Card. ID uporabnika in črtno kodo Q-Card je mogoče vnesti ročno z uporabo tipkovnice ali s skeniranjem črtnih kod z ročnim bralnikom črtnih kod. Poleg tega je mogoče ob začetku protokola vnesti tudi informacije o vzorcu in testu. Ob koncu vsakega izvajanja protokola je samodejno ustvarjena datoteka s poročilom. EZ1 Advanced in EZ1 Advanced XL lahko shranita do 10 datotek z rezultati, podatke pa je mogoče prenesti na računalnik ali neposredno natisniti na tiskalniku.

-  Za sledenje podatkom vedno najprej vstavite vzorce v položaj A v instrument EZ1 Advanced in položaj 1 v instrument EZ1 Advanced XL. Preostale vzorce vstavite po vrsti v naslednje odprte položaje na delovni plošči.

Za več podrobnosti o sledenju podatkom glejte ustrezen uporabniški priročnik, ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Potek dela za postopek EZ1 DSP Virus v instrumentu EZ1

Vstavite kartico EZ1 DSP Virus Card v režo za kartico EZ1 Card.



Vklopite instrument EZ1.



Sledite sporočilom na zaslonu za sledenje podatkom\*.



Sledite sporočilom na zaslonu za nastavitve delovne plošče.



Zaženite protokol.



Odvzem prečiščenih nukleinskih kislin



Izvedba UV dekontaminacije\*

\* Samo pri EZ1 Advanced in EZ1 Advanced XL.

## Priprava prenašalne RNA (CARRIER)

Prenašalna RNA (CARRIER) ima med postopkom prečiščevanja dva namena. Kot prvo izboljša vezavo virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA na silicijevo površino magnetnih delcev, zlasti če vzorec vsebuje zelo malo ciljnih molekul. Kot drugo dodajanje večjih količin prenašalne RNA (CARRIER) zmanjša možnost razgradnje virusne RNA v redkem primeru, ko kaotropne soli in detergent v pufru za lizo ne zagotovijo denaturacije RNaz. Če prenašalna RNA (CARRIER) ni dodana v reakcijo, lahko to zmanjša poznejši izplen virusne DNA ali RNA oziroma bakterijske DNA.

Liofilizirana prenašalna RNA (CARRIER), dobavljena s kompletom, zadostuje za 48 priprav vzorcev. Koncentracija prenašalne RNA (CARRIER), uporabljena v postopku prečiščevanja, omogoča, da komplet EZ1 DSP Virus Kit uporabljate kot generični sistem za prečiščevanje, ki je združljiv s številnimi različnimi sistemi za pomnoževanje in je primeren za prečiščevanje nukleinskih kislin iz širokega nabora bakterij ter virusov DNA in RNA. Vendar se sistemi za pomnoževanje razlikujejo po učinkovitosti glede na skupno količino nukleinskih kislin, prisotnih v reakciji. Eluati, pridobljeni s kompletom EZ1 DSP Virus Kit, vsebujejo virusne in bakterijske nukleinske kisline ter prenašalno RNA (CARRIER), količina prenašalne RNA (CARRIER) v posameznem eluatu pa močno presega količino virusnih in bakterijskih nukleinskih kislin. Za doseganje najvišje stopnje občutljivosti v reakcijah pomnoževanja bo morda treba zmanjšati količino dodane raztopine s prenašalno RNA (CARRIER).

Temeljito raztopite liofilizirano prenašalno RNA (CARRIER) v 310 µl elucijskega pufru (AVE), razdelite raztopino v primerno velike alikvote ter jih hranite pri 2–8 °C. Rekonstituirana osnovna raztopina CARRIER ima koncentracijo 1 ng/µl in je stabilna do 4 tedne.

Za vsak vzorec, ki ga obdelate, razredčite 3,6 µl osnovne raztopine s prenašalno RNA (CARRIER) v skupnem volumnu 60 µl, pri čemer uporabite elucijski pufer (AVE) (in/ali raztopino z interno kontrolo). Instrument EZ1/EZ2 prenese 50 µl te raztopine prenašalne RNA in elucijskega pufru (CARRIER–AVE) v mešanico za lizo, kar ustreza 3 µg prenašalne RNA (CARRIER).

Če želite uporabiti interno kontrolo (Internal Control, IC), glejte poglavje »Uporaba interne kontrole (Internal Control, IC)« v nadaljevanju.

**Opomba:** Postopek prečiščevanja je optimiziran tako, da so na vzorec dodani 3 µg prenašalne RNA (CARRIER). Če se je izkazalo, da je za specifičen sistem za pomnoževanje boljše drugačna količina prenašalne RNA (CARRIER), spremenite volumen osnovne raztopine prenašalne RNA (CARRIER), ki je zmešana s pufrom za elucijo (AVE), ali uporabite drugačno koncentracijo osnovne raztopine. Skupni volumen raztopine prenašalne RNA in elucijskega pufru (CARRIER–AVE) na vzorec mora biti 60 µl, od česar se 50 µl prenese v mešanico za lizo. Uporabo različnih količin prenašalne RNA (CARRIER) je treba validirati za vsako posamezno vrsto vzorca in nadaljnji test.

## Uporaba interne kontrole (Internal Control, IC)

Pri uporabi kompleta EZ1 DSP Virus Kit skupaj s komercialno dostopnimi sistemi za pomnoževanje boste morda morali v postopek prečiščevanja dodati interno kontrolo (Internal Control, IC) za nadzor učinkovitosti priprave vzorca.

DNA ali RNA za interno kontrolo je treba zmešati z osnovno raztopino prenašalne RNA (CARRIER) (3,6 µl) v enotno mešanico. Za vsak vzorec mora imeti mešanica prenašalne RNA in interne kontrole (CARRIER–interna kontrola) volumen 60 µl, od česar se 50 µl prenese v mešanico za lizo. Ta količina ustreza 3 µl osnovne raztopine s prenašalno RNA (CARRIER) plus 47 µl elucijskega pufru (AVE) in/ali raztopine z interno kontrolo.

**i** Interne kontrole (Internal Control, IC) ne dodajajte neposredno v vzorec. Interno kontrolo (Internal Control, IC) uporabite samo v kombinaciji z raztopino CARRIER v eni mešanici.




Glejte navodila proizvajalca za določitev optimalne količine interne kontrole (Internal Control, IC) za specifično nadaljnjo uporabo. Uporaba druge količine, ki ni priporočena, lahko zmanjša učinkovitost pomnoževanja. Pri določitvi količine interne kontrole (Internal Control, IC), potrebne za protokol EZ1 DSP Virus, je treba upoštevati volumen eluata. Glejte »Izračun količine interne kontrole« na strani 89 za podrobna navodila, kako izračunati pravilen volumen interne kontrole (Internal Control, IC).

Interne kontrole (Internal Control, IC) niso dobavljene v kompletu EZ1 DSP Virus Kit.

# Protokol: Predhodna obdelava blata

Ta protokol je namenjen predhodni obdelavi trdnih in tekočih vzorcev blata pred prečiščevanjem nukleinskih kislin (stran 42 za instrumente EZ2 Connect MDx in stran 51 za instrumente EZ1).

## Postopek

1. Resuspendirajte 100 mg trdnega ali tekočega blata v 900 µl pufru Buffer ASL.  
Pufer Buffer ASL je treba naročiti ločeno, glejte Informacije za naročanje, stran 96.  
 Če uporabite manj ali več blata, je treba prilagoditi količino pufru Buffer ASL, da ohranite razmerje redčenja 1 : 10 (w/v). Za pridobitev vsaj 200 µl vzorca po predhodni obdelavi za ekstrakcijo z instrumentom EZ1/EZ2 je treba uporabiti najmanj 30 mg blata.
2. Vzorec intenzivno mešajte z vibracijskim mešalnikom 1–2 minuti ali dokler suspenzija ni homogena.  
 Če je blato zelo trdo, lahko podaljšate postopek resuspendiranja ali pa poskusite zmešati vzorec s pipetiranjem navzgor in navzdol. Za lažje pipetiranje boste morda morali odrezati konec konice pipete. Nekateri delci lahko ostanejo netopni in bodo odstranjeni med naslednjim korakom.
3. Vzorec inkubirajte 10 minut na pultu pri sobni temperaturi, da se večji delci blata usedejo na dno.
4. Prenesite vsaj 400 µl supernatanta z vrha suspenzije v novo 1,5-ml epruveto z navojnim pokrovčkom, ne da bi pri tem prenesli večje delce blata.  
 Poskrbite, da v instrument EZ1 skupaj s supernatantom ne boste prenesli nobenih trdnih delcev blata. Večji delci blata v vzorcu lahko povzročijo zamašitev konice filtra v instrumentu EZ1/EZ2.

5. Inkubirajte vzorec 10 minut pri 70 °C v vodni kopeli\* ali toplotnem stresalniku.\*

6. Nadaljujte na protokol za prečiščevanje (stran 42 ali 51).



Za vzorce blata priporočamo, da uporabite 200 µl vzorca za ekstrakcijo in 120–150 µl volumna za elucijo. Večji volumni vzorca in manjši elucijski volumni lahko povzročijo zmanjšano občutljivost v nadaljnjih postopkih.



Če so eluati, pridobljeni iz blata, motni, priporočamo, da jih 3 minute centrifugirate pri polni hitrosti (20.000 x g). To ne bo negativno vplivalo na čiste eluate, bo pa izboljšalo rezultate motnih eluatov v nadaljnjih postopkih.

\* Zagotovite, da so bili instrumenti redno pregledani, vzdrževani in umerjeni v skladu s priporočili proizvajalca.



# Protokol: Predhodna obdelava za izolacijo genomske DNA grampozitivnih bakterij

Za nekatere grampozitivne bakterije je mogoče izboljšati ekstrakcijo DNA s predhodno encimsko obdelavo, preden prenesete vzorec v instrument EZ1/EZ2 Connect MDx. Ta protokol ni namenjen za uporabo z vzorci blata.

## Postopek:

1. Centrifugirajte 10 minut pri 5000 x g, da nastane sediment, v katerem so bakterije.
2. Suspendirajte bakterijski sediment v 180 µl encimske raztopine (20 mg/ml lizocim; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2-% Triton X-100) v 2-ml epruveti z navojnim pokrovčkom.
3. Postavite v vodno kopel\* ali toplotni stresalnik\* ter inkubirajte vsaj 30 minut pri 37 °C.
4. Na hitro centrifugirajte epruveto in tako odstranite kapljice z notranje strani pokrovčka.
5. Nadaljujte na protokol za prečiščevanje (stran 42 ali 51).

\* Zagotovite, da so bili instrumenti redno pregledani, vzdrževani in umerjeni v skladu s priporočili proizvajalca.

# Protokol: Prečiščevanje virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA z uporabo EZ2 Connect MDx

## Pomembne točke pred začetkom

- Če prvič uporabljate komplet EZ1 DSP Virus Kit, preberite poglavja »Shranjevanje in ravnanje z reagenti«, »Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim« in »Delo z instrumenti EZ2 Connect MDx« na strani 16 in naslednjih.
- Kartuše z reagenti (RCV) vsebujejo gvanidinijeve soli, zato niso združljive z razkužili, ki vsebujejo belilo. Upoštevajte ustrezne varnostne ukrepe in pri delu nosite rokavice. Glejte stran 12 za Varnostne informacije.
- Vse korake protokola izvedite pri sobni temperaturi (15–25 °C). Med postopkom nastavitve delajte hitro.
- Ob prejemu kompleta preverite, ali so kateri sestavni deli morda poškodovani. Če so kartuše z reagenti (RCV) ali druge komponente kompleta poškodovane, se obrnite na tehnično službo družbe QIAGEN ali lokalnega distributerja. Ob razlitju tekočine glejte »Opozorila in varnostni ukrepi« (stran 12). Ne uporabljajte poškodovanih kartuš z reagenti (RCV) ali drugih komponent kompleta, saj lahko to povzroči slabo delovanje kompleta, poškodbe uporabnika ali poškodovanje instrumenta. Ne odstranjujte folije s kartuš z reagenti (RCV).

## Navodila pred začetkom

- Pripravite serum, plazmo, cerebrospinalno tekočino (Cerebrospinal Fluid, CSF) ali nazofaringealne brise v univerzalnem mediju za transport (Universal Transport Medium, UTM), kot je opisano v poglavju »Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim« na strani 18. Če so v oddaljenih vzorcih vidni krioprecipitati, jih centrifugirajte 3 minute pri 6800 x g, prenesite supernatante v sveže epruvete brez premikanja sedimenta in takoj zaženite postopek prečiščevanja.

- Vzorce blata pripravite po navodilih v poglavjih »Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim« na strani 18 in »Protokol: Predhodna obdelava blata« na strani 39.
- Za izolacijo DNA iz grampozitivnih bakterij pripravite vzorce po navodilih v poglavju »Protokol: Predhodna obdelava za izolacijo genomske DNA grampozitivnih bakterij« (stran 41).
- Pred prvo uporabo pripravite osnovno raztopino prenašalne RNA (CARRIER) (z interno kontrolo (Internal Control, IC) po izbiri). Raztopite liofilizirano prenašalno RNA (CARRIER) v 310 µl elucijskega pufra (AVE) (dobavljen v kompletu) in ga zmešajte z interno kontrolo (Internal Control, IC) (izbirno), kot je opisano v poglavjih »Priprava prenašalne RNA (CARRIER)« (stran 36) in »Uporaba interne kontrole (Internal Control, IC)« (stran 37).

## Postopek

1. Za vsak vzorec pripravite 60 µl raztopine s prenašalno RNA, ki vsebuje 3,6 µl raztopljene prenašalne RNA (CARRIER) (z interno kontrolo (Internal Control, IC) po izbiri), v 1,5-ml epruveto za elucijo (ET) (dobavljena v kompletu). Nežno premešajte tako, da raztopino 10-krat pipetirate. Ne uporabite vibracijskega mešalnika.





1,5-ml epruveto za elucijo (ET) vstavite v vrstico B, kot je navedeno v navodilih na zaslonu.



Prepričajte se, ali je raztopina s prenašalno RNA (CARRIER) na dnu 1,5-ml epruvete (epruvete za elucijo (ET)), da bo instrument EZ2 Connect MDx lahko prenesel ustrezno količino.

2. Pripravite do 24 vzorcev in pustite, da se ogrejejo na sobno temperaturo (15–25 °C), ter prenesite 100, 200 ali 400 µl vzorca v 2-ml epruvete za vzorce (ST) (brez spodnjega roba; dobavljene v kompletu), preden jih vstavite v delovno ploščo. Če uporabljate zamrznjene vzorce, jih odtalite in pustite, da se segrejejo na sobno temperaturo, nato jih dobro premešajte z vrtnčenjem.

Za ekstrakcijo virusnih/bakterijskih iz blata je priporočen volumen vzorca 200 µl. Za predhodno obdelavo vzorcev upoštevajte ustrezen protokol za predhodno obdelavo.


-  Uporabite samo 2-ml epruvete za vzorce (ST) (brez spodnjega roba), ki so dobavljene v kompletu.
-  Odtaljenih vzorcev ne zamrzujte ponovno oziroma jih ne hranite več kot 6 ur pri 2–8 °C, saj to povzroči občutno zmanjšane izkoristke virusnih nukleinskih kislin ali bakterijske DNA.
-  Preprečite prenos strjenega vzorčnega materiala v epruvete za vzorce. To lahko povzroči prekinitev postopka in morebiten trk instrumentov.
-  Ne uporabite volumnov vzorca, večjih od 100, 200 ali 400 µl. Po lizi in vezavi virusnih nukleinskih kislin ali bakterijske DNA na magnetne delce se del lizata prenese v epruveto za vzorce (ST). Vzorčnega materiala, ki morda ostane v epruveti za vzorce (ST), ne uporabite znova.

### 3. Vključite instrument EZ2 Connect MDx.

Stikalo za vklop je desno na sprednji strani instrumenta.

### 4. Prijavite se v instrument in izberite način programske opreme IVD. Vnesite ID uporabnika in geslo.


Programska oprema EZ2 Connect MDx vas bo vodila skozi postopek za nastavitve izvajanja protokola. Postopek zaženete tako, da tapnete gumb **SCAN** ali **LIMS** na zavihku »Setup« (Namestitvev).


-  Za nastavitve izvajanja z uporabo funkcije/gumba LIMS glejte *Uporabniški priročnik za EZ2 Connect MDx*.


### 5. Pritisnite »Scan« (Skeniraj) in tapnite polje, ki se prikaže na naslednjem zaslonu.

Skenirajte črtno kodo 1D na kartici Q-Card, ki je priložena kompletu.

S skeniranjem črtno kode 1D na kartici Q-Card se samodejno izbere vrsta protokola.

-  Če skeniranje kartice Q-Card ni uspešno, lahko vnesete številko kompleta prek uporabniškega vmesnika.

 Skeniranje kartice Q-Card je mogoče le, če so bili dokončani vsi zahtevani postopki vzdrževanja. V nasprotnem primeru pred skeniranjem kartice Q-Card zaženite postopek vzdrževanja.

 Ne uporabljajte kartuš (RCV) s pretečenim rokom uporabnosti, saj bo to povzročilo poslabšano delovanje; vzorci bodo označeni kot neveljavni.

6. Tapnite »**Next**« (Naprej) za nadaljevanje.

**Opomba:** Če se želite vrniti na zaslon »Setup« (Namestittev), tapnite »**Back**« (Nazaj) ali »**Cancel**« (Prekliči).

7. Izberite druge parametre protokola tako, da tapnete okvirček poleg posameznega parametra.


8. Tapnite »**Next**« (Naprej) za nadaljevanje.


9. Za izbiro položajev vzorcev tapnite ustrezne vrstice na diagramu delovne plošče ali tapnite ustrezne številke vrstic pod diagramom. Izbrani položaji so označeni. Za izbiro ali preklic izbire vseh položajev tapnite možnost »**Select all**« (Izberi vse).


 Ko je izbran vsaj en položaj vzorca, je omogočen gumb »**Next**« (Naprej).

10. Tapnite »**Next**« (Naprej) za nadaljevanje.

11. Vnesite ID-je vzorcev, kar lahko storite ročno ali z uporabo ročnega bralnika črtnih kod.





 Če uporabljate bralnik črtnih kod, se prepričajte, da je uporabljena črna koda ustrezne vrste in kakovosti, da jo bo bralnik lahko odčital.

 ID-je vzorcev je mogoče spremeniti ročno tako, da tapnete ID in uporabite tipkovnico na zaslonu.

 ID-ji vzorcev morajo biti enolični. Gumb »**Next**« (Naprej) ni aktiven, dokler niso vneseni enolični ID-ji za vse vzorce.

 Preverite, ali je ID vzorca pravilen, preden nadaljujete z nastavitvijo.

12. Tapnite »**Next**« (Naprej) za nadaljevanje.

13. Odprite vrata instrumenta ter odstranite stojala za kartuše in stojala za konice (imenovana tudi držalo za laboratorijsko opremo) iz instrumenta. Varno jih postavite na pult. Stojalo za konice odstranite tako, da ga primete na obeh straneh in ga nežno povlečete navzgor.
-  Odvisno od tega, katere položaje ste izbrali za vzorce, odstranite stojala z leve in/ali desne strani delovne plošče.
  -  Stojal za kartuše in stojal za konice ne smete menjati med različnimi instrumenti.
14. Kartuše z reagenti (RCV) 4-krat obrnite, da premešate magnetne delce. Pred uporabo kartuš (RCV) preberite poglavje »Navodila pred začetkom«.
15. Namestite kartušo (RCV) v stojalo za kartuše ter jo pritisnite navzdol, dokler se ne zaskoči.
16. Postavite prazno epruveto za vzorce (ST) (brez spodnjega roba, dobavljena v kompletu) v razdelek 11 vsake vstavljene kartuše (RCV).
-  Prepričajte se, da je prazna epruveta za vzorce (ST) vstavljena brez pokrovčka.  
  
Prazna epruveta je potrebna za korak protokola, v katerem se opravi liza. Instrument EZ2 Connect MDx ne zazna prisotnosti epruvete.
17. Ko so pripravljene vse kartuše (RCV), namestite obe stojali za kartuše na delovno ploščo.
-  Prepričajte se, da sta stojali nameščeni v pravilen položaj ter da so številke položajev označene na stojalu. Položaji so oštevilčeni od 1 do 24 od leve proti desni.
18. Tapnite »**Next**« (Naprej) za nadaljevanje.
19. Vstavite epruvete z raztopino CARRIER (z interno kontrolo (Internal Control, IC)) (1,5-ml epruvete za elucijo (ET); dobavljene v kompletu) v vrstico B na stojalu za konice (»držalo za laboratorijsko opremo«).

Glejte poglavji »Priprava prenašalne RNA (CARRIER)« (stran 36) in »Dodatek B: Izračun količine interne kontrole (Internal Control, IC)« (stran 89) za podrobnosti o pripravi mešanice CARRIER (z interno kontrolo (Internal Control, IC)).

- ① Prepričajte se, da so 1,5-ml epruvete za elucijo (ET), ki vsebujejo zadostno količino raztopine CARRIER (z interno kontrolo (Internal Control, IC)), naložene brez pokrovčka.

20. Namestite konice v stojalo za konice in jih vstavite v vrstico C.

- ① Med pripravljanjem konic in stojala za konice se dotikajte samo zgornjega dela konic z rokavicami.


21. Vstavite 1,5-ml epruvete za elucijo (ET) v vrstico D na stojalu.

- ① Prepričajte se, da so epruvete za elucijo vstavljene brez pokrovčkov.

22. Vstavite 2-ml epruvete za vzorce (ST) (brez spodnjega roba), ki vsebujejo 100, 200 ali 400 µl vzorca (v skladu z izbranim parametrom protokola), v vrstico A na stojalu.

- ① Prepričajte se, da so epruvete za vzorce vstavljene v pravilne položaje, ki so bili izbrani v koraku 11. **Izbirno:** Uporabite predlogo iz »Dodatek C: Vzorčni list za uporabo s sistemom EZ1 DSP Virus System« za spremljanje ID-jev vzorcev in orientacijo.
- ① Prepričajte se, da so epruvete za vzorce vstavljene brez pokrovčkov.
- ① Prepričajte se, da epruvete za vzorce vsebujejo pravi volumen vzorčnega materiala. Preverjanje vstavljenih komponent ne zazna, ali epruveta vsebuje pravi volumen vzorca.
- ① Preprečite nastajanje pene ali mehurčkov na vrhu vzorca ali ob robu epruвет za vzorce, saj lahko to povzroči napake pri preverjanju vstavljenih komponent.
- ① Protokol zaženite takoj, ko postavite vzorce na delovno ploščo, saj lahko daljše shranjevanje v instrumentu povzroči izhlapevanje oziroma lahko vpliva na stabilnost v instrumentu.


23. Ko so vstavljene vse epruvete in konice, postavite obe stojali za konice (levo in desno) na delovno ploščo in zaprite pokrov.

 Prepričajte se, da sta stojali nameščeni v pravilen položaj ter da so številke položajev označene na stojalu. Položaji so oštevilčeni od 1 do 24 od leve proti desni. Vedno postavite obe stojali za konice na delovno ploščo, ne glede na to, katere položaje vzorcev uporabite.


24. Tapnite »**Next**« (Naprej) za nadaljevanje.

25. Med informacijami na zaslonu s pregledom nastavitve izvajanja preverite, ali so pravilno nastavljeni protokol, volumen vzorca in elucije ter število vzorcev.

26. Če so vse informacije pravilne, tapnite »**Start**« (Začetek), da nadaljujete z izvajanjem protokola.


 Če želite opraviti spremembe, tapnite »**Return**« (Nazaj), da se vrnete v nastavev izvajanja.

27. Zdaj bo instrument izvedel preverjanje vstavljenih komponent. Protokol se bo zagnal samodejno po uspešno dokončanem preverjanju vstavljenih komponent.


 Počakajte, da se preverjanje vstavljenih komponent uspešno konča, preden pustite instrument brez nadzora. Če preverjanje vstavljenih komponent ne uspe (npr. zaradi napak med nastavitvijo delovne plošče), se izvajanje ne bo zagnalo in bo potrebno ukrepanje uporabnika. Če pustite instrument daljše obdobje brez nadzora, lahko to negativno vpliva na stabilnost vzorcev in reagentov.

Po uspešni preverjanju vstavljenih komponent nadaljujte na korak 30.


28. Če preverjanje vstavljenih komponent ne uspe, se prikaže zaslon »Load check failed« (Preverjanje vstavljenih komponent ni uspelo). Nepravilno nameščena laboratorijska oprema je označena z rdečo barvo. Tapnite ustrezne stolpce za podrobnosti o napaki preverjanja vstavljenih komponent.

 Vizualno preverite, kako je oprema vstavljena v označene položaje na delovni plošči. Ne ponovite izvajanja preverjanja vstavljenih komponent, ne da bi najprej opravili vizualni pregled.




-  Za podrobne informacije o omejitvah in napakah preverjanja vstavljenih komponent glejte *Uporabniški priročnik za EZ2 Connect MDx*.

29. Ko je potrjena pravilna namestitvev delovne plošče, tapnite »**Next**« (Naprej) na zaslonu »Load the tip rack« (Vstavitev stojala za konice). Prikaže se zaslon »Run setup selection overview« (Pregled izbire nastavitve izvajanja), kjer je zdaj na voljo gumb »**Skip load check**« (Preskoči preverjanje vstavljenih komponent). Tapnite »**Skip load check**« (Preskoči preverjanje vstavljenih komponent) ali »**Start**« (Začetek), da nadaljujete z izvajanjem protokola.

-  Če uporabnik izbere možnost »**Skip load check**« (Preskoči preverjanje vstavljenih komponent), je odgovoren za to, da vizualno preveri in potrdi pravilno namestitvev VSEH potrošnih delov na VSEH položajih na delovni plošči.







**Pomembno:** Preskočeno preverjanje vstavljenih komponent bo zabeleženo v poročilu o izvajanju in vsi vzorci bodo označeni kot neveljavni.

-  **Pomembno:** Če preverjanje vstavljenih komponent tudi drugič ne uspe, odstranite vzorce in CARRIER (interno kontrolo (Internal Control, IC)) z delovne plošče, zaprite epruvete in jih shranite pri primernih pogojih. Ponovno umerite kamero in se obrnite na tehnično podporo družbe QIAGEN za dodatno pomoč.

30. Po uspešnem dokončanju preverjanja vstavljenih komponent sta napredek izvajanja in pretečeni čas izvajanja prikazana na zaslonu »Protocol run in progress« (Izvajanje protokola v teku).

31. Ko je protokol uspešno dokončan, se prikaže zaslon »Protocol run completed« (Izvajanje protokola dokončano).

32. Odprite pokrov, previdno odstranite stojali s konicami in ju postavite na pult. Najprej odstranite prečiščeno DNA/RNA iz vrstice D. Poskrbite, da se ne boste dotikali drugih epruvet, ko boste odstranjevali posamezne epruvete za elucijo (ET). Zaprite epruvete za elucijo s pokrovčki, ki so dobavljeni v kompletu.

-  Po koncu postopka takoj odstranite in shranite eluate.
33. Zavržite odpadke, nastale pri pripravi vzorca, iz vrstice A\*. Zavržite držala za konice in konice ter epruvete z raztopino CARRIER (z interno kontrolo (Internal Control, IC)).
-  Upoštevajte lokalne varnostne predpise glede odlaganja odpadkov.
34. Odstranite stojali za kartuše ter zavržite kartušo (RCV) in epruveto iz razdelka 11.
-  Najprej odstranite in zavržite epruveto iz razdelka 11 vsake kartuše, preden odstranite kartušo (RCV). V nasprotnem primeru ni mogoče odstraniti kartuše (RCV) iz stojala za kartuše.
-  Upoštevajte lokalne varnostne predpise glede odlaganja odpadkov (glejte tudi »Opozorila in varnostni ukrepi« na strani 12).
35. Upoštevajte navodila »After run maintenance« (Vzdrževanje po izvajanju) in potem tapnite potrditveno polje.
-  Enota za luknjanje je ostra! Priporočamo uporabo dvojih rokavic.
-  Za dodatne postopke vzdrževanja glejte *Uporabniški priročnik za EZ2 Connect MDx*.
36. Pritisnite gumb »**Finish**« (Dokončaj), da ustvarite poročilo o izvajanju in se vrnete na začetni zaslon. Čas dokončanja izvajanja in status vzdrževanja se ne preneseta v poročilo o izvajanju, dokler ne pritisnete gumba »**Finish**« (Dokončaj).
37. Po zadnjem izvajanju vsak dan opravite dnevni postopek vzdrževanja in nato še UV dekontaminacijo.
38. Po potrebi po dnevnem vzdrževanju opravite tedenski postopek vzdrževanja.

\* Ostanki vzorcev vsebujejo gvanidinijeve soli, zato niso združljivi z belilom. Glejte stran 12 za Varnostne informacije.

# Protokol: Prečiščevanje virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA z uporabo instrumentov EZ1

## Pomembne točke pred začetkom


- Če prvič uporabljate komplet EZ1 DSP Virus Kit, preberite poglavja »Shranjevanje in ravnanje z reagenti«, »Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim« in »Delo z instrumenti EZ1« na strani 16 in naslednjih.
- Kartuše z reagenti (RCV) vsebujejo gvanidinijeve soli, zato niso združljive z razkužili, ki vsebujejo belilo. Upoštevajte ustrezne varnostne ukrepe in pri delu nosite rokavice. Glejte stran 12 za Opozorila in varnostni ukrepi.
- Vse korake protokola izvedite pri sobni temperaturi (15–25 °C). Med postopkom nastavitve delajte hitro.
- Ob prejemu kompleta preverite, ali so kateri sestavni deli morda poškodovani. Če so kartuše z reagenti (RCV) ali druge komponente kompleta poškodovane, se obrnite na tehnično službo družbe QIAGEN ali lokalnega distributerja. Ob razlitju tekočine glejte »Opozorila in varnostni ukrepi« (stran 12). Ne uporabljajte poškodovanih kartuš z reagenti (RCV) ali drugih komponent kompleta, saj lahko to povzroči slabo delovanje kompleta, poškodbe uporabnika ali poškodovanje instrumenta. Ne odstranjujte folije s kartuš z reagenti (RCV).
- Pri nekaterih korakih postopka lahko izberete eno od 2 možnosti. Izberite ▲, če uporabljate EZ1 Advanced ali the EZ1 Advanced XL; izberite ■, če uporabljate BioRobot EZ1 DSP.

## Navodila pred začetkom

- Pripravite serum, plazmo, cerebrospinalno tekočino (Cerebrospinal Fluid, CSF) ali nazofaringealne brise v univerzalnem mediju za transport (Universal Transport Medium, UTM), kot je opisano v poglavju »Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim« na strani 18. Če so v odtaljenih vzorcih vidni krioprecipitati, jih centrifugirajte 3 minute pri 6800 x g, prenesite supernatante v sveže epruvete brez premikanja sedimenta in takoj zaženite postopek prečiščevanja.
- Vzorce blata pripravite po navodilih v poglavjih »Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim« na strani 18 in »Protokol: Predhodna obdelava blata« na strani 39.
- Za izolacijo DNA iz grampozitivnih bakterij pripravite vzorce po navodilih v poglavju »Protokol: Predhodna obdelava za izolacijo genomske DNA grampozitivnih bakterij« (stran 41).
- Pred prvo uporabo pripravite osnovno raztopino prenašalne RNA (CARRIER) (z interno kontrolo (Internal Control, IC) po izbiri). Raztopite liofilizirano prenašalno RNA (CARRIER) v 310 µl elucijskega pufra (AVE) (dobavljen v kompletu) in ga zmešajte z interno kontrolo (Internal Control, IC) (izbirno), kot je opisano v poglavjih »Priprava prenašalne RNA (CARRIER)« in »Uporaba interne kontrole (Internal Control, IC)« na straneh 36–37.


## Postopek


1. Za vsak vzorec pripravite 60 µl raztopine, ki vsebuje 3,6 µl raztopljene prenašalne RNA (CARRIER) (z interno kontrolo po izbiri (Internal Control, IC)), v 1,5-ml epruveto za elucijo (ET) (dobavljena v kompletu). Nežno premešajte tako, da raztopino 10-krat pipetirate. Ne uporabite vibracijskega mešalnika.  
1,5-ml epruveto za elucijo (ET) vstavite v vrstico 3, kot je navedeno v navodilih na zaslonu.


 Prepričajte se, ali je raztopina s prenašalno RNA (CARRIER) na dnu 1,5-ml epruvete (epruvete za elucijo (ET)), da bo instrument EZ1 lahko prenesel ustrezno količino.


2. Pustite, da se vzorci ogrejejo na sobno temperaturo (15–25 °C), ter prenesite 100, 200 ali 400 µl vzorca v 2-ml epruvete za vzorce (ST) (brez spodnjega roba; dobavljene v kompletu), preden jih vstavite v delovno ploščo. Če uporabljate zamrznjene vzorce, jih odtalite in pustite, da se segrejejo na sobno temperaturo, nato jih dobro premešajte z vrtinčenjem.

Za ekstrakcijo virusnih/bakterijskih iz blata je priporočen volumen vzorca 200 µl. Za predhodno obdelavo vzorcev upoštevajte ustrezen protokol za predhodno obdelavo.

 Uporabite samo 2-ml epruvete za vzorce (ST) (brez spodnjega roba), ki so dobavljene v kompletu.

 Odtaljenih vzorcev ne zamrzujte ponovno oziroma jih ne hranite več kot 6 ur pri 2–8 °C, saj to povzroči občutno zmanjšane izkoristke virusnih nukleinskih kislin ali bakterijske DNA.

 Preprečite prenos strjenega vzorčnega materiala v epruvete za vzorce. To lahko povzroči prekinitev postopka in morebiten trk instrumentov.

 Ne uporabite volumnov vzorca, večjih od 100, 200 ali 400 µl. Po lizi in vezavi virusnih nukleinskih kislin ali bakterijske DNA na magnetne delce se del lizata prenese v epruveto za vzorce (ST). Vzorčnega materiala, ki morda ostane v epruveti za vzorce (ST), ne uporabite znova.

3. Vstavite ▲ kartico EZ1 Advanced DSP Virus Card do konca v režo za EZ1 Advanced Card na instrumentu EZ1 Advanced oziroma kartico EZ1 Advanced XL DSP Virus Card do konca v režo za EZ1 Advanced XL Card na instrumentu EZ1 Advanced XL oziroma ■ kartico EZ1 DSP Virus Card do konca v režo za EZ1 Card na instrumentu BioRobot EZ1 DSP.








4. Vklonite instrument EZ1.

Stikalo za vklop je levo na zadnji strani instrumenta.


5. Pritisnite »**START**« (Zaženi) za začetek nastavitve delovne plošče za protokol EZ1 DSP Virus.
6. Sledite navodilom na zaslonu za nastavev delovne plošče, izbiro spremenljivk protokola in ▲ sledenje podatkom.
  - ❗ Protokol zaženi takoj, ko postavite vzorce na delovno ploščo, saj lahko daljše shranjevanje v instrumentu povzroči izhlapevanje.
7. Odprite vrata instrumenta.
8. Kartuše z reagenti (RCV) 4-krat obrnite, da premešate magnetne delce.
9. Vstavite kartuše z reagenti v stojalo za kartuše ter vsako pritisnite navzdol, dokler se ne zaskoči.
  - ❗ Če je kartuš z reagenti (RCV) manj kot 6 (BioRobot EZ1 DSP, EZ1 Advanced) oziroma 14 (EZ1 Advanced XL), jih lahko v stojalo vstavite v poljubnem vrstnem redu. Vendar pa morate pri nameščanju druge laboratorijske opreme zagotoviti, da upoštevate enak vrstni red.
  - ❗ ▲: Za sledenje podatkom vedno najprej vstavite vzorce v položaj A v instrument EZ1 Advanced in položaj 1 v instrument EZ1 Advanced XL. Preostale vzorce vstavite po vrsti v naslednje odprte položaje na delovni plošči.
  - ❗ ▲: Ko uporabljate možnost sledenja podatkom, zagotovite, da so ID-ji vzorcev v enakem vrstnem redu kot vzorci na delovni plošči, da preprečite zamenjavo.
10. Postavite prazno 2-ml epruveto za vzorce (ST) (brez spodnjega roba, dobavljena v kompletu) v razdelek 11 vsake kartuše (RCV).
  - ❗ Prepričajte se, da je prazna epruveta za vzorce (ST) vstavljena brez pokrovčka.  
Prazna epruveta je potrebna za korak protokola, v katerem se opravi liza.

11. Sledite navodilom na zaslonu za nadaljnjo nastavitve delovne plošče.

Pripraviti morate epruvete za elucijo, konice in držalo za konice, epruvete z raztopino CARRIER (z interno kontrolo (Internal Control, IC)) ter epruvete za vzorce.

-  Med pripravljanjem konic in stojala za konice se dotikajte samo zgornjega dela konic z rokavicami.
-  Prepričajte se, da so epruvete za elucijo (ET) (1,5-ml epruvete) vstavljene brez pokrovčkov.
-  Prepričajte se, da so epruvete za vzorce vstavljene v pravilne položaje, ki so bili izbrani v koraku 9.  
**Izbirno:** Uporabite predlogo iz »Dodatek C: Vzorčni list za uporabo s sistemom EZ1 DSP Virus System« za spremljanje ID-jev vzorcev in orientacijo.
-  Prepričajte se, da so epruvete za vzorce vstavljene brez pokrovčkov.
-  Prepričajte se, da epruvete za vzorce vsebujejo pravilen volumen vzorčnega materiala.
-  Preprečite nastajanje pene ali mehurčkov na vrhu vzorca ali ob robu epruvel za vzorce.
-  Protokol zaženite takoj, ko postavite vzorce na delovno ploščo, saj lahko daljše shranjevanje v instrumentu povzroči izhlapevanje.

12. Vstavite pripravljeno stojalo za kartuše in stojalo za konice v instrument.

-  Stojal za kartuše in stojal za konice ne smete menjati med različnimi instrumenti.

13. Zaprite vrata instrumenta.

14. Pritisnite »**START**« (Zaženi), da zaženete protokol.

15. Ko se protokol konca, je na zaslonu prikazano »Protocol finished« (Protokol dokončan).

▲ Pritisnite »**ENT**« (**Enter**), da ustvarite datoteko s poročilom.

▲ Na instrumentih EZ1 Advanced in EZ1 Advanced XL je lahko shranjenih do 10 datotek s poročili. Datoteke s poročili lahko natisnete neposredno na povezanem tiskalniku ali pa jih prenesete na računalnik.

16. Odprite pokrov instrumenta, previdno odstranite stojalo za konice in ga postavite na pult.
17. Odstranite epruvete za elucijo (ET), ki vsebujejo prečiščene virusne nukleinske kisline in/ali bakterijsko DNA, iz vrstice 1. Poskrbite, da se ne boste dotikali drugih epruvet, ko boste odstranjevali posamezne epruvete za elucijo. Zaprite epruvete za elucijo (ET) s pokrovčki, ki so dobavljeni v kompletu.



Po koncu postopka takoj odstranite eluate z delovne plošče in jih shranite.

18. Zavržite odpadke, nastale pri pripravi vzorca.\* Zavržite držala za konice in konice ter epruvete z raztopino CARRIER (z interno kontrolo (Internal Control, IC)).
19. Odstranite stojalo za kartuše ter zavržite kartušo (RCV) in epruveto iz razdelka 11.



Upoštevajte lokalne varnostne predpise glede odlaganja odpadkov (glejte tudi »Opozorila in varnostni ukrepi« na strani 12).

20. ▲ Priporočilo: Upoštevajte navodila na zaslonu za izvedbo UV dekontaminacije površin delovne plošče.
21. Postopek rednega vzdrževanja, npr. UV dekontaminacijo, izvedite tako, kot je opisano v uporabniškem priročniku, ki je bil priložen vašemu instrumentu EZ1.

Redno vzdrževanje je treba opraviti ob koncu vsakega izvajanja protokola. To vključuje čiščenje enote za luknjanje in površin delovne plošče.



Enota za luknjanje je ostra! Priporočamo uporabo dveh rokavic.



Za dodatne postopke vzdrževanja glejte *Uporabniški priročnik za EZ1 Advanced XL*.

\* Ostanke vzorcev vsebujejo gvanidinijeve soli, zato niso združljivi z belilom. Glejte stran 12 za Opozorila in varnostni ukrepi.



22. Če želite izvesti še en protokol, pritisnite »**START**« (Zaženi), opravite koraka 1 in 2 protokola, nato pa sledite protokolu od koraka 5. V nasprotnem primeru dvakrat pritisnite »**STOP**«, da se vrnete na prvi zaslon, zaprite vrata instrumenta in izklopite instrument EZ1.

Koraka 3 in 4 nista potrebna pri izvajanju še enega protokola. Preskočite ju.

## Nadzor kakovosti

V skladu s sistemom upravljanja kakovosti družbe QIAGEN, ki je certificiran po standardu ISO, je vsaka serija kompletov EZ1 DSP Virus Kit preizkušena v skladu z vnaprej določenimi specifikacijami, kar zagotavlja konsistentno kakovost izdelka.

## Omejitve

Uporabnik je sam odgovoren za potrjevanje učinkovitosti sistema za kakršne koli postopke, izvedene v laboratoriju, ki niso zajeti v študije učinkovitosti QIAGEN.

Učinkovitost sistema je bila ugotovljena v študijah ocenjevanja učinkovitosti, v katerih so bili za izolacijo virusnih nukleinskih kislin in bakterijske DNA in vzorčne nadaljnje postopke uporabljeni plazma, serum, cerebrospinalna tekočina (Cerebrospinal Fluid, CSF) in nazofaringealni brisi v univerzalnem mediju za transport (Universal Transport Medium, UTM). Splošna učinkovitost je močno odvisna od nadaljnega postopka, zato je uporabnik odgovoren za potrjevanje učinkovitosti celotnega diagnostičnega delovnega toka, vključno s pripravo vzorcev in specifično nadaljnjo uporabo.

Pri nadaljnjih postopkih je treba uporabiti zadostne kontrole in tako zmanjšati tveganje za negativen vpliv na diagnostične rezultate. Za nadaljnjo validacijo priporočamo smernice Mednarodne konference o usklajevanju tehničnih zahtev (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements, ICH) iz publikacije *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology* (Validacija analitičnih postopkov: besedilo in metodologija).

Vse pridobljene diagnostične rezultate je treba interpretirati v povezavi z drugimi kliničnimi ali laboratorijskimi ugotovitvami.

## Značilnosti delovanja

Ustrezne značilnosti delovanja lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Navodila za odpravljanje težav

Ta navodila za odpravljanje težav vam lahko pomagajo pri reševanju morebitnih težav. Za več informacij glejte tudi stran s pogostimi vprašanji v našem centru za tehnično podporo: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Znanstveniki iz tehnične službe družbe QIAGEN vedno z veseljem odgovorijo na vsa vprašanja, ki jih morda imate glede informacij in/ali protokolov v tem priročniku ali o tehnologijah vzorčenja in analiziranja (za kontaktne informacije obiščite naše spletno mesto [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Priporobe in predlogi

### Splošno ravnanje

- |    |  |  |
|----|--|--|
| a) | Sporočilo o napaki na zaslону instrumenta                | Glejte uporabniški priročnik, priložen vašemu instrumentu EZ1 ali EZ2.   |
| b) | Datoteka s poročilom ni natisnjena (za EZ1)              | Preverite, ali je tiskalnik priključen na instrument EZ1 Advanced ali EZ1 Advanced XL prek serijskih vrat »PC/Printer« (Računalnik/tiskalnik).<br>Preverite, ali so serijska vrata nastavljena za uporabo s tiskalnikom.   |
| c) | Datoteka s poročilom ni poslana računalniku (za EZ1)     | Preverite, ali je računalnik priključen na instrument EZ1 Advanced ali EZ1 Advanced XL prek serijskih vrat »PC/Printer« (Računalnik/tiskalnik).<br>Preverite, ali so serijska vrata nastavljena za uporabo z računalnikom.   |
| d) | Vnesen je napačen ID kartice Q-Card (za EZ1)             | Če je bil vnesen napačen ID namesto ID-ja kartice Q-Card, instrument EZ1 Advanced ali EZ1 Advanced XL ne bo sprejel ID-ja in bo pozival uporabnika k vnosu ID-ja kartice Q-Card, dokler ne bo vnesen pravilen ID. Dvakrat pritisnite »STOP«, da se pomaknete v glavni meni.  |
| e) | Vnesen je napačen ID kartice Q-Card (za EZ2 Connect MDx) | Če je bil vnesen napačen ID namesto ID-ja kartice Q-Card, instrument EZ2 Connect MDx ne bo prikazal pravega protokola za uporabo. Vnesite pravi ID kartice Q-Card za prikaz potrebnega protokola.<br>Med preverjanjem vstavljenih komponent EZ2 Connect MDx preveri, ali se izbrani protokol ujema z vstavljenimi kartuškami z reagenti. Če je bil izbran napačen protokol zaradi napačnega ID-ja kartice Q-Card, prekinite izvajanje in začnite nastavljati izvajanje instrumenta od začetka. |

### Nizek izkoristek virusnih nukleinskih kislin in/ali bakterijske DNA

- |    |   |   |
|----|---|---|
| a) | Magnetni delci niso povsem resuspendirani | Poskrbite, da temeljito resuspendirate magnetne delce, preden vstavite kartuše z reagenti (RCV) v držalo.   |
| b) | Nezadostna količina aspiriranega reagenta | Po obračanju kartuš z reagenti (RCV) za resuspendiranje magnetnih delcev se prepričajte, ali so reagenti v kartuši (RCV) stekli na dno razdelkov. |

## Priporočila in predlogi

- |    |   |   |
|----|---|---|
| c) | Napačen volumen vzorca v epruveti za vzorce   | Poskrbite, da boste v epruveto za vzorec pipetirali točen volumen vzorca.   |
| d) | Napačna količina prenesenega vzorca (iz epruvete za vzorec se prenese manjši volumen kot pričakovano) | Preverite, ali so epruvete za vzorce po izvajanju skoraj prazne. Preverite, ali sta se izbrani in dodani volumen vzorca ujemala. Preverite, da v preostalem vzorčnem materialu v epruvetah ni strdkov ali usedlin. Preverite, kako so namazani O-obročji pipetorja (tedensko vzdrževanje).  |
| e) | Reagenti so v delovno ploščo vstavljeni v napačnem zaporedju  | Poskrbite, da so vse epruvete (epruvete za elucijo (ET) in epruvete za vzorce (ST)) in držala za konice za enkratno uporabo (DTH) s konicami za filtre, za enkratno uporabo (DFT) vstavljeni v delovno ploščo v pravilnem zaporedju. Ponovite postopek prečiščevanja z novimi vzorci.   |
| f) | Prenašalna RNA (CARRIER) ni dodana  | Rekonstituirajte liofilizirano prenašalno RNA (CARRIER) v 310 µl elucijskega pufera (AVE). Za vsak vzorec uporabite 3,6 µl te osnovne raztopine prenašalne RNA (CARRIER), zmešane z interno kontrolo (Internal Control, IC) (izbirno) ter dodatnim elucijskim puferom (AVE) do končnega volumna 60 µl, kot je opisano v poglavjih »Priprava prenašalne RNA (CARRIER)« in »Uporaba interne kontrole (Internal Control, IC)« na straneh 36–37. Ponovite postopek prečiščevanja z novimi vzorci. |
| g) | Prenašalna RNA (CARRIER) in elucijski pufer (AVE) nista dovolj premešana                              | Premešajte prenašalno RNA (CARRIER), interno kontrolo (Internal Control, IC) (izbirno) in elucijski pufer (AVE) tako, da jih pipetirate vsaj 10-krat.   |
| h) | RNA je razgrajena   | RNA so morda razgradile RNaze v izvornih vzorcih. Poskrbite, da so vzorci obdelani takoj po odvzemu oziroma ko jih vzamete iz shrambe.  |

## RNA ali DNA ne delujeta dobro v nadaljnjih postopkih











- |    |  |   |
|----|--|---|
| a) | Malo ali nič nukleinske kisline v eluatu                               | Glejte poglavje »Nizek izkoristek virusnih nukleinskih kislin in/ali bakterijske DNA« na strani 61 za možne vzroke. Če je mogoče, povečajte količino eluata, dodanega v nadaljnjo encimsko reakcijo.  |
| b) | Zamrznjeni vzorci niso ustrezno premešani po odtaljevanju              | Odtalite zamrznjene vzorce pri sobni temperaturi (15–25 °C) in jih 15 sekund mešajte s pulznim vrtinčenjem.   |
| c) | Nukleinske kisline v vzorcih so bile razgrajene že pred prečiščevanjem | To se lahko zgodi, če so bili vzorci znova zamrznjeni po odtaljevanju ali če so bili predolgo shranjeni pri sobni temperaturi. Vedno uporabite sveže vzorce oziroma takšne, ki so bili odmrznjeni le enkrat. Ponovite postopek prečiščevanja z novimi vzorci. |
| d) | Nezadostna liza vzorca   | To se lahko zgodi, če so bile kartuše z reagenti (RCV) predolgo shranjene pri povišanih temperaturah, kar povzroči inaktivacijo proteinaze K. Ponovite postopek prečiščevanja z novimi vzorci in kartušami z reagenti (RCV).                                  |
| e) | Prenos soli med elucijo  | Za najboljše rezultate poskrbite, da imajo kartuše z reagenti (RCV) temperaturo 20–30 °C.   |
| f) | Preveč ali premalo prenašalne RNA (CARRIER) v eluatu                   | Določite največjo količino prenašalne RNA (CARRIER), ki je primerna za vašo reakcijo pomnoževanja. Prilagodite koncentracijo raztopine prenašalne RNA (CARRIER).  |

## Priporočila in predlogi







- |    |  |  |
|----|--|--|
| g) | Preveč eluata v reakciji pomnoževanja                                    | Določite največji volumen eluata, ki je primeren za vašo reakcijo pomnoževanja. Zmanjšajte volumen eluata, dodanega v reakcijo pomnoževanja, ali ustrezno povečajte elucijski volumen. Po želji lahko v eluat dodate pozitivno kontrolo, da ugotovite učinek eluata na reakcijo pomnoževanja.  |
| h) | Različna učinkovitost prečiščenih nukleinskih kislin v nadaljnjih testih | Soli in etanol v pufru za izpiranje 1 ali pufru za izpiranje 2 v kartuši (RCV) so se morda ločili zaradi dolgotrajnega shranjevanja. Vedno večkrat obrnite kartuše (RCV) in se prepričajte, ali so reagenti v kartuši (RCV) stekli na dno razdelkov.   |
| i) | Prenizka občutljivost zaradi inhibitornih snovi                          | Povečajte elucijski volumen. Po želji lahko v eluat dodate pozitivno kontrolo, da ugotovite učinek elucijskega volumna na reakcijo pomnoževanja.<br>Če so eluati, pridobljeni iz vzorcev blata, motni, priporočamo, da jih 3 minute centrifugirate pri polni hitrosti (20.000 x g). To ne bo negativno vplivalo na čiste eluate, bo pa izboljšalo rezultate motnih eluatov v nadaljnjih postopkih. Po centrifugiranju prenesite eluat v novo epruveto brez premikanja sedimenta.   |
| j) | Nova kombinacija reverzne transkriptaze in <i>Taq</i> DNA polimeraze     | Če se encimi spremenijo, boste morda morali prilagoditi količino prenašalne RNA (CARRIER), dodane v elucijski puffer (AVE), in količino uporabljenega eluata.  |
| k) | Prenos magnetnih delcev  | Prenos magnetnih delcev v eluate ne bo vplival na večino nadaljnjih postopkov, vključno z RT-PCR. Če je treba zmanjšati tveganje za prenos magnetnih delcev (npr. za postopke, kot je real-time PCR), najprej postavite epruvete z eluatom v ustrezen magnetni separator za 1 minuto, nato pa postavite eluate v čiste epruvete. Če nimate na voljo ustreznega magneta, centrifugirajte epruvete z eluati v mikrocentrifugi 1 minuto pri polni hitrosti, da se morebitni preostali magnetni delci usedejo na dno, nato pa postavite supernatante v čiste epruvete. |

# Simboli

V navodilih za uporabo ali na embalaži in nalepkah se lahko pojavijo naslednji simboli:

Simbol	Opredelevalec simbola
 <N>	Vsebuje dovolj reagentov za <N> reakcij
	Uporabno do
	Ta izdelek izpolnjuje zahteve Uredbe (EU) 2017/746 za in vitro diagnostične medicinske pripomočke.
	In vitro diagnostični medicinski pripomoček
	Kataloška številka
	Serijska številka
	Številka materiala (za označevanje komponent)
	Edinstveni identifikator pripomočka
	Komponente
	Vsebuje



Simbol	Opredelitev simbola
	Številka
	Volumen
	Globalna trgovinska identifikacijska številka
Rn	R pomeni revizijo navodil za uporabo, n pa številko revizije
	Omejitev temperature
	Naslov/zakonit proizvajalec
	Pomembna opomba
	Glejte navodila za uporabo
	Ne izpostavljajte sončni svetlobi
	Opozorilo/pozor
	Samo za uporabo z

## Simbol

## Oprelitev simbola

<b>REAG</b> <b>CART</b> <b>VIRUS</b>	RCV: Kartuša z reagenti za viruse
<b>CAR</b> <b>RNA</b>	CARRIER: Prenášalna RNA
<b>ELU</b> <b>BUF</b>	AVE: Elucijski pufer
<b>DISP</b> <b>FILT</b> <b>TIP</b>	DFT: Konice za filtre za enkratno uporabo
<b>DISP</b> <b>TIP</b> <b>HOLD</b>	DTH: Držalo za konice za enkratno uporabo
<b>SAMP</b> <b>TUBE</b>	ST: Epruveta za vzorec
<b>ELU</b> <b>TUBE</b>	ET: Epruveta za elucijo
<b>GITC</b>	Gvadaninijev tiocianat
<b>G<sub>u</sub>HCl</b>	Gvanidinijev klorid
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>IPA</b>	Izopropanol
<b>LiCl</b>	Litijev klorid
<b>PROTK</b>	Proteinaza K

## Simbol

## Opredelitev simbola

---



Ta stran navzdol pri odpiranju

## Kontaktne podatke

Za tehnično pomoč in več informacij si oglejte naš Center za tehnično podporo na spletni strani [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support), pokličite na 00800-22-44-6000 ali stopite v stik s tehnično službo QIAGEN ali lokalnim distributerjem (glejte zadnjo platnico ali obiščite spletno stran [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Dodatek A: Prikazna sporočila na instrumentih EZ1/EZ2

Sporočila, ki jih prikaže programska oprema protokola na instrumentih EZ1 med nastavitvijo delovne plošče, med izvajanjem protokola in po izvajanju protokola, so navedena v preglednicah 2–4. Številka sporočila, navedena v preglednici, se ujema s številko sporočila, ki jo prikaže programska oprema.

Za splošna sporočila o napakah na zaslonu instrumenta EZ1 glejte uporabniški priročnik, priložen vašemu instrumentu EZ1.

Za splošna sporočila o napakah, prikazana na instrumentu EZ2 Connect MDx, glejte ustrezen uporabniški priročnik. Za pomoč pri odpravljanju težav se obrnite na tehnično službo družbe QIAGEN.

**Preglednica 2. Sporočila v postopku EZ1 Advanced XL DSP Virus**

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced XL
Brez	Navodila	Date/time START: Run 1: UV      2: Man 3: Test    4: Setup (Datum/čas ZAŽENI: Izvajanje 1: UV      2: Ročno 3: Test    4: Namestitev)
1	Navodila	EZ1 Advanced XL DSP Virus Version 1.0 (Različica 1.0)
2	Sledenje podatkom	Enter user ID ENT: Next (Vnesite ID uporabnika ENT: Naprej)
3	Sledenje podatkom	Enter Q-Card bar code ENT: Next (Vnesite črtno kodo Q-Card ENT: Naprej)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

## Preglednica 2. Sporočila v postopku EZ1 Advanced XL DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced XL
4	Navodila	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT: Back (Napačen komplet! Naložite EZ1 DSP Virus Kit ENT: Nazaj)
5	Navodila	Kit expired MMYY ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Komplet je potekel MMLL ENT: Uporabi nov komplet ESC: Ustavi protokol)
6	Sledenje podatkom	Use Q-Card data with sample 1 to xx Enter 1 to 14 ENT: Next (Uporabite podatke Q-Card z vzorcem 1 do xx Vnesite 1 do 14 ENT: Naprej)
7	Navodila	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no (Ali želite obdelati več vzorcev z drugo serijo kompleta ENT: Da, ESC: Ne)
8	Sledenje podatkom	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No (Ali želite dodati ID vzorca? ENT: Da ESC: Ne)
9	Sledenje podatkom	Enter sample ID for sample no. [X] ENT: Next (Vnesite ID vzorca za vzorec št. [X] ENT: Naprej)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

## Preglednica 2. Sporočila v postopku EZ1 Advanced XL DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced XL
10	Sledenje podatkom	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No (Ali želite preveriti ID-je vzorcev?) ENT: Da ESC: Ne)
11	Sledenje podatkom	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next (NAVZDOL: Naprej)
12	Sledenje podatkom	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back (NAVZDOL: Naprej, NAVZGOR: Nazaj)
13	Sledenje podatkom	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back (NAVZDOL: Naprej, NAVZGOR: Nazaj)
14	Sledenje podatkom	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back (NAVZDOL: Naprej, NAVZGOR: Nazaj)
15	Sledenje podatkom	ID 13: ID 14: ESC: Rescan DOWN: Next, UP: Back (ESC: Znova skeniraj NAVZDOL: Naprej, NAVZGOR: Nazaj)
16	Sledenje podatkom	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Ali želite dodati informacije o testu?) ENT: Da, ESC: Ne)
17	Sledenje podatkom	Enter assay ID for sample no. [X]  ENT: Next (Vnesite ID testa za vzorec št. [x]) ENT: Naprej)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

## Preglednica 2. Sporočila v postopku EZ1 Advanced XL DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced XL
18	Sledenje podatkom	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No (Ali želite preveriti ID-je testov?) ENT: Da ESC: Ne)
19	Sledenje podatkom	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Ali želite dodati opombe?) ENT: Da ESC: Ne)
20	Sledenje podatkom	Enter notes for sample no. [X] ENT: Next (Vnesite opombe za vzorec št. [X]) ENT: Naprej)
21	Sledenje podatkom	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No (Ali želite preveriti opombe?) ENT: Da ESC: Ne)
22	Izbira	Select sample volume: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl (Izberite volumen vzorca: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl)
23	Izbira	Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Izberite elucijski volumen: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl)
24	Navodila	You have chosen: Sample volume: xxx µl Elution volume: yyy µl ENT: Next, ESC: Back (Izbrali ste: Volumen vzorca: xxx µl Elucijski volumen: yyy µl ENT: Naprej, ESC: Nazaj)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.



## Preglednica 2. Sporočila v postopku EZ1 Advanced XL DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced XL
25	Navodila	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back (Vstavite kartuše na enake položaje kot vzorce ENT: Naprej, ESC: Nazaj)
26	Navodila	Load empty 2 ml tubes into heating block ENT: Next, ESC: Back (Vstavite prazne 2-ml epruvete v grelno enoto ENT: Naprej, ESC: Nazaj)
27	Navodila	Load elution tubes (1.5 ml) into first row ENT: Next, ESC: Back (Vstavite epruvete za elucijo (1,5 ml) v prvo vrstico ENT: Naprej, ESC: Nazaj)
28	Navodila	Load tip holders and tips into second row ENT: Next, ESC: Back (Vstavite držala za konice in konice v drugo vrstico ENT: Naprej, ESC: Nazaj)
29	Navodila	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC into third row ENT: Next, ESC: Back (Vstavite 1,5-ml epruvete s cRNA in interno kontrolo v tretjo vrstico ENT: Naprej, ESC: Nazaj)
30	Navodila	Load 2 ml tubes with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back (Vstavite 2-ml epruvete z vzorcem v četrto vrstico ENT: Naprej, ESC: Nazaj)
31	Navodila	Loading finished Close door and press START ESC: Back (Vstavljanje končano Zaprte vrata in pritisnite ZAŽENI ESC: Nazaj)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

## Preglednica 2. Sporočila v postopku EZ1 Advanced XL DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced XL
32	Navodila	Please close door! ENT: Next (Zaprte vrata! ENT: Naprej)
33	Navodila	Checking temperature Set: Cur: (Preverjanje temperature Nastavljeno: Trenutno:)
34	Status	Protocol started (Protokol zagnan)
35	Status	Piercing foil [x] of 43 min left (Luknjanje folije Še [x] od 43 min)
36	Status	Collecting elution buffer AVE [x] of 43 min left (Odvzem elucijskega puфра AVE Še [x] od 43 min)
37	Status	Collecting cRNA + IC [x] of 43 min left (Odvzem prenašalne RNA + interne kontrole Še [x] od 43 min)
38	Status	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Odvzem puфра za lizo Še [x] od 43 min)
39	Status	Collecting Sample [x] of 43 min left (Odvzem vzorca Še [x] od 43 min)
40	Status	Collecting Proteinase K [x] of 43 min left (Odvzem proteinaze K Še [x] od 43 min)
41	Status	Mixing lysate [x] of 43 min left (Mešanje lizata Še [x] od 43 min)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

## Preglednica 2. Sporočila v postopku EZ1 Advanced XL DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced XL
42	Status	15 min Incubation [x] of 43 min left (15 min inkubacije Še [x] od 43 min)
43	Status	Tip touch [x] of 43 min left (Dotik konice Še [x] od 43 min)
44	Status	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (Odvzem pufra za vezavo Še [x] od 43 min)
45	Status	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Odvzem pufra za lizo Še [x] od 43 min)
46	Status	Collecting Beads [x] of 43 min left (Odvzem kroglic Še [x] od 43 min)
47	Status	Resuspending Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left (Resuspendiranje kroglic v vezalnem pufru Še [x] od 43 min)
48	Status	Transferring Lysate [x] of 43 min left (Prenašanje lizata Še [x] od 43 min)
49	Status	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (Vezava Magnetno ločevanje Še [x] od 43 min)
50	Status	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Izpiranje 1 Magnetno ločevanje Še [x] od 43 min)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

## Preglednica 2. Sporočila v postopku EZ1 Advanced XL DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced XL
51	Status	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Izpiranje 2 Magnetno ločevanje Še [x] od 43 min)
52	Status	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Izpiranje 3 Magnetno ločevanje Še [x] od 43 min)
53	Status	Drying Beads [x] of 43 min left (Sušenje kroglic Še [x] od 43 min)
54	Status	Rinse [x] of 43 min left (Splakovanje Še [x] od 43 min)
55	Status	Elution [x] of 43 min left (Elucija Še [x] od 43 min)
56	Navodila	Check transfer of cRNA + IC (row 3) ENT: Next (Kontrola prenosa cRNA + interne kontrole (vrstica 3) ENT: Naprej)
57	Navodila	Check transfer of sample (row 4) ENT: Next (Kontrola prenosa vzorca (vrstica 4) ENT: Naprej)
58	Navodila	Protocol finished ENT: Next (Protokol dokončan ENT: Naprej)
59	Sledenje podatkom	Transferring report file Attempt no. (Prenašanje datoteke s poročilom Poskus št.)
60	Brez	

## Preglednica 2. Sporočila v postopku EZ1 Advanced XL DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced XL
Brez	Navodila	Report file sent Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k. (Datoteka s poročilom poslana) Natis v redu? 1: V redu 2: Ni v redu)
61	Navodila	Report file sent ENT: Next (Datoteka s poročilom poslana) ENT: Naprej)
62	Navodila	Report file could not be sent ENT: Resend (Datoteke s poročilom ni bilo mogoče poslati) ENT: Pošlji znova)
63	Navodila	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (Izvedi UV postopek?) ENT: Da ESC: Ne)
64	Navodila	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next (Odstranite eluate in potrošni material z delovne plošče) ENT: Naprej)
65	Navodila	UV decontamination: Enter 20-60 min ENT: Next (UV dekontaminacija: Vnesite 20-60 min) ENT: Naprej)
66	Navodila	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back (Čas UV dekontaminacije mora biti med 20–60 min) ESC: Nazaj)
67	Navodila	UV decontamination Total time: min Time left: min (UV dekontaminacija) Skupni čas: min Preostali čas: min)
68	Navodila	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (Opravite redno vzdrževanje po vsakem izvajanju) ESC: Glavni meni)

## Preglednica 2. Sporočila v postopku EZ1 Advanced XL DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced XL
69	Navodila	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next (UV svetilke bodo kmalu potekle Št. preostalih UV postopkov: ENT: Naprej)
70	Navodila	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort (UV svetilke so potekle ENT: Naprej ESC: Prekini)
71	Navodila	Decontamination UV lamps cooling Please stand by (UV svetilke za dekontaminacijo se hladijo Počakajte zraven)
72	Navodila	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (Opravite redno vzdrževanje po vsakem izvajanju ESC: Glavni meni)

## Preglednica 3. Sporočila v postopku EZ1 Advanced DSP Virus

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced
Brez	Navodila	Date/Time START:Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Datum/čas ZAŽENI: Izvajanje 1: UV 2: Ročno 3: Test 4: Namestitev Tipka: ZAŽENI, 1, 2, 3, 4)
1	Navodila	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (Različica 1.0)
2	Sledenje podatkom	Scan/enter user ID (Skenirajte/vnesite ID uporabnika)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

### Preglednica 3. Sporočila v postopku EZ1 Advanced DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced
Brez	Navodila	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Datum/čas ZAŽENI: Izvajanje 1: UV 2: Ročno 3: Test 4: Namestitev Tipka: ZAŽENI, 1, 2, 3, 4)
1	Navodila	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (Različica 1.0)
2	Sledenje podatkom	Scan/enter user ID (Skenirajte/vnesite ID uporabnika)
3	Sledenje podatkom	Scan/enter Q-Card barcode (Skenirajte/vnesite črtno kodo kartice Q-Card)
4	Navodila	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT=back (Napačen komplet! Naložite komplet EZ1 DSP Virus Kit ENT=Nazaj)
5	Navodila	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Komplet je potekel ENT: Uporabi nov komplet ESC: Ustavi protokol)
6	Sledenje podatkom	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6 (Uporabi podatke Q-Card z vzorcem št. 1 za vnos od 1 do 6)
7	Navodila	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no (Ali želite obdelati več vzorcev z drugo serijo kompleta ENT: Da, ESC: Ne)
8	Sledenje podatkom	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No (Ali želite dodati ID vzorca? ENT: Da ESC: Ne)
9	Sledenje podatkom	Scan/enter sample ID sample no. [x] (Skenirajte/vnesite ID vzorca, vzorec št. [x])
10	Sledenje podatkom	ID1: ID2: ID3: Next=ENT (Naprej = ENT)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

### Preglednica 3. Sporočila v postopku EZ1 Advanced DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced
11	Sledenje podatkom	ID4: ID5: ID6: Next=ENT, ID1-3=Up (Naprej = ENT, ID1-3 = Navzgor)
12	Sledenje podatkom	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Ali želite dodati informacije o testu?) ENT: Da, ESC: Ne)
13	Sledenje podatkom	Scan/enter assay ID ID sample no. [x] (Skenirajte/vnesite ID testa ID vzorca št. [x])
14	Sledenje podatkom	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Ali želite dodati opombe?) ENT: Da ESC: Ne)
15	Sledenje podatkom	Scan/enter notes sample no. [x] (Skenirajte/vnesite opombe, vzorec št. [x])
16	Navodila	Select sample volume: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl (Izberite volumen vzorca: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl)
17	Navodila	Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Izberite elucijski volumen: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl)
18	Navodila	You have chosen: Sample volume: [xxx] µl Elution volume: [yyy] µl Next=Any, Prev=Esc (Izbrali ste: Volumen vzorca: [xxx] µl Elucijski volumen: [yyy] µl Naprej = poljubna tipka, Prejšnji = Esc)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.



### Preglednica 3. Sporočila v postopku EZ1 Advanced DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced
19	Navodila	Load cartridges at same positions as sample Next=Any, Prev=Esc (Vstavite kartuše na enake položaje kot vzorec Naprej = poljubna tipka, Prejšnji = Esc)
20	Navodila	Load empty 2.0 ml tubes at heating block Next=Any, Prev=Esc (Vstavite prazne 2,0-ml epruvete v grelno enoto Naprej = poljubna tipka, Prejšnji = Esc)
21	Navodila	Load elution tubes (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=Esc (Vstavite epruvete za elucijo (1,5 ml) v prvo vrstico Naprej = poljubna tipka, Prejšnji = Esc)
22	Navodila	Load tip holders and tips into second row Next=Any, Prev=Esc (Vstavite držala za konice in konice v drugo vrstico Naprej = poljubna tipka, Prejšnji = Esc)
23	Navodila	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC in third row Next=Any, Prev=Esc (Vstavite 1,5-ml epruvete s cRNA in interno kontrolo v tretjo vrstico Naprej = poljubna tipka, Prejšnji = Esc)
24	Navodila	Load 2.0 ml tubes with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc (Vstavite 2,0-ml epruvete z vzorcem v četrto vrstico Naprej = poljubna tipka, Prejšnji = Esc)
25	Navodila	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc (Vstavljanje končano. Zaprite vrata in pritisnite ZAŽENI Prejšnji = Esc)
26	Navodila	Please close door! (Zaprite vrata!)
27	Navodila	Checking temperature Set: Cur: (Preverjanje temperature Nastavljeno: Trenutno:)
28	Status	Protocol started (Protokol zagnan)
29	Status	Piercing foil (Luknjanje folije)
30	Status	Collecting Elution Buffer AVE (Odvzem elucijskega pufra AVE)
31	Status	Collecting cRNA + IC (Odvzem prenašalne RNA in interne kontrole)
32	Status	Collecting Lysis Buffer (Odvzem pufra za lizo)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

### Preglednica 3. Sporočila v postopku EZ1 Advanced DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced
33	Status	Collecting Sample (Odvzem vzorca)
34	Status	Collecting Proteinase K (Odvzem proteinaze K)
35	Status	Mixing Lysate (Mešanje lizata)
36	Status	15 min Incubation [x] of 43 min left (15 min inkubacije Še [x] od 43 min)
37	Status	Kick [x] of 43 min left (Izmet Še [x] od 43 min)
38	Status	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (Odvzem pufra za vezavo Še [x] od 43 min)
39	Status	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Odvzem pufra za lizo Še [x] od 43 min)
40	Status	Collecting Beads [x] of 43 min left (Odvzem kroglic Še [x] od 43 min)
41	Status	Resuspension of Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left (Resuspendiranje kroglic v vezalnem pufu Še [x] od 43 min)
42	Status	Transferring Lysate [x] of 43 min left (Prenašanje lizata Še [x] od 43 min)
43	Status	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (Vezava Magnetno ločevanje Še [x] od 43 min)
44	Status	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Izpiranje 1 Magnetno ločevanje Še [x] od 43 min)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

### Preglednica 3. Sporočila v postopku EZ1 Advanced DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced
45	Status	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Izpiranje 2 Magnetno ločevanje Še [x] od 43 min)
46	Status	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Izpiranje 3 Magnetno ločevanje Še [x] od 43 min)
47	Status	Dry Beads [x] of 43 min left (Sušenje kroglic Še [x] od 43 min)
48	Status	Rinse [x] of 43 min left (Splakovanje Še [x] od 43 min)
49	Status	Elution [x] of 43 min left (Elucija Še [x] od 43 min)
50	Navodila	Check transfer of cRNA + IC (row 3) Next=Any (Kontrola prenosa cRNA + interne kontrole (vrstica 3) Naprej = poljubna tipka)
51	Navodila	Check transfer of sample (row 4) Next=Any (Kontrola prenosa vzorca (vrstica 4) Naprej = poljubna tipka)
52	Navodila	Protocol finished (Protokol dokončan)
53	Sledenje podatkom	Transfer Report file, attempt no. (Prenos datoteke s poročilom; poskus št.)
54	Navodila	Report file sent Next=ENT (Datoteka s poročilom poslana Naprej = ENT)
55	Navodila	Report file could not be sent Resend=ENT (Datoteke s poročilom ni bilo mogoče poslati Pošlji znova = ENT)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

### Preglednica 3. Sporočila v postopku EZ1 Advanced DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu EZ1 Advanced
56	Navodila	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (Izvedi UV postopek?) ENT: Da ESC: Ne)
57	Navodila	UV decontamination Set time min Key:0-9, ENT (UV dekontaminacija) Nastavite čas min Tipke: 0–9, ENT)
58	Navodila	UV decontamination. Time must be between 20-60 min Key:ESC (UV dekontaminacija. Čas mora biti med 20–60 min) Tipka: ESC)
59	Navodila	UV decontamination Time left: min  (UV dekontaminacija Preostali čas: min)
60	Navodila	Perform regular maintenance after each run ESC=Main menu (Opravite redno vzdrževanje po vsakem izvajanju) ESC = Glavni meni)
61	Navodila	UV lamp expires soon UV runs left: ENT=continue (UV svetilka bo kmalu potekla Št. preostalih UV postopkov: ENT = naprej)
62	Navodila	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort (UV svetilka je potekla) ENT = naprej ESC = prekini)
63	Navodila	Decontamination UV lamp cooling Please stand by (Dekontaminacija UV svetilka se hladi Počakajte zraven)

#### Preglednica 4. Sporočila v postopku BioRobot EZ1 DSP Virus

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu BioRobot EZ1 DSP
Brez	Navodila	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Datum/čas ZAŽENI: Izvajanje) 1: UV 2: Ročno 3: Test 4: Namestitev Tipka: ZAŽENI, 1, 2, 3, 4)
1	Navodila	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (Različica 1.0)
2	Sledenje podatkom	Scan/enter user ID (Skenirajte/vnesite ID uporabnika)
3	Navodila	Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Izberite elucijski volumen: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl)
4	Navodila	You have chosen: Sample Volume:[sample volume] µl Elution Volume:[elution volume] µl Next=Any, Prev=ESC (Izbrali ste: Volumen vzorca:[volumen vzorca] µl Elucijski volumen:[elucijski volumen] µl Naprej = poljubna tipka, Nazaj = ESC)
5	Navodila	Load cartridges (RCV) at same positions as sample Next=Any, Prev=ESC (Vstavite kartuše z reagenti za viruse na enake položaje kot vzorce Naprej = poljubna tipka, Nazaj = ESC)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

#### Preglednica 4. Sporočila v postopku BioRobot EZ1 DSP Virus (nadaljevanje)

Message number	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu BioRobot EZ1 DSP
6	Navodila	Load empty 2.0 ml tubes (ST) at heating block Next=Any, Prev=ESC (Vstavite prazne 2,0-ml epruvete za vzorec v grelno enoto Naprej = poljubna tipka, Prejšnji = ESC)
7	Navodila	Load elution tubes (ET) (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=ESC (Vstavite epruvete za elucijo (1,5 ml) v prvo vrstico Naprej = poljubna tipka, Prejšnji = ESC)
8	Navodila	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC (Vstavite držala za konice in konice za enkratno uporabo v drugo vrstico Naprej = poljubna tipka, Nazaj = ESC)
9	Navodila	Load 1.5 ml tubes (ET) with (CARRIER) + IC in third row Next=Any, Prev=ESC (Vstavite 1,5-ml epruvete za elucijo s (CARRIER) + interno kontrolo v tretjo vrstico Naprej = poljubna tipka, Nazaj = ESC)
10	Navodila	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=ESC (Vstavite 2,0-ml epruvete z vzorcem v četrto vrstico Naprej = poljubna tipka, Nazaj = ESC)
11	Navodila	Start protocol Press START Prev=ESC (Zaženite protokol Pritisnite ZAŽENI Nazaj = ESC)
12	Status	Checking Temperature Set: 63,0 [deg] Cur: [deg] (Preverjanje temperature Nastavljeno: 63,0 [stopinj] Trenutno: [stopinj])
13	Status	Protocol started (Protokol zagnan)
14	Status	Piercing Foil (Luknjanje folije)
15	Status	Collecting Elution Buffer (AVE) (Odvzem elucijskega pufru (AVE))
16	Status	Collecting cRNA (CARRIER) + IC (Odvzem prenašalne RNA (CARRIER) in interne kontrole)
17	Status	Collecting Lysis Buffer (Odvzem pufru za lizo)
18	Status	Collecting Sample (Odvzem vzorca)
19	Status	Collecting (Odvzem)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

#### Preglednica 4. Sporočila v postopku BioRobot EZ1 DSP Virus (nadaljevanje)

Številka sporočila	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu BioRobot EZ1 DSP
20	Status	Mixing Lysate (Mešanje lizata)
21	Status	Checking Temperature Set: 56,0 [deg] Cur: [deg] (Preverjanje temperature Nastavljeno: 56,0 [stopinj] Trenutno: [stopinj])
22	Status	15 min Incubation (15 min inkubacije)
23	Status	Kick (Izmet)
24	Status	Collecting Binding Buffer (Odvzem pufru za vezavo)
25	Status	Collecting Lysis Buffer (Odvzem pufru za lizo)
26	Status	Collecting Beads (Odvzem kroglic)
27	Status	Resuspension of Beads in Binding Buffer (Resuspendiranje kroglic v vezalnem pufru)
28	Status	Transferring Lysate (Prenašanje lizata)
29	Status	Binding Magnetic Separation (Vezava, magnetno ločevanje)
30	Status	Wash 1 Magnetic Separation (Izpiranje 1, magnetno ločevanje)
31	Status	Wash 2 Magnetic Separation (Izpiranje 1, magnetno ločevanje)
32	Status	Wash 3 Magnetic Separation (Izpiranje 1, magnetno ločevanje)
33	Status	Dry Beads (Sušenje kroglic)
34	Status	Kick (Izmet)
35	Status	Dry Beads (Sušenje kroglic)
36	Status	Kick (Izmet)
37	Status	Rinse (Splakovanje)
38	Status	Checking Temperature Set: 65,0 [deg] Cur: [deg] (Preverjanje temperature Nastavljeno: 65,0 [stopinj] Trenutno: [stopinj])
39	Status	Elution (Elucija)

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

#### Preglednica 4. Sporočila v postopku BioRobot EZ1 DSP Virus (nadaljevanje)

Message number	Vrsta sporočila	Besedilo sporočila na instrumentu BioRobot EZ1 DSP
40	Navodila	Check transfer of cRNA (CARRIER)+ IC (tube [ET], row 3) Next=Any (Kontrola prenosa cRNA (CARRIER) + interne kontrole (epruveta za elucijo, vrstica 3) Naprej = poljubna tipka)
41	Navodila	Check transfer of sample (tube [ST], row 4) Next=Any (Kontrola prenosa vzorca (epruveta za vzorec, vrstica 4) Naprej = poljubna tipka)
42	Navodila	Protocol finished! Press ESC to return to Menu (Protokol dokončan! Pritisnite »ESC« za vrnitev v meni)



## Dodatek B: Izračun količine interne kontrole (Internal Control, IC)

Za spremljanje učinkovitosti priprave vzorca in nadaljnje analize je morda v postopek priprave vzorca treba dodati interno kontrolo (Internal Control, IC). Za izračun količine interne kontrole (Internal Control, IC), ki je potrebna v protokolu EZ1 DSP Virus, je treba upoštevati volumen puфра, ki vsebuje interno kontrolo (Internal Control, IC) in je dodan na vzorec, ter elucijski volumen za določen test.

### Določitev, koliko interne kontrole (Internal Control, IC) bo v nadaljnjih reakcijah

Za določitev volumna interne kontrole (Internal Control, IC), ki bo prisotna v določeni nadaljnji analizi, uporabite naslednjo enačbo:

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

pri čemer velja:

$IC_{RXN}$  = Volumen interne kontrole (Internal Control, IC) na nadaljnjo reakcijo

$IC_{LB}$  = Volumen interne kontrole (Internal Control, IC), dodan v pufer za lizo (LB)

$LB_{SAM}$  = Volumen puфра za lizo (LB) na vzorec

$EL_{RXN}$  = Volumen eluata na nadaljnjo reakcijo

$LB_{TOT}$  = Skupni volumen puфра za lizo (LB) plus prenašalne RNA (CARRIER), uporabljen v protokolu

$EL_{SAM}$  = Volumen eluata na vzorec

Primer: Ob uporabi predhodno določenega testnega sistema uporabnik 1 doda 39 µl raztopine z interno kontrolo (ICLB) v 8,4 ml pufru za lizo (LB) in 140 µl prenašalne RNA (CARRIER). Ob uporabi ročnega referenčnega postopka za testni sistem se doda 625 µl pufru za lizo (LB) na vzorec (LB<sub>SAM</sub>), uporabljen pa je elucijski volumen 75 µl (EL<sub>SAM</sub>). Uporabnik 1 uporabi 50 µl eluata na nadaljnjo reakcijo (EL<sub>RXN</sub>). Volumen raztopine z interno kontrolo v vsaki nadaljnji reakciji (IC<sub>RXN</sub>) je:

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

Končne nadaljnje reakcije za zadevni testni sistem vsebujejo 1,89 µl raztopine z interno kontrolo na reakcijo.

### Določitev količine raztopine z interno kontrolo, ki jo je treba dodati pred začetkom

Če veste, kakšno količino interne kontrole (Internal Control, IC) želite imeti v nadaljnji analizi (IC<sub>RXN</sub>), morate določiti količino interne kontrole (Internal Control, IC), ki jo boste razredčili z elucijskim pufrom (AVE) in prenašalno RNA (CARRIER) (IC<sub>AVE</sub>) pred začetkom prečiščevanja. Za izračun te vrednosti uporabite naslednjo enačbo:

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

pri čemer velja:

IC<sub>AVE</sub> = Volumen interne kontrole (Internal Control, IC), razredčene v elucijskem pufri–prenašalni RNA (AVE–CARRIER)

IC<sub>RXN</sub> = Volumen interne kontrole (Internal Control, IC) na nadaljnjo reakcijo

- IC<sub>TOT</sub> = Skupni volumen razredčene interne kontrole (Internal Control, IC) v elucijskem pufru–prenašalni RNA (AVE–CARRIER) na izvajanje
- IC<sub>SAM</sub> = Volumen razredčene interne kontrole (Internal Control, IC), ki je dodan na vzorec (50 µl)
- EL<sub>SAM</sub> = Volumen eluata na vzorec
- EL<sub>RXN</sub> = Volumen eluata na nadaljnjo reakcijo

Primer: Uporabnik 2 dela s testom, ki je optimiziran za uporabo z 1,0 ml raztopine z interno kontrolo na reakcijo (IC<sub>RXN</sub>) in 20 µl eluata na reakcijo (EL<sub>RXN</sub>). Uporabnik 2 uporablja protokol EZ1 DSP Virus, izbral pa je elucijski volumen 60 µl (EL<sub>SAM</sub>). Za vsak obdelan vzorec je treba ročno pipetirati 60 µl razredčene interne kontrole (Internal Control, IC) v 1,5-ml epruveto (za elucijo (ET)) na položaju 3 delovne plošče EZ1 ali v vrstici B delovne plošče EZ2, vendar bo med postopkom priprave vzorca po protokolu EZ1 DSP Virus instrument EZ1/EZ2 prenesel samo 50 µl razredčene interne kontrole (IC<sub>SAM</sub>) iz razdelka 3/vrstice B v reakcijo vezave. Za 6 vzorcev, ki so obdelani v enem izvajanju, je treba pripraviti naslednji skupni volumen razredčene interne kontrole (IC<sub>TOT</sub>):

$$\begin{aligned} \text{IC}_{\text{TOT}} &= \text{Število vzorcev na izvajanje} \times 60 \mu\text{l} \\ &= 6 \times 60 \mu\text{l} = 360 \mu\text{l} \end{aligned}$$

Volumen raztopine z interno kontrolo (IC<sub>AVE</sub>), ki jo uporabnik 2 potrebuje za 6 vzorcev:

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

Za vsak vzorec je treba razredčini interne kontrole (Internal Control, IC) dodati 3,6 µl osnovne raztopine s prenašalno RNA (CARRIER) z 1 µg/µl. Za 6 vzorcev je treba izračunati skupni volumen na naslednji način:

Skupni volumen raztopine prenašalne RNA = 6 x 3,6 µl raztopine prenašalne RNA = 21,6 µl

Za končni skupni volumen 360 µl razredčene interne kontrole (Internal Control, IC) mora uporabnik dodati elucijski pufer (AVE):

$$\begin{aligned}\text{Volumen elucijskega pufera (AVE)} &= \text{IC}_{\text{TOT}} - \text{IC}_{\text{AVE}} - \text{volumen prenašalne RNA (CARRIER)} \\ &= 360 \mu\text{l} - 21,6 \mu\text{l} - 21,6 \mu\text{l} = 316,8 \mu\text{l}\end{aligned}$$

Uporabnik 2 mora dodati 21,6 µl raztopine z interno kontrolo v 316,8 µl elucijskega pufera (AVE) in 21,6 µl raztopine prenašalne RNA (CARRIER), da dobi 360 µl razredčene interne kontrole (Internal Control, IC). Od te razredčene interne kontrole (Internal Control, IC) je treba ročno prenesti 60 µl v 1,5-ml epruvete (epruvete za elucijo (ET)) na položaju 3 delovne plošče EZ1 ali v vrstici B delovne plošče EZ2 pred začetkom protokola EZ1 DSP Virus.

# Dodatek C: Vzorčni list za uporabo s sistemom EZ1 DSP Virus System

Ta vzorčni list je predloga, ki je lahko koristna za evidentiranje med uporabo postopka EZ1 DSP Virus. List lahko fotokopirate ali natisnete ter nanj vpisujete opise vzorcev in podrobnosti o izvajanju.

## Sistem EZ1 DSP Virus

Datum/čas: \_\_\_\_\_ Serijska št. kompleta: \_\_\_\_\_

Uporabnik: \_\_\_\_\_ ID izvajanja: \_\_\_\_\_

Serijska številka **EZ1**: \_\_\_\_\_

<b>Položaj na delovni plošči</b>	<b>ID vzorca</b>	<b>Vzorčni material</b>	<b>Vstavljena kartuša z reagenti (RCV) in prazna epruveta?</b>	<b>Vstavljena epruveta za vzorec (ST)?</b>	<b>Vstavljena epruveta za elucijo (ET)?</b>	<b>Vstavljeno držalo za konice za enkratno uporabo (DTH) s konicami za filtre za enkratno uporabo (DFT)?</b>	<b>Vstavljena epruveta za elucijo (ET) z raztopino CARRIER in interno kontrolo (Internal Control, IC)?</b>
1 (levo)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14 (desno)							

Datum/čas: \_\_\_\_\_ Serijska št. kompleta: \_\_\_\_\_

Uporabnik: \_\_\_\_\_ ID izvajanja: \_\_\_\_\_

Serijska številka **EZ2**: \_\_\_\_\_

Položaj na delovni plošči	ID vzorca	Vzorčni material	Vstavljena kartuša z reagenti (RCV) in prazna epruveta?	Vstavljena epruveta za vzorec (ST)?	Vstavljena epruveta za elucijo (ET)?	Vstavljeno držalo za konice za enkratno uporabo (DTH) s konicami za filtriranje za enkratno uporabo (DFT)?	Vstavljena epruveta za elucijo (ET) z raztopino CARRIER in interno kontrolo (Internal Control, IC)?
1 (levo)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24 (desno)							

## Informacije za naročanje

Izdelek	Vsebina	Kat. št.
EZ1 DSP Virus Kit (48)	Za 48 priprav virusnih nukleinskih kislin in/ali bakterijske DNA: Predhodno napolnjene kartuše z reagenti, držala za konice za enkratno uporabo, konice za filtre za enkratno uporabo, epruvete za vzorce, epruvete za elucijo, pufri, prenašalna RNA	62724
EZ1 Advanced XL DSP Virus Card	Predhodno programirana kartica za protokol EZ1 DSP Virus; za uporabo z instrumentom EZ1 Advanced XL	9018703
EZ1 Advanced DSP Virus Card	Predhodno programirana kartica za protokol EZ1 DSP Virus; za uporabo z instrumentom EZ1 Advanced	9018306
EZ1 DSP Virus Card	Predhodno programirana kartica za protokol EZ1 DSP Virus; za uporabo z instrumentom BioRobot EZ1 DSP*	9017707
EZ1 Advanced XL	Robotski instrument za samodejno prečiščevanje nukleinskih kislin iz do 14 vzorcev z uporabo kompletov EZ1, 1-letna garancija na sestavne dele in delo*	9001492

\* Priporočamo garancijo Warranty PLUS 2 (kat. št. 9237720): 3 leta garancije, 1 obisk za preventivno vzdrževanje na leto, 48-urni prioritetni odziv, vključeno vse delo, potni stroški in deli za popravilo.



Izdelek	Vsebina	Kat. št.
EZ2 Connect MDx	Namizni instrument za samodejno izolacijo nukleinskih kislin iz do 24 vzorcev vzporedno z uporabo predhodno napolnjenih kartuš iz kompleta EZ1; vključuje 1-letno garancijo na sestavne dele in delo. WiFi povezava za LIMS in QIASphere za enostavno uporabo	9003230
Buffer ASL (4x 140 ml)	4x 140 ml Buffer ASL	19082

Posodobljene informacije o licenciranju in zavrnitve odgovornosti za posamezne izdelke so na voljo v ustreznih navodilih za uporabo kompleta znamke QIAGEN. Navodila za uporabo kompletov znamke QIAGEN so na voljo na spletni strani [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), lahko pa jih tudi naročite pri tehnični službi družbe QIAGEN ali lokalnem distributerju.

# Zgodovina revizije dokumenta

Revizija	Opis
R1, junij 2022	<ul style="list-style-type: none"><li>• Nova različica kompleta V5 v skladu z novo Uredbo EU 2017/746 (IVDR)</li><li>• Dodana uporaba novega instrumenta EZ2 Connect MDx</li><li>• Posodobitev dobavljenih materialov (dodane aktivne sestavine)</li><li>• Posodobitev poglavja o omejitvah: odstranitev vzorčnih materialov polna kri, urin, posušeni brisi in izmeček iz predvidene uporabe</li><li>• Posodobitev poglavja Opozorila in varnostni ukrepi</li><li>• Posodobitev poglavja Shranjevanje in ravnanje z reagenti</li><li>• Posodobitev stabilnosti med uporabo za prenašalno RNA</li><li>• Dodano poglavje Odlaganje med odpadke</li><li>• Posodobitev poglavja Navodila za odpravljanje težav</li></ul>

## Sporazum o omejeni licenci za komplet EZ1 DSP Virus Kit

Kupec ali uporabnik izdelka z njegovo uporabo soglaša z naslednjimi pogoji:

1. Izdelek se lahko uporablja zgolj v skladu s protokoli, ki so priloženi izdelku, in s to knjižico ter skupaj s sestavnimi deli iz panela. QIAGEN v okviru svoje intelektualne lastnine ne ponuja licenc za uporabo ali kombiniranje priloženih sestavnih delov tega panela s sestavnimi deli, ki niso priloženi temu panelu: razen kot je opisano v protokolih, ki so priloženi izdelku, v tem priročniku in dodatnih protokolih, ki so na voljo na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Nekatere od teh dodatnih protokolov so ustvarili uporabniki QIAGEN za uporabnike QIAGEN. Družba QIAGEN teh protokolov ni temeljito testirala ali optimizirala. Družba QIAGEN ne daje garancije ali jamstva, da ne kršijo pravic tretjih oseb.
2. Razen izrecno navedenih licenc družba QIAGEN ne daje drugih jamstev, da ta panel in/ali njegova uporaba ne krši pravic tretjih strank.
3. Ta panel in njegovi sestavni deli so licencirani za enkratno uporabo in jih ni dovoljeno ponovno uporabiti, obnoviti ali prodajati naprej.
4. QIAGEN zlasti zavrača kakršne koli druge licence, izrecne ali nakazane, razen tistih, ki so izrecno navedene.
5. Kupec in uporabnik tega panela se strinjata, da ne bosta ukrepala ali dovolila drugim, da ukrepajo v smeri, ki bi vodila v ali omogočala katerega od zgoraj prepovedanih dejanj. QIAGEN lahko prepovedi iz tega Sporazuma o omejeni licenci uveljavlja na katerem koli sodišču ter dobi povrnjene vse stroške za preiskavo in sodišče, vključno z odvzetimi stroški, za katero koli dejanje za uveljavitev tega Sporazuma o omejeni licenci ali pravice intelektualne lastnine v povezavi s tem panelom in/ali njegovimi sestavnimi deli.

Za posodobljene licenčne pogoje glejte [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Blagovne znamke: QIAGEN®, Sample to Insight®, EZ1®, EZ2®, BioRobot® (skupina QIAGEN). Registrirana imena, blagovne znamke itd., ki so uporabljeni v tem dokumentu, ne smejo veljati za nezaščiteni z zakonom, tudi če niso izrecno označeni kot takšni.

Jun-2022 HB-3026-001 1127536SL © 2022 QIAGEN, vse pravice pridržane.

Naročila [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tehnična podpora [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) |  
Spletno mesto [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)