

Инструкции за употреба (наръчник) на EZ1[®] DSP Virus Kit



48

Версия 5



За инвитро диагностика
За употреба с BioRobot[®] EZ1 DSP,
EZ1 Advanced и апарати EZ1 Advanced XL
За употреба с апарат EZ2[®] Connect MDx
(с версия на софтуера 1.1 или по-нова)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ГЕРМАНИЯ



1129846BG

Съдържание

Предвидена употреба	4
Потребители, за които е предназначен	4
Описание и принцип	5
Кратко изложение и обяснение	6
Предоставени материали	9
Съдържание на набора	9
Компоненти на набора	10
Необходими, но непредоставени материали	11
Предупреждения и предпазни мерки	13
Информация за безопасността	14
Предпазни мерки	15
Информация за спешни случаи.....	15
Изхвърляне	16
Съхранение и боравене с реактиви	17
Стабилност при употреба	18
Съхранение и работа с проби	19
Аликвотни части от плазма и серум.....	20
Аликвотни части от фекалии	21
Назофарингеален тампон, взет в универсална транспортна среда.....	22
Аликвотни части от гръбначно-мозъчна течност (ГМТ).....	22
Аликвотни части от грам-положителни бактерии.....	22
Обеми на елуиране и обработка на елуати.....	23
Съхранение на вирусни нуклеинови киселини/бактериална ДНК	23

Процедура	24
Работа с апаратите EZ2 Connect MDx	24
Работа с апаратите EZ1	31
Подготовка на носеща PHK (CARRIER)	38
Използване на вътрешна контрола (Internal Control, IC)	39
Протокол: Предварителна обработка на алиquotни части от фекалии	41
Протокол: Предварителна обработка за изолиране на геномна ДНК от грам-положителни бактерии	43
Протокол: Пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК чрез EZ2 Connect MDx	44
Протокол: Пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК с помощта на апаратите EZ1	55
Контрол на качеството	62
Ограничения	63
Работни характеристики	64
Ръководство за отстраняване на проблеми	65
Символи	68
Информация за контакт	72
Приложение А: Съобщения на екрана на апарати EZ1/EZ2	73
Приложение В: Изчисляване на количеството вътрешна контрола (Internal Control, IC)	93
Приложение С: Бланка с алиquotни части за употреба със система EZ1 DSP Virus	97
Информация за поръчка	99
Хронология на редакциите на документа	101

Предвидена употреба

EZ1 DSP Virus Kit използва технология с магнитни частици за автоматизирано изолиране и пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК от биологични проби.

EZ1 DSP Virus Kit е предназначен за инвитро диагностика.

Потребители, за които е предназначен

Продуктът е предвиден за употреба от професионални потребители – например лаборанти и лекари, обучени в техниките на молекулярната биология.

Описание и принцип

Технологията с магнитни частици съчетава скоростта и ефективността на пречистването на нуклеинови киселини на базата на силициев диоксид с удобството на работата с магнитни частици. Процедурата за пречистване е разработена, за да осигури безопасна и възпроизводима работа с потенциално инфекциозни аликвотни части. Процедурата за пречистване се състои от 4 стъпки: лизиране, свързване, промиване и елуиране (вижте разделите по-долу и диаграмата на страница 8). Предварителната обработка на аликвотната част е задължителна за аликвотните части от фекалии. Вижте протокола за предварителна обработка за съответния материал в аликвотната част.

Лизиране с протеиназа К

Протеолизирането на аликвотните части се извършва в силно денатуриращи условия при завишени температури. Лизирането се извършва в присъствието на протеиназа К и буфер за лизиране, които заедно осигуряват усвояването на протеините на вирусната обвивка и инактивирането на нуклеазите.

Свързване към магнитни частици

Свързващият буфер се добавя към лизираните аликвотни части, за да се регулират условията на свързване. Лизатите се смесват щателно с магнитни частици, за да се осигури оптимална адсорбция на вирусните нуклеинови киселини и бактериалната ДНК към повърхността на силициевия диоксид. Солеността и рН се регулират така, че протеин и други замърсители, които могат да инхибират PCR (полимеразна верижна реакция) и други ензимни реакции надолу по веригата, да не се свържат с магнитните частици.

Промиване на свързани нуклеинови киселини

Въпреки че вирусните нуклеинови киселини и бактериалната ДНК остават свързани към магнитните частици, замърсителите ефективно се отмиват по време на 3-те последователни стъпки на промиване, последвани от изплакване и изсушаване на въздух.

Елуиране на пречистени нуклеинови киселини

В една-единствена стъпка силно пречистените вирусни нуклеинови киселини и бактериалната ДНК се елуират в елуирац буфер (AVE). Пречистените нуклеинови киселини могат или да бъдат незабавно използвани в приложенията надолу по веригата, или да бъдат съхранени за бъдеща употреба.

Кратко изложение и обяснение

EZ1 DSP Virus Kit осигурява автоматизирана процедура за едновременното пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК от следните материали за аликвотни части с помощта на апарати EZ1 или EZ2 Connect MDx:

- Серум и плазма
- Гръбначно-мозъчна течност (ГМТ)
- Фекалии
- Назофарингеален тампон, взет в универсална транспортна среда

Наборът може да се използва за пречистване на нуклеинови киселини от най-различни ДНК и РНК вируси, както и на ДНК от бактерии. Работните характеристики на набора обаче не са гарантирани за всеки патогенен вид, извлечен от който и да е от материалите за аликвотни части, и трябва да се валидират от потребителя. Технологията с магнитни частици позволява пречистване на висококачествени нуклеинови киселини без протеини, нуклеази и други примеси. Пречистените нуклеинови киселини са готови за употреба за високочувствително откриване при последващи анализи, като например амплификация. Апаратите EZ1 (EZ1 Advanced, BioRobot EZ1 DSP и EZ1 Advanced XL) и EZ2 Connect MDx изпълняват наведнъж всички стъпки от процедурата за подготовка на аликвотните части за до 6 аликвотни части (с помощта на EZ1 Advanced или BioRobot EZ1 DSP; и двата са спрени от производство), за до 14 аликвотни части (с помощта на EZ1 Advanced XL) или за до 24 аликвотни част (с помощта на EZ2 Connect MDx).

Процедура EZ1 DSP Virus

Серум, плазма, ГМТ, фекалии и назофарингеален тампон,
взет в универсална транспортна среда



Лизиране с протеиназа К и
буфер за лизиране



Магнитни частици и свързващ
буфер, добавени към лизатите



Нуклеинови киселини се
свързват с магнитните
частици



Магнитно отделяне

Три стъпки на промиване,
последвани от изплакване и
изсушаване на въздух



Магнитно отделяне




Елуиране с елуиращ буфер
(AVE)



Пречистени висококачествени вирусни
нуклеинови киселини и/или бактериална ДНК

Предоставени материали

Съдържание на набора

EZ1 DSP Virus Kit			(48)
Каталожен №			62724
Брой подготовки			48
RCV	Reagent Cartridge, Virus 350 µL (Касета с реактиви, Virus 350 µl) [†]	REAG CART VIRUS	48
DTH	Disposable Tip Holders (Държачи за накрайници за еднократна употреба)	DISP TIP HOLD	50
DFT	Disposable Filter-Tips (Филтърни накрайници за еднократна употреба)	DISP FILT TIP	50
ST	Sample Tubes (2 mL), (Епруветки за аликвотни части (2 ml)), без периферия	SAMP TUBE	2 x 50
ET	Elution Tubes (Епруветки за елуиране) (1,5 ml)	ELU TUBE	2 x 50
CARRIER	Carrier RNA (Носеща РНК)	CAR RNA	310 µg
AVE	Elution Buffer (Буфер за елуиране) [†]	ELU BUF	3 x 2 ml
	Q-Card (Q-карта) [‡]		1
	Инструкции за употреба		1

* Съдържа гуанидинова сол. Не е съвместим с дезинфектанти, съдържащи белина. Вижте страница 14 относно Информация за безопасността.

[†] Съдържа натриев азид като консервант.

[‡] Информацията, кодирана в баркода на Q-картата, е необходима за проследяване на данните за реактивите чрез апаратите EZ1Advanced, EZ1 Advanced XL и EZ2 Connect MDx.

Компоненти на набора

По-долу са обяснени основните компоненти на набора, съдържащи активни съставки.

Таблица 1. Предоставени реактиви, съдържащи активни съставки

Реактив	Компоненти	Концентрация (w/w) [%]
RCV (Касета с вирусен реактив)	Етанол	≥70 до <90
	Изопропанол	≥70 до <90
	Гуанидин тиоцианат	≥30 до <50
	Гуанидин хидрохлорид	≥30 до <50
	Протеиназа К	≥1 до <10
	Литиев хлорид	≥1 до <10

Необходими, но непредоставени материали

При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация вижте съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheet, SDS), предоставяни от доставчика на продукта.

Всички протоколи

- Пипети* и стерилни накрайници за пипети без РНКаз
- Реакционни епруветки (само за конкретни видове аликвотни части)
- Мека хартиена кърпичка
- Вода
- 70% етанол (за процедури за почистване)
- **По избор:** Вортекс* (ако аликвотните части трябва да се смесят)
- **По избор:** микроцентрифуга* (ако магнитните частици трябва да се отстранят от елуатите)

За предварителна обработка на аликвотни части от фекалии

- Buffer ASL (каталожен № 19082)
- Вортекс
- Термомиксер* или 70°C водна баня*

За изолиране на геномна ДНК на грам-положителни бактерии

- Лизозим, Tris-HCl, EDTA, Triton X-100
- Термомиксер* или 37°C водна баня*
- Центрифуга (способна да стартира 5000 x g)

* Апаратите задължително трябва да се проверяват, поддържат и калибрират съгласно препоръките на производителя.

За потребители на BioRobot EZ1

- Апарат BioRobot EZ1 DSP* (спрян от производство)
- EZ1 DSP Virus Card (каталожен № 9017707)

За потребители на EZ1 Advanced

- Апарат EZ1 Advanced* (спрян от производство)
- EZ1 Advanced DSP Virus Card (каталожен № 9018306)

За потребители на EZ1 Advanced XL

- EZ1 Advanced XL instrument* (каталожен № 9001492)
- EZ1 Advanced XL DSP Virus Card (каталожен № 9018703)

За потребители на EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL

- За проследяване на аликвотните части е необходимо едно от следните:
 - Компютър (включително монитор) с комуникационен софтуер за EZ1 Advanced (софтуер, доставен с апаратите EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL)
 - Настройки
 - За повече подробности вижте съответния наръчник на апарата

За потребители на EZ2 Connect MDx

- EZ2 Connect MDx instrument* (каталожен № 9003230)

* Апаратите задължително трябва да се проверяват, поддържат и калибрират съгласно препоръките на производителя

* Апаратите задължително трябва да се проверяват, поддържат и калибрират съгласно препоръките на производителя.

Предупреждения и предпазни мерки

Имайте предвид, че може да е необходимо да направите справка с местните разпоредби относно докладване на сериозни инциденти, възникнали във връзка с изделието, на производителя и/или на оторизиран негов представител, и на регулаторния орган в страната по местожителство на потребителя и/или пациента.

За инвитро диагностика.

Преди използване на набора внимателно прочетете всички инструкции.

Моля, вземете предвид следните рискове:

- При употреба на вторични епруветки (епруветки за аликвотни части, „ST“) се уверете, че идентификаторите на аликвотните части не са били объркани по време на прехвърлянето на идентификатора на аликвотната част от първична към вторична епруветка.
- Идентификаторите на аликвотните части могат да бъдат въведени и ръчно (за подробности вижте ръководствата за потребителя на апаратите EZ1 или EZ2). Ако ръчно въведените идентификационни данни са грешни, може да възникне грешна корелация между аликвотната част и пациента.

Информация за безопасността

При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. Повече информация ще намерите в съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheet, SDS). Те са достъпни онлайн в PDF формат на www.qiagen.com/safety, където можете да намерите, прегледате и отпечатате информационния лист за безопасност (Safety Data Sheet, SDS) за всеки набор QIAGEN® и неговите компоненти.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ Опасност от телесни повреди



НЕ наливайте белина или киселинни разтвори направо в отпадъците от подготовката на аликвотните части.

- Някои буфери в касетите с реактиви (RCV) съдържат гуанидин хидрохлорид или гуанидин изотиоцианат, които могат да образуват силно реактивни съединения с белината.
- Ако се разлее течност, съдържаща такива буфери, я почистете с подходящ лабораторен детергент и вода. Ако върху апаратите EZ1/EZ2 бъде разлята течност, съдържаща потенциално инфекциозни агенти, дезинфекцирайте апарата, като използвате реактивите, описани в ръководството за потребителя, предоставено с апарата EZ1/EZ2.
- Със счупените или протеклите касети с реактиви (RCV) трябва да се борава и да се изхвърлят съгласно местните разпоредби за безопасност. Не използвайте повредени касети с реактиви (RCV) или други увредени компоненти на набора, тъй като тяхната употреба може да влоши неговите работни характеристики, да доведе до нараняване на потребителя или до повреда на апарата.
- QIAGEN не е провеждал изпитване за наличие на остатъчни инфекциозни материали в отпадъчните течности, получени от процедурата EZ1 DSP Virus. Замърсяване на течните отпадъци с остатъчни инфекциозни материали е малко вероятно, но не е изключено. Затова остатъчните течни отпадъци трябва да се считат за инфекциозни и с тях трябва да се борава и да се изхвърлят съгласно местните разпоредби за безопасност.
- Пробите и аликвотните части са потенциално заразни. Изхвърлете аликвотната част и отпадъка от анализа в съответствие с местните процедури за безопасност.

Предпазни мерки

Следните предупреждения за опасност и мерки за безопасност се отнасят за компонентите на набора EZ1 DSP Virus Kit:

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



Съдържа: етанол, гуанидин хидрохлорид, гуанидин тиоцианат, изопропанол, литиев хлорид и протеиназа К. Опасно за живота! Силно запалими течност и пари. Вреден при поглъщане или вдишване. Може да бъде вреден при контакт с кожата. Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите. При вдишване може да предизвика алергия, симптоми на астма или затруднено дишане. Може да предизвика дразнене на дихателните пътища. Може да предизвика сънливост или световъртеж. Вреден за водните организми, с дълготраен ефект. При контакт с киселини отделя силно токсичен газ. Да се държи далеч от топлина/искри/открит пламък/горещи повърхности. Пушенето забранено. Избягвайте вдишване на прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли. Да се използват предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. Носете дихателна защита. ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването. ПРИ явна или предполагаема експозиция: Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар. Изведете пострадалия на чист въздух и го поддържайте в удобно положение, за да може да диша. Изперете замърсеното облекло преди повторна употреба. Да се съхранява на проветриво място. Депонирайте съдържанието/съда в одобрено съоръжение за депониране на отпадъци.

Информация за спешни случаи

CHEMTREC

САЩ и Канада 1-800-424-9300

Извън САЩ и Канада +1 703-527-3887

Изхвърляне

Отпадъците съдържат аликвотни части и реактиви. Тези отпадъци може да съдържат токсичен или инфекциозен материал и трябва да се изхвърлят по подходящ начин.

Изхвърлете ги като опасен отпадък в съответствие с местните и националните разпоредби. Това се отнася и за неизползваните продукти.

Не изхвърляйте течните отпадъци в канализацията.

Следвайте препоръките в информационния лист за безопасност (Safety Data Sheet, SDS).

Вижте местните разпоредби за безопасност относно правилните процедури за изхвърляне. Вижте също „Предупреждения и предпазни мерки“ от страница 13 нататък.




Повече информация ще намерите в съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheet, SDS). Те са достъпни онлайн в PDF формат на www.qiagen.com/safety, където можете да намерите, прегледате и отпечатате информационния лист за безопасност (Safety Data Sheet, SDS) за всеки набор QIAGEN и неговите компоненти.

Съхранение и боравене с реактиви

Съхранявайте касетите с реактиви (RCV) в изправено положение при стайна температура (15–25°C). Магнитните частици в касетите с реактиви (RCV) остават активни, когато се съхраняват при такава температура. Не замразявайте касетите с реактиви (RCV). Когато се съхраняват правилно, касетите с реактиви (RCV) остават стабилни до датата на изтичане на срока на годност, посочена върху Q-картата, кутията на набора и баркода върху RCV.

Когато се съхранява при стайна температура, лиофилизираната носеща РНК (CARRIER) остава стабилна до датата на изтичане на срока на годност, посочена върху кутията на набора.

По време на съхранението при стайна температура в буфера за предварителна обработка Buffer ASL може да се образуват утайки. Инкубирайте бутилката при 50–56°C за 15–20 минути и я разклатете ръчно два пъти в рамките на този инкубационен период.



-  Не използвайте EZ1 DSP Virus Kit или Buffer ASL след изтичане на срока на годност. Излагането на RCV или Buffer ASL на ултравиолетова светлина (например за деконтаминация) трябва да се избягва, защото може да ускори стареенето на буферите.
-  Не използвайте касетите с реактиви (RCV), ако са повредени или предварително отворени.
-  Не отстранявайте фолиото от касетите с реактиви. Апаратът автоматично ще го пробие.

Стабилност при употреба

Касетите с реактиви (RCV) са само за еднократна употреба и не осигуряват стабилност при употреба.

Приготвеният изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER) има концентрация от 1 ng/μl и остава стабилен до 4 седмици, ако се съхранява при 2–8°C.

Ако се затвори повторно и се съхранява при стайна температура (15–25°C), буферът за предварителна обработка Buffer ASL остава стабилен до 6 месеца след първото отваряне/използване на бутилката.

-  Препоръчително е да отбележите датата на първото отваряне/използване на бутилката с буфер Buffer ASL върху самата бутилка, за да сте сигурни, че не надвишавате стабилността при употреба.
-  Ако оставащият срок на годност на набора е по-малък от 6 месеца, буферът Buffer ASL не може да се използва след изтичане на срока на годност.

Съхранение и работа с проби

По време на процедурата за предварителна обработка и последващите подготовки с аликвотните части трябва да се борава по подходящ начин, за да се избегне объркване на аликвотните части.

Процедурата за пречистване е оптимизирана за използване с обем на аликвотните части от 100, 200 или 400 μl .

- ❗ Не използвайте по-малки или по-големи обеми на аликвотните части, различни от 100, 200 или 400 μl , тъй като това може да доведе до проблем с работните характеристики или да повреди апарата.

Стабилността на аликвотните части силно зависи от различни фактори и е свързана с конкретното приложение надолу по веригата. Тя е установена за EZ1 DSP Virus Kit във връзка с примерни приложения надолу по веригата. Отговорност на потребителя е да се консултира с инструкциите за употреба на конкретното приложение надолу по веригата, използвано в неговата лаборатория, и/или да валидира целия работен процес, за да установи подходящи условия на съхранение.

- ❗ За общи препоръки за вземане, транспортиране и съхранение вижте одобреното ръководство на CLSI MM13-A „Вземане, транспортиране, подготовка и съхранение на проби за молекулярни методи“. Освен това по време на подготовката, съхранението, транспортирането и общата работа с аликвотните части трябва да се спазват инструкциите на производителя на използваното устройство/набор за вземане на аликвотни части.

Аликвотни части от плазма и серум

За вземане на кръв следвайте инструкциите на производителя на съответните използвани епруветки за вземане на кръв (Blood Collection Tube, BCT). По-конкретно трябва да се вземат предвид инструкциите за правилното позициониране на BCT по време на вземането на кръв, необходимия обем за запълване и инструкциите за внимателното смесване и обръщане на BCT след вземането на кръв.

Забележка: Грешното и/или недостатъчното смесване на кръвните аликвотни части може да бъде една от най-важните променливи преди провеждане на изследването. Ако добавките в епруветките за вземане на кръв не бъдат смесени с аликвотната част до получаване на хомогенен разтвор, качеството на вирусната нуклеинова киселина може да бъде компрометирано, което може да повлияе на валидността и надеждността на резултатите от изследването.

За приготвяне на плазма може да се използват кръвни аликвотни части, обработени с EDTA или цитрат като антикоагулант. Аликвотните части от плазма и серум могат да бъдат пресни или замразени, при условие че не са били замразявани повторно след размразяване.

За изследване на вирусна нуклеинова киселина се препоръчва да стартирате подготовката на плазмата от кръвните аликвотни части чрез центрофугиране веднага след прехвърлянето (максимум 2 часа при стайна температура). В случай на забавяне епруветките за вземане на кръв с EDTA и цитрат могат да се съхраняват при 4°C до 6 часа преди времето за центрофугиране и подготовка на плазмата. Аликвотните части от серум трябва да се съхраняват при температура на околната среда до 2 часа преди центрофугиране. Условиата и продължителността на съхранение трябва се документират.

След подготовка на плазмата и серума за по-дълго съхранение се препоръчва пробите да се съхраняват на аликвоти при -20°C до -80°C . Размразете замразените аликвоти от пробите при 25°C за 30–90 минути. Обърнете епруветките с аликвотни части поне 10 пъти и обработете аликвотните части незабавно след като се темперират до стайна температура. Не замразявайте повторно аликвотите след размразяване. Неколкократното замразяване и размразяване води до денатуриране и утаяване на протеини със съответно намаляване на вирусните и бактериалните титри и получените количества вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК. Ако в аликвотните части се виждат криоутайки, центрофугирайте при $6800 \times g$ за 3 минути ± 30 секунди, прехвърлете супернатантите в нови епруветки, без да нарушавате пелетите, и веднага започнете процедурата за пречистване. Тази стъпка няма да намали вирусните титри, но бактериалните титри може да бъдат засегнати.

Аликвотни части от фекалии

След вземане аликвотните части от фекалии трябва да се съхраняват и транспортират при $2-8^{\circ}\text{C}$. Препоръчителният обем на аликвотна част за екстракция на вирусни или бактериални нуклеинови киселини от фекалии е $200 \mu\text{l}$. Преди екстракция на аппарата EZ1 или EZ2 е необходимо да се извърши предварителна обработка (вижте страница 41 за „Протокол: Предварителна обработка на аликвотни части от фекалии“).

За общи препоръки за вземане, транспортиране и съхранение вижте одобреното ръководство на CLSI MM13-A „Вземане, транспортиране, подготовка и съхранение на проби за молекулярни методи“.

Назофарингеален тампон, взет в универсална транспортна среда

Назофарингеалните тампони, взети в универсална транспортна среда, могат да се транспортират при стайна температура.

За общи препоръки за вземане, транспортиране и съхранение вижте одобреното ръководство на CLSI MM13-A „Вземане, транспортиране, подготовка и съхранение на проби за молекулярни методи“.

Аликвотни части от гръбначно-мозъчна течност (ГМТ)

За ДНК изследвания аликвотните части от ГМТ трябва да се транспортират при 2–8°C. За РНК изследвания аликвотните части от ГМТ трябва да се транспортират замразени в сух лед.

За общи препоръки за вземане, транспортиране и съхранение вижте одобреното ръководство на CLSI MM13-A „Вземане, транспортиране, подготовка и съхранение на проби за молекулярни методи“.

Аликвотни части от грам-положителни бактерии

За ДНК екстракция на трудни за лизиране грам-положителни бактерии може да се извърши допълнителна стъпка на предварително лизиране, включваща усвояване с лизозим, преди екстракцията на апарата EZ1 или EZ2 Connect MDx (вижте страница 43, „Протокол: Предварителна обработка за изолиране на геномна ДНК от грам-положителни бактерии“).

Обеми на елуиране и обработка на елуати

Последната стъпка от процедурата за пречистване е елуиране на вирусните нуклеинови киселини и бактериалната ДНК в краен обем от 60, 90, 120 или 150 µl.

Ако материалът в аликвотната част е фекалии, се препоръчва да използвате обем на елуиране от 120–150 µl.

Ако елуатите, получени от фекалиите, са мътни, центрофугирайте на пълни обороти (20 000 x g) за 3 минути, за да ги избистрите. Тази обработка ще подобри работните характеристики на мътните елуати в приложенията надолу по веригата.

Съхранение на вирусни нуклеинови киселини/бактериална ДНК

За краткосрочно съхранение до 24 часа е препоръчително пречистените вирусни нуклеинови киселини или бактериална ДНК да се съхраняват при 2–8°C. За дългосрочно съхранение над 24 часа е препоръчително да се съхраняват при -80°C до 12 месеца или при -20°C до 12 седмици. Стабилността на нуклеиновите киселини може да е различна за конкретното приложение надолу по веригата, което се използва, и трябва да бъде самоутвърдена от потребителя.

Стабилността на елуатите силно зависи от различни фактори и е свързана с конкретното приложение надолу по веригата. Тя е установена за EZ1 DSP DNA Virus Kit във връзка с примерни приложения надолу по веригата. Отговорност на потребителя е да се консултира с инструкциите за употреба на конкретното приложение надолу по веригата, използвано в неговата лаборатория, и/или да валидира целия работен процес, за да установи подходящи условия на съхранение.

Процедура

EZ1 DSP Virus Kit може да се използва на различни видове апарати:

- EZ2 Connect MDx
- EZ1 Advanced XL и EZ1 Advanced (спрени от производство)
- BioRobot EZ1 DSP (спрян от производство)

Работа с апаратите EZ2 Connect MDx

Основните характеристики на апаратите EZ2 Connect MDx включват:

- Автоматизирано пречистване на висококачествени нуклеинови киселини от 1 до 24 аликвотни части на цикъл
- Предварително инсталирани и готови за употреба протоколи
- Предварително напълнени, запечатани касети с реактиви за лесна, безопасна и бърза настройка
- Външен баркод четец, който се използва за прочитане на идентификаторите на аликвотните части и на наборите (Q-карта)
- Графичен потребителски интерфейс (ГПИ)
- Вътрешна камера, която се използва за автоматизирани проверки на зареждането и за прочитане на баркода на касетите с реактиви
- УВ лампа, която подпомага обеззаразяването на повърхностите на работната маса

Допълнителните характеристики на EZ2 Connect MDx включват:

- Свързаност между система за управление на лабораторна информация (Laboratory Information Management System, LIMS) и QIASphere (LAN или WiFi чрез USB портове)
- Разширено управление на потребителите

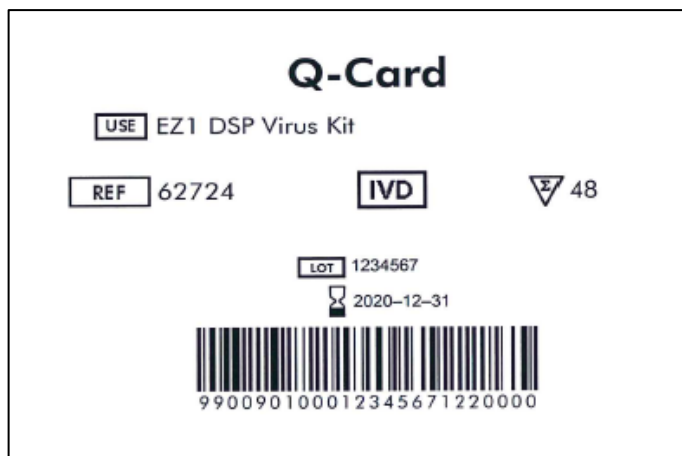
i UV обеззаразяването помага да се намали възможното замърсяване на повърхностите на работната маса на EZ2 Connect MDx с патогени. Ефикасността на инактивирането трябва да се определя за всеки конкретен организъм и зависи например от дебелината на слоя и типа на аликвотните части. QIAGEN не може да гарантира пълно унищожаване на конкретни патогени.

Операционна процедура EZ2 Connect MDx

Преди да продължите, ви препоръчваме да се запознаете с характеристиките на апарата, както са описани в *Ръководството за потребителя на EZ2 Connect MDx* (което може да бъде намерено в раздела „Resources“ (Ресурси) на страницата с продукти на www.qiagen.com).

i По време на работа на апарата капакът на EZ2 Connect MDx автоматично ще се заключи и трябва да остане затворен. Отваряйте капака само когато бъдете инструктирани за това от инструкциите за употреба. Работната маса на апарата EZ2 Connect MDx се движи по време на работа на апарата. Никога не отваряйте капака на EZ2 Connect MDx, докато апаратът работи.

За да настроите протоколен цикъл, затворете капака и включете апарата. За MDx приложения изберете режим IVD при влизане в системата. Натиснете раздела **Setup** (Настройка) на началния екран и сканирайте 1D баркода на Q-картата, предоставена с набора EZ1 DSP Virus Kit (фигура 1), като натиснете бутона **Scan** (Сканиране). Специалните протоколи автоматично се показват след сканиране на Q-картата.



Фигура 1. Пример за Q-карта.

Софтуерът на EZ2 Connect MDx ще ви преведе през процеса на настройка.

Касети с реактиви (RCV)

Реактивите за пречистване на нуклеинови киселини от една-единствена аликвотна част се съдържат в една касета с реактиви (RCV) (фигура 2). Повечето ямки на касетата (RCV) съдържат определен реактив – например магнитни частици, буфер за лизиране, буфер за промиване или буфер за елуиране, без РНКаза (AVE). Тъй като всяка ямка съдържа само необходимото количество реактив, изхвърлянето на отпадъци от остатъчни реактиви в края на процедурата за пречистване се избягва.

Касетите с реактиви (RCV), доставени с набора EZ1 DSP Virus Kit, са предварително напълнени с всички необходими реактиви за пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК, с изключение на носеща РНК (CARRIER). Носещата РНК (CARRIER) и вътрешните контроли (Internal Controls, IC) (по избор) се добавят в епруветка извън касетата с реактиви (RCV).



Фигура 2. Касети с реактиви (RCV). Запечатана, предварително напълнена касета с реактиви (RCV) от набора EZ1 DSP Virus Kit.

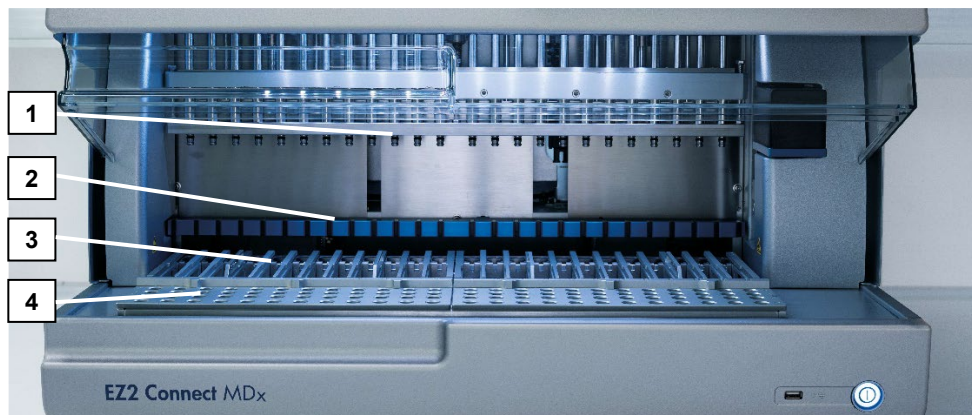


Фигура 3. Статив за касети с реактиви. Самият статив за касети е обозначен със стрелка, която указва посоката, в която трябва да се заредят касетите с реактиви (RCV).

Работна маса

Работната маса на апаратите EZ2 Connect MDx е мястото, където потребителят зарежда аликвотните части и компонентите на набора EZ1 DSP Virus Kit (фигура 4 и фигура 5).

Подробности за подготовката на работната маса ще намерите на сензорния екран на ГПИ.



Фигура 4. Общ преглед на апарата EZ2 Connect MDx. (1) Глава на пипетора, (2) магнитен модул, (3) статив за касети и (4) статив за накрайници (държач за лабораторно оборудване).



Фигура 5. Работна маса на апарата EZ2 Connect MDx. (1) Нагревателен блок с епруветки (ST) от 2 ml, заредени в касетите с реактиви (RCV) за лизиране. (2) Епруветки за аликвотни части (ST) (2 ml), заредени на ред А. (3) Епруветка (ET) (1,5 ml), съдържаща носеща РНК (CARRIER) и вътрешна контрола (Internal Control, IC) (ако се използва) в елуиращ буфер (AVE), заредена на ред В. (4) Държачи за накрайници за еднократна употреба (DTH), съдържащи филтърни накрайници за еднократна употреба (DFT), заредени на ред С. (5) Епруветки за елуиране (ET) (1,5 ml), заредени на ред D.

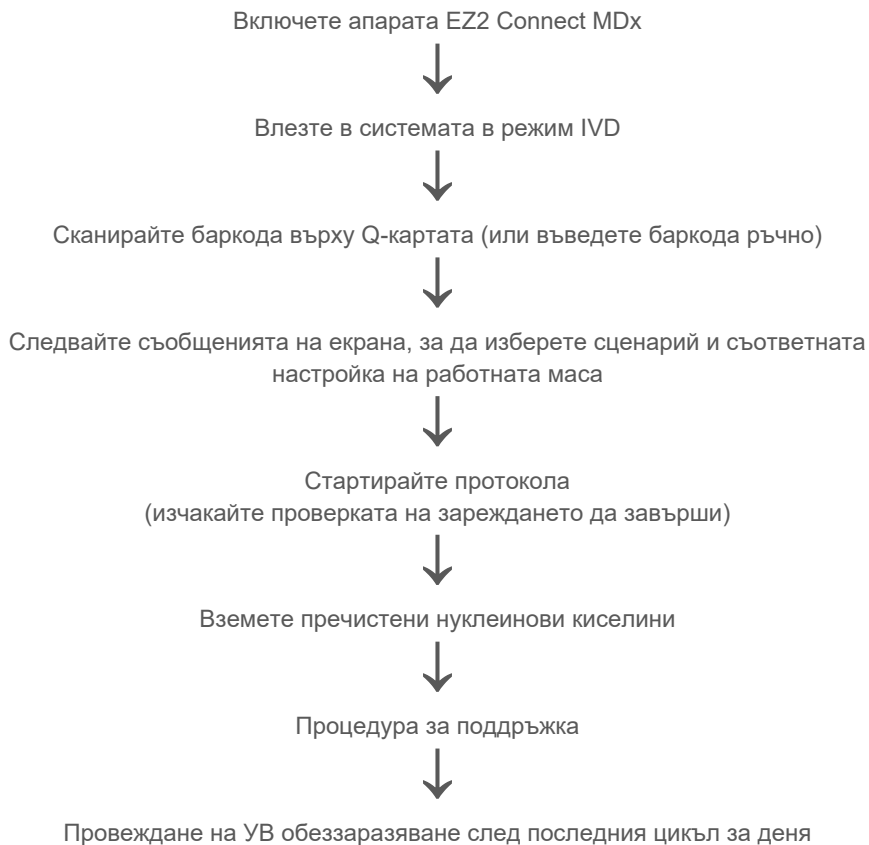
Проследяване на данни с EZ2 Connect MDx

EZ2 Connect MDx осигурява пълно проследяване на различни данни за повишен контрол и надеждност на процеса. Потребителският идентификатор се проследява при влизане в софтуера. Партидният номер и срокът на годност на EZ1 DSP Virus Kit се въвеждат в началото на протокола с помощта на баркода върху Q-картата или се въвеждат ръчно посредством сензорния екран. Информацията за алиquotните части и настройките за цикъла се въвеждат по време на настройката на протокола. В края на протоколния цикъл може да се генерира файл с отчет. Отчетите за цикъла могат да бъдат изтеглени на USB памет (винаги и в двата файлови формата „.pdf“ и „.xml“) от раздела „Data“ (Данни) на ГПИ.

Ако за апарата EZ2 Connect MDx е установена WiFi/LAN връзка, информацията за цикъла и алиquotните части може директно да бъде обработена чрез LIMS (ако е конфигурирана).

За повече информация относно настройката на апарата EZ2 Connect MDx вижте *Ръководството за потребителя на EZ2 Connect MDx* (което може да бъде намерено в раздела „Resources“ (Ресурси) на страницата с продукти на www.qiagen.com).

Работен процес на операция EZ1 DSP Virus на EZ2 Connect MDx




Работа с апаратите EZ1

Основните характеристики на апаратите EZ1 включват:

- Пречистване на висококачествени нуклеинови киселини от 1 до 6 (BioRobot EZ1 DSP и EZ1 Advanced) или 1 до 14 (EZ Advanced XL) аликвотни части на цикъл
- Малък уред, който спестява пространство в лабораторията
- Предварително програмирани карти EZ1 DSP Card, съдържащи готови за употреба протоколи
- Предварително напълнени, запечатани касети с реактиви за лесна, безопасна и бърза настройка
- Напълно автоматизирано пречистване на нуклеинови киселини

Допълнителните характеристики на EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL включват:

- Разчитане на баркодове и проследяване на аликвотни части
- Проследяване на данните от набора с Q-картата, предоставена в набора
- УВ лампа, която подпомага обеззаразяването на повърхностите на работната маса

 УВ обеззаразяването помага да се намали възможното замърсяване на работните маси на EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL с патогени. Ефикасността на инактивирането трябва да се определя за всеки конкретен организъм и зависи например от дебелината на слоя и типа на аликвотните части. QIAGEN не може да гарантира пълно унищожаване на конкретни патогени.

Кarti EZ1 DSP Card, EZ1 Advanced DSP Card и EZ1 Advanced XL DSP Card

Протоколът EZ1 DSP Virus за пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК се съхранява на предварително програмирани карти EZ1 Card (карти с интегрални схеми). Потребителят просто трябва да постави карта EZ1 Advanced XL DSP Card в апарата EZ1 Advanced XL, карта EZ1 Advanced DSP Card в апарата EZ1 Advanced или карта EZ1 DSP Card* в апарата BioRobot EZ1 DSP и след това апаратът вече ще може да изпълни протокол (фигура 6 и фигура 7).



Фигура 6. Лесна настройка на протокол чрез карти EZ1 DSP Card. Поставяне на предварително програмирана с протокола карта EZ1 Card в апарата EZ1.

- ⓘ Апаратът трябва да се включва само след поставяне на карта EZ1 Card и картата EZ1 Card трябва да е поставена докрай! В противен случай важни данни в апарата ще бъдат загубени, което ще доведе до грешка в паметта. Картите EZ1 Card не трябва да бъдат сменяни, докато апаратът е включен.



Фигура 7. Карта, която е поставена докрай в слота за карти EZ1 Card.

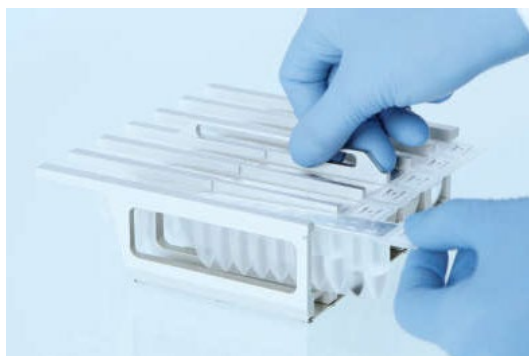
Касети с реактиви (RCV)

Реактивите за пречистване на нуклеинови киселини от една-единствена аликутна част се съдържат в една касета с реактиви (RCV) (фигура 8 и фигура 9). Повечето ямки на касетата (RCV) съдържат определен реактив – например магнитни частици, буфер за лизиране, буфер за промиване или буфер за елуиране, без РНКаза (AVE). Тъй като всяка ямка съдържа само необходимото количество реактив, изхвърлянето на отпадъци от остатъчни реактиви в края на процедурата за пречистване се избягва.

Касетите с реактиви (RCV), доставени с набора EZ1 DSP Virus Kit, са предварително напълнени с всички необходими реактиви за пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК, с изключение на носеща РНК (CARRIER). Носещата РНК (CARRIER) и вътрешните контроли (Internal Controls, IC) (по избор) се добавят в епруветка извън касетата с реактиви (RCV).



Фигура 8. Касети с реактиви (RCV). Запечатана, предварително напълнена RCV от набора EZ1 DSP Virus Kit.

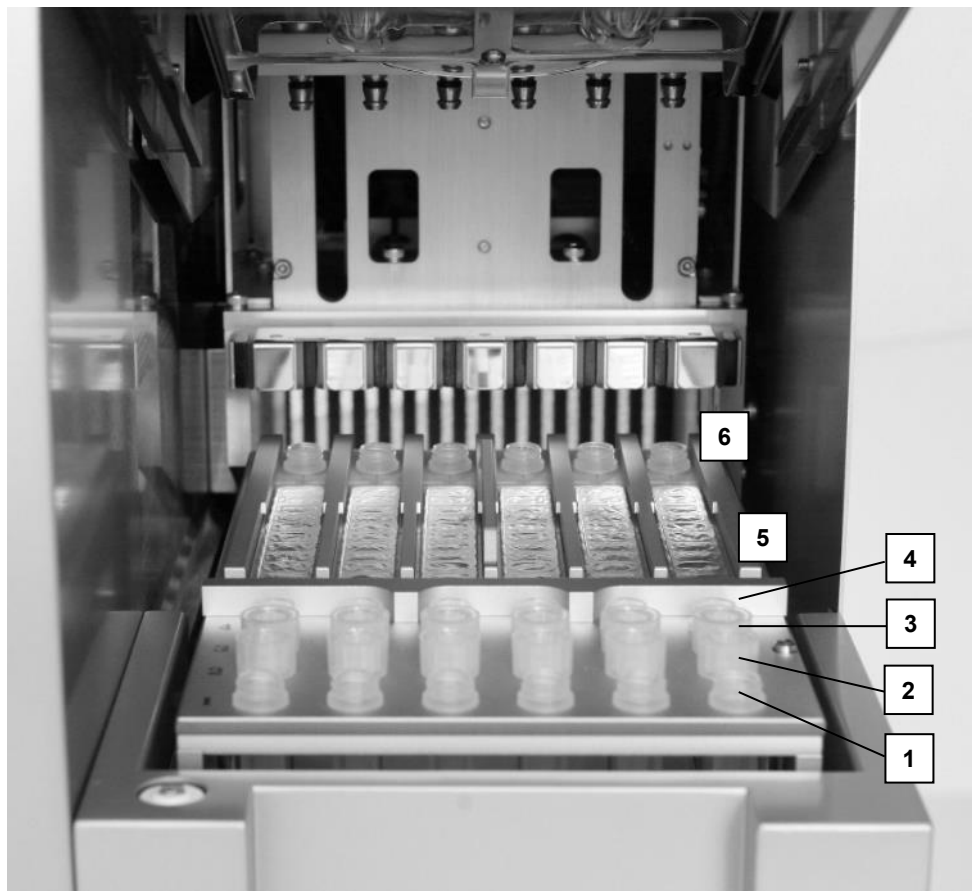


Фигура 9. Зареждане на статива за касети с реактиви. Самият статив за касети е обозначен със стрелка, която указва посоката, в която трябва да се зарядят касетите с реактиви (RCV).

Работна маса

Работната маса на апаратите EZ1 е мястото, където потребителят зарежда аликвотните части и компонентите на набора EZ1 DSP Virus Kit (фигура 10).

Подробности за подготовката на работната маса се показват на вакуумния флуоресцентен дисплей (Vacuum Fluorescent Display, VFD) на EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL или на течнокристалния дисплей (Liquid-Crystal Display, LCD) на контролния панел на BioRobot EZ1 DSP, когато потребителят стартира настройката на работната маса.



Фигура 10. Работна маса на апарат EZ1. (1) Епруветки за елуиране (ЕТ) (1,5 ml), заредени на ред 1. (2) Държачи за накрайници за еднократна употреба (DTH), съдържащи филтърни накрайници за еднократна употреба (DFT), заредени на ред 2. (4) Епруветка (ЕТ) (1,5 ml), съдържаща носеща РНК (CARRIER) и вътрешна контрола (Internal Control, IC) (ако се използва) в елуиращ буфер (AVE), заредена на ред 3. (4) Епруветки за аликвотни части (ST) (2 ml), заредени на ред 4. (5) Касети с реактиви (RCV), заредени в статива за касети. (6) Нагревателен блок с епруветки от 2 ml (ST) в касетите с реактиви за лизиране.

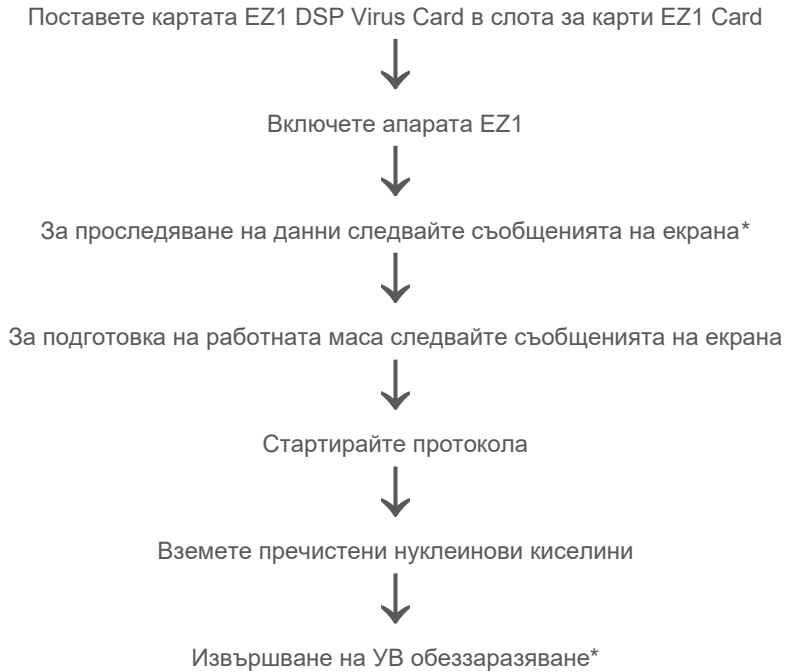
Проследяване на данни с EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL осигуряват проследяване на различни данни за повишен контрол и надеждност на процеса. Партидният номер и срокът на годност на набора EZ1 Kit се въвеждат в началото на протокола с помощта на баркода върху Q-картата. Потребителският идентификатор и баркодът върху Q-картата могат да бъдат въведени ръчно с клавиатурата или чрез сканиране на баркодовете с помощта на ръчния баркод четец. Информацията за алиquotните части и анализите, както и бележки, също могат да бъдат въведени по избор в началото на протокола. В края на всеки протоколен цикъл автоматично се генерира файл с отчет. EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL могат да съхраняват до 10 файла с резултати, а данните могат да бъдат прехвърлени на компютър или директно отпечатани на принтер.

- ⓘ За проследяване на данни винаги започвайте зареждането на алиquotните части от позиция A на EZ1 Advanced и позиция 1 на EZ1 Advanced XL. Поставете останалите алиquotни части последователно в следващите свободни позиции на работната маса.

За повече информация относно проследяването на данни вижте съответното ръководство за потребителя, което можете да намерите в раздела „Resources“ (Ресурси) на страницата с продукти на www.qiagen.com.

Работен процес на операция EZ1 DSP Virus на EZ1



* Само за EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL.

Подготовка на носеща РНК (CARRIER)

Носещата РНК (CARRIER) изпълнява две функции по време на процедурата за пречистване. Първо, тя подобрява свързването на вирусните нуклеинови киселини и бактериалната ДНК към повърхността от силициев диоксид на магнитните частици, особено ако алиquotната част съдържа много малко молекули от прицелната нуклеинова киселина. Второ, добавянето на големи количества носеща РНК (CARRIER) намалява шанса от разпадане на вирусната РНК в редкия случай, когато РНКазите не са денатурирани от хаотропните соли и детергента в лизирания буфер. Ако носещата РНК не се прибави към реакцията, това може да доведе до намалено извличане на вирусна РНК или ДНК.

Лиофилизираната носеща РНК (CARRIER), предоставена с набора, е достатъчна за подготовката на 48 алиquotни части. Концентрацията на носещата РНК (CARRIER), използвана в процедурата за пречистване, позволява наборът EZ1 DSP Virus Kit да се използва като генерична система за пречистване, която е съвместима с множество различни системи за амплификация и е подходяща за пречистване на нуклеинови киселини от най-различни бактерии и ДНК и РНК вируси. Въпреки това ефективността на различните системи за амплификация може да зависи от общото количество нуклеинови киселини, присъстващо в реакцията. Елуатите, получени с помощта на EZ1 DSP Virus Kit, съдържат вирусни и бактериални нуклеинови киселини и носеща РНК (CARRIER), като количеството носеща РНК (CARRIER) във всеки елуат значително надвишава количеството вирусни и бактериални нуклеинови киселини. За да се постигнат възможно най-високи нива на чувствителност при реакциите за амплификация, може да е необходимо да се коригира прибавеното количество носеща РНК, добавено в реакцията.

Разтворете напълно лиофилизираната носеща РНК (CARRIER) в 310 µl елуиращ буфер (AVE), разделете я на подходящи алиquotни части и съхранявайте при 2–8°C. Пригответият изходен разтвор от CARRIER има концентрация от 1 ng/µl и остава стабилен до 4 седмици.

За всяка обработена аликвотна част се разрежда 3,6 µl изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER) в общ обем от 60 µl с помощта на елуиращ буфер (AVE) (и/или разтвор на вътрешна контрола). Апаратът EZ1/EZ2 прехвърля 50 µl обем от този разтвор от носеща РНК-елуиращ буфер (CARRIER-AVE) към сместа за лизиране, съответстваща на 3 µg носеща РНК (CARRIER).

Ако искате да използвате вътрешна контрола (Internal Control, IC), вижте „Използване на вътрешна контрола (Internal Control, IC)“ по-долу.

Забележка: Процедурата за пречистване е оптимизирана така, че да се добавят 3 µg носеща РНК (CARRIER) на аликвотна част. Ако е установено, че за конкретна система за амплификация е по-добре да се използва различно количество носеща РНК (CARRIER), променете обема на изходния разтвор на носещата РНК (CARRIER), смесен с елуиращ буфер (AVE), или използвайте различна концентрация на изходния разтвор. Общият обем на разтвора от носеща РНК-елуиращ буфер (CARRIER-AVE) на аликвотна част трябва да бъде 60 µl, от които 50 µl се прехвърлят в сместа за лизиране. Употребата на различни количества носеща РНК (CARRIER) трябва да се валидира за всеки конкретен вид аликвотна част и по-нататъшен анализ.

Използване на вътрешна контрола (Internal Control, IC)

Използването на набора EZ1 DSP Virus Kit в комбинация с предлагани в свободна продажба системи за амплификация може да изисква въвеждане на вътрешна контрола (Internal Control, IC) в процедурата за пречистване, за да се следи ефективността на подготовката на аликвотните части.

Вътрешната контрола с РНК или ДНК трябва да се комбинира с изходния разтвор на носещата РНК (CARRIER) (3,6 µl) в една смес. За всяка аликвотна част сместа от носеща РНК и вътрешна контрола (CARRIER–вътрешна контрола) трябва да има обем от 60 µl, от които 50 µl ще бъдат прехвърлени в сместа за лизиране. Това количество съответства на 3 µl изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER) плюс 47 µl елуиращ буфер (AVE) и/или разтвор на вътрешна контрола.

- i** Не добавяйте вътрешната контрола (Internal Control, IC) директно към аликвотната част. Използвайте IC само в комбинация с разтвора CARRIER в една смес.

Вижте инструкциите на производителя, за да определите оптималното количество вътрешна контрола (Internal Control, IC) за конкретни приложения надолу по веригата. Използването на различно от препоръчителното количество може да намали ефикасността на амплификацията. За да определите количеството вътрешна контрола (Internal Control, IC), необходимо за протокола EZ1 DSP Virus, трябва да вземете предвид обема на елуата. Вижте „Изчисляване на количеството вътрешна контрола“ на страница 93 за подробни инструкции относно това как да изчислите правилния обем на вътрешната контрола (Internal Control, IC).

В EZ1 DSP Virus Kit не са предоставени вътрешни контроли (Internal Control, IC).


Протокол: Предварителна обработка на алиquotни части от фекалии

Този протокол е предназначен за предварителна обработка на алиquotни части от твърди и течни фекалии преди пречистване на нуклеиновите киселини (страница 44 за апарати EZ2 Connect MDx и страница 55 за апарати EZ1).


Процедура




1. Ресуспендирайте 100 mg алиquotни части от твърди или течни фекалии в 900 µl Buffer ASL.

Buffer ASL трябва да се поръча отделно, вижте Информация за поръчка на страница 99.

 Ако се използват по-малко или повече алиquotни части от фекалии, количеството Buffer ASL трябва да се коригира така, че да се поддържа съотношение на разреждане 1:10 (w/v). Използването на 30 mg фекалии е минималното изискване за получаване на поне 200 µl обем на алиquotната част след предварителна обработка за екстракция с апарата EZ1/EZ2.

2. Разбъркайте енергично алиquotната част с вортекс за 1–2 мин или докато суспензията не се превърне в хомогенен разтвор.

 Ако работите с много твърди фекалии, може да се наложи процедурата за ресуспендиране да бъде удължена или да се опитате да разбиеете алиquotната част, като пипетирате нагоре-надолу. За по-лесно пипетиране може да се наложи да отрежете върха на крайника на пипетата. Възможно е някои частици да са неразтворими и ще бъдат отстранени по време на следващата стъпка.

3. Инкубирайте аликвотната част за 10 минути при стайна температура върху плата, за да могат големите частици във фекалиите да се утаят.
4. Прехвърлете най-малко 400 µl от супернатанта в горната част на суспензията в нова епруветка със завиваща се капачка от 1,5 ml, без да пренасяте големи частици от фекалиите.
 -  Уверете се, че не сте прехвърлили твърди частици от фекалиите заедно със супернатанта към апарата EZ1. Големите частици фекалии в аликвотната част могат да доведат до запушване на филтърния крайник на апарата EZ1/EZ2.
5. Инкубирайте аликвотната част за 10 минути при 70°C във водна баня* или термомиксер.*
6. Преминете към протокола за пречистване (страница 44 или 55).
 -  Препоръчително е за аликвотните части от фекалии да се използва 200 µl обем аликвотна част за екстракция и 120–150 µl обем за елуиране. По-големите обеми на аликвотната част и по-малките обеми на елуиране могат да доведат до понижена чувствителност на приложенията надолу по веригата.
 -  Ако елуатите, получени от фекалиите, са мътни, ви препоръчваме да ги центрофугирате на пълни обороти (20 000 x g) за 3 минути, за да ги избистрите. Това няма да има отрицателно въздействие върху бистрите елуати, но ще подобри работните характеристики на мътните елуати в приложения надолу по веригата.

* Апаратите задължително трябва да се проверяват, поддържат и калибрират съгласно препоръките на производителя.

Протокол: Предварителна обработка за изолиране на геномна ДНК от грам-положителни бактерии

Извличането на ДНК може да се подобри за някои грам-положителни бактерии чрез предварително третиране с ензими преди прехвърляне на алиquotната част в апарата EZ1/EZ2 Connect MDx. Този протокол не е предназначен за употреба с алиquotни части от фекалии.

Процедура:

1. Пелетирайте бактериите чрез центрофугиране при $5000 \times g$ за 10 минути.
2. Суспендирайте бактериалната пелета в $180 \mu\text{l}$ от ензимния разтвор (20 mg/ml лизозим; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100) в епруветка със завиваща се капачка 2 ml.
3. Поставете я във водна баня* или термомиксер* и инкубирайте за най-малко 30 минути при 37°C .
4. Центрофугирайте за кратко време епруветката, за да изчистите капките от вътрешната част на капачката.
5. Преминете към протокола за пречистване (страница 44 или 55).

* Апаратите задължително трябва да се проверяват, поддържат и калибрират съгласно препоръките на производителя.

Протокол: Пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК чрез EZ2 Connect MDx

Важни моменти преди да започнете

- Ако използвате набора EZ1 DSP Virus Kit за първи път, прочетете „Съхранение и боравене с реактиви“, „Съхранение и работа с проби“ и „Работа с апаратите EZ2 Connect MDx“ от страница 17 нататък.
- Касетите с реактиви (RCV) съдържат гуанидинови соли и следователно не са съвместими с реактиви за дезинфекция, съдържащи белина. Вземайте необходимите мерки за безопасност и носете ръкавици, когато боравите с материала. Вижте страница 13 относно Информация за безопасността.
- Всички етапи на протокола трябва да се извършват при стайна температура (15–25°C). По време на процедурата за настройка трябва да се работи бързо.
- След получаването на набора проверете неговите компоненти за повреди. Ако касетите с реактиви (RCV) или други компоненти на набора са повредени, се обърнете към „Техническо обслужване“ или местния дистрибутор на QIAGEN. В случай на разливане на течност направете справка с „Предупреждения и предпазни мерки“ (страница 13). Не използвайте повредени касети с реактиви (RCV) или други увредени компоненти на набора, тъй като тяхната употреба може да влоши неговите работни характеристики, да доведе до нараняване на потребителя или до повреда на апарата. Не отстранявайте фолиото от RCV.

Неща, които да направите, преди да започнете

- Пригответе алиquotни части от серум, плазма, ГМТ или назофарингеални тампони в транспортна среда, както е описано в „Съхранение и работа с проби“ на страница 19. Ако в размразените алиquotни части се виждат криоутайки, центрофугирайте при 6800 x g за 3 минути, прехвърлете супернатантите в нови епруветки, без да нарушавате пелетите, и веднага започнете процедурата за пречистване.
- Пригответе алиquotни части от фекалии, както е описано в „Съхранение и работа с проби“ на страница 19 и в „Протокол: Предварителна обработка на алиquotни части от фекалии“ на страница 41.
- За изолирането на ДНК от грам-положителни бактерии пригответе алиquotните части, както е описано в „Протокол: Предварителна обработка за изолиране на геномна ДНК от грам-положителни бактерии“ (страница 43).
- Пригответе изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER) (с вътрешна контрола [Internal Control, IC] по избор), преди да го използвате за първи път. Разтворете лиофилизираната носеща РНК (CARRIER) в 310 µl елуиращ буфер (AVE) (предоставен в набора) и я смесете с вътрешната контрола (Internal Control, IC) (по избор), както е описано в „Подготовка на носеща РНК (CARRIER)“ (страница 38) и „Използване на вътрешна контрола (Internal Control, IC)“ (страница 39).

Процедура

1. За всяка алиquotна част пригответе 60 µl разтвор на носеща РНК, съдържащ 3,6 µl разтворена носеща РНК (CARRIER), (с вътрешна контрола [Internal Control, IC] по избор) в епруветка (ET) от 1,5 ml (предоставена). Смесете внимателно, като пипетирате разтвора 10 пъти. Не разбърквайте с вортекс.
Епруветката (ET) от 1,5 ml трябва да се зареди на ред В, както е указано в инструкциите на екрана.

- ① Уверете се, че разтворът на носещата РНК (CARRIER) е на дъното на епруветката (ET) от 1,5 ml, за да може апаратът EZ2 Connect MDx да прехвърли съответното количество.

2. Темперирайте до 24 аликвотни части до стайна температура (15–25°C) и прехвърлете 100, 200 или 400 µl от аликвотната част в епруветки за аликвотни части (ST) от 2 ml (без периферия; предоставени с набора), преди да ги заредите на работната маса. Ако използвате замразени аликвотни части, размразете ги, темперирайте ги до стайна температура и ги разбъркайте добре чрез вортекс. Препоръчителният обем на аликвотната част за екстракция на вирусни/бактериални нуклеинови киселини от фекалии е 200 µl. За предварителна обработка на аликвотните части вижте съответния протокол за предварителна обработка.

- ① Използвайте само епруветките (ST) от 2 ml (без периферия), предоставени с набора.
- ① Не замразявайте повторно размразените аликвотни части и не ги съхранявайте при 2–8°C за повече от 6 часа, тъй като това води до значително намален добив на вирусни нуклеинови киселини или бактериална ДНК.
- ① Избягвайте прехвърлянето на запушен материал на аликвотната част в епруветките за аликвотни части. Това може да доведе до прекъсване на процедурата и до потенциална повреда на апарата.
- ① Не използвайте обеми на аликвотната част, по-големи от 100, 200 или 400 µl. След лизиране и свързване на вирусните нуклеинови киселини или бактериалната ДНК към магнитните частици част от лизата се прехвърля в епруветката за аликвотни части (ST). Не използвайте повторно материала от аликвотната част, останал в епруветката за аликвотни части (ST).

3. Включете апарата EZ2 Connect MDx.

Превключвателят за захранването се намира вдясно отпред на апарата.

4. Влезте в системата на апарата и изберете режим IVD на софтуера. Въведете идентификатор на потребител и парола.

Софтуерът на EZ2 Connect MDx ще ви преведе през процеса на настройка.

Процесът ще започне след натискане на бутона **SCAN** (Сканиране) или **LIMS** в раздела „Setup“ (Настройка).



За да настроите цикъл чрез функцията/бутона LIMS, вижте *Ръководството за потребителя на EZ2 Connect MDx*.

5. Натиснете **Scan** (Сканиране) и докоснете полето, което се показва на следващия екран. Сканирайте 1D баркода върху Q-картата, предоставена с набора.

Видът на протокола се избира автоматично, след като сканирате 1D баркода върху Q-картата.



Ако сканирането на Q-картата е неуспешно, можете да въведете номера на набора и чрез потребителския интерфейс.



Сканирането на Q-картата е възможно само ако всички необходими процедури за поддръжка са били завършени. В противен случай преди да сканирате Q-картата, първо стартирайте процедурата за поддръжка.



Не използвайте RCV с изтекъл срок на годност, тъй като това ще влоши работните ѝ характеристики; аликвотните части ще бъдат маркирани като невалидни.


6. Докоснете **Next** (Напред), за да продължите.

Забележка: За да се върнете към екрана „Setup“ (Настройка), докоснете **Back** (Назад) или **Cancel** (Отмяна).


7. Изберете различните параметри за протокола, като докоснете полето до всяка опция за параметър.

8. Докоснете **Next** (Напред), за да продължите.

9. За да изберете позициите на алиquotните части, докоснете съответните редове на диаграмата на работната маса или съответните номера на редовете под диаграмата. Избраните позиции се маркират. За да изберете или отмените избора на всички позиции, докоснете превключвателя **Select all** (Избор на всички).
- ❗ След като бъде избрана поне една позиция за алиquotна част, бутонът **Next** (Напред) става активен.
10. Докоснете **Next** (Напред), за да продължите.
11. Въведете идентификаторите на алиquotните части ръчно или с помощта на ръчния баркод скенер.
- ❗ Когато използвате баркод скенера, трябва да се уверите, че използваният баркод е от правилния вид и качество, за да бъде прочетен от скенера.
 - ❗ Можете ръчно да промените идентификаторите на алиquotните части, като докоснете идентификатора и използвате екранната клавиатура.
 - ❗ Идентификаторите на алиquotните части трябва да бъдат уникални. Бутонът **Next** (Напред) няма да стане активен, докато не бъдат въведени уникални идентификатори за всички алиquotни части.
 - ❗ Проверете дали идентификаторът на алиquotната част е правилен, преди да продължите с настройката.
12. Докоснете **Next** (Напред), за да продължите.
13. Отворете вратата на апарата и извадете стативите за касети и стативите за крайници (наричани още държачи за лабораторно оборудване) от апарата. Поставете ги внимателно върху плота. За да премахнете статива за крайници, хванете статива от двете страни и внимателно го издърпайте нагоре.
- ❗ В зависимост от позициите, избрани за алиquotните части, отстранете стативите от лявата и/или дясната страна на работната маса.


 Не разменяйте стативите за касети и стативите за крайници между различни апарати.

14. Обърнете касетите с реактиви (RCV) 4 пъти, за да смесите магнитните частици. Прочетете „Неща, които да направите, преди да започнете“, преди да използвате RCV.
15. Поставете RCV в статива за касети, натиснете касетата надолу, докато не щракне на място.
16. Поставете празна епруветка за аликвотни части (ST) (без периферия; предоставена с набора) в ямка 11 на всяка заредена RCV.

 Уверете се, че празната епруветка за аликвотни части (ST) е заредена без капак.


Празната епруветка е необходима за стъпката на лизиране от протокола. Апаратът EZ2 Connect MDx не засича наличието на епруветката.

17. След като пригответе всички RCV, поставете и двата статива за касети върху работната маса.


 Уверете се, че стативите са поставени в правилната позиция; номерата на позициите са гравирани върху статива. Номерацията се чете от 1 до 24 от ляво надясно.

18. Докоснете **Next** (Напред), за да продължите.
19. Заредете епруветките за CARRIER (IC) (1,5 ml епруветки за елуиране, ET; предоставени с набора) на ред В в статива за крайници („държач за лабораторно оборудване“).

Вижте „Подготовка на носеща PHK (CARRIER)“ (страница 38) и „Приложение В: Изчисляване на количеството вътрешна контрола (Internal Control, IC)“ (страница 93) за подробности относно подготовката на сместа CARRIER (IC).

 Уверете се, че епруветките за елуиране (ET) от 1,5 ml, съдържащи достатъчно количество CARRIER (IC), са заредени без капак.


20. Поставете накрайниците в държача за накрайници и ги заредете на ред С в статива.

 При подготовката на накрайниците и държача за накрайници трябва да докосвате само горната част на накрайниците с ръкавици.


21. Заредете епруветките за елуиране (ET) от 1,5 ml на ред D в статива.


 Уверете се, че епруветките за елуиране са заредени без капак.


22. Заредете епруветките за аликвотни части (ST) от 2 ml (без периферия), съдържащи 100, 200 или 400 µl от аликвотната част (съгласно избрания параметър за протокола), на ред A в статива.

 Уверете се, че епруветките за аликвотни части са заредени на правилните позиции, както е избрано в стъпка 11. **По избор:** Използвайте шаблона от „Приложение С: Бланка с аликвотни части за употреба със система EZ1 DSP Virus“, за да следите идентификатора и ориентацията на аликвотната част.


 Уверете се, че епруветките за аликвотни части са заредени без капак.

 Уверете се, че епруветките за аликвотни части съдържат правилния обем материал за аликвотната част. Проверката на зареждането не може да засече дали е зареден правилният обем аликвотна част.

 Избягвайте образуването на пяна или мехурчета върху аликвотната част или по ръба на епруветките за аликвотни части, тъй като това може да доведе до грешки при проверката на зареждането.

 След като поставите аликвотните части върху работната маса, незабавно стартирайте протокола, тъй като продължителното време на съхранение в апарата може да доведе до изпаряване или да повлияе на стабилността след зареждане в апарата.


23. След като заредите всички епруветки и накрайници, поставете всеки статив за накрайници (ляв и десен) върху работната маса и затворете капака.

 Уверете се, че стативите са поставени в правилната позиция; номерата на позициите са гравирани върху статива. Номерацията се чете от 1 до 24 от ляво надясно. Винаги поставяйте и двата статива за крайници върху работната маса, независимо от използваните позиции за аликвотни части.


24. Докоснете **Next** (Напред), за да продължите.

25. Направете справка с информацията на екрана в изгледа „Run Setup“ (Настройки на цикъла) за правилния протокол, обем аликвотна част, обем на елуиране и брой аликвотни части.

26. Ако цялата информация е правилна, докоснете **Start** (Старт), за да продължите с протоколния цикъл.



 Ако искате да направите някакви промени, докоснете **Return** (Назад), за да се върнете към настройките на цикъла.

27. Сега ще се извърши проверка на зареждането. Протоколът ще стартира автоматично след успешно завършване на проверката на зареждането.


 Преди да оставите апарата без надзор, първо изчакайте проверката на зареждането да завърши успешно. При неуспешна проверка на зареждането (напр. поради грешки по време на подготовката на работната маса) цикълът няма да стартира и ще се изисква намеса на оператора. Ако апаратът бъде оставен без надзор за продължителен период от време, стабилността на аликвотните части и реактивите може да бъде нарушена.

След успешно завършване на проверката на зареждането преминете към стъпка 30.


28. Ако проверката на зареждането е неуспешна, се показва екранът „Load check failed“ (Неуспешна проверка на зареждането). Неправилно разположените лабораторни материали са маркирани в червено. Докоснете съответните колони за повече информация относно грешката при проверката на зареждането.

-  Направете визуална проверка на зареждането в маркираните позиции на работната маса. Преди да изпълните многократно неуспешна проверка на зареждането, първо направете визуалната проверка.
-  За повече информация относно ограниченията и грешките при проверка на зареждането вижте *Ръководството за потребителя на EZ2 Connect MDx*.







29. След като правилното зареждане на работната маса бъде потвърдено, докоснете **Next** (Напред) на екрана „Load the tip rack“ (Зареждане на статива за накрайници). Показва се екранът „Run setup selection overview“ (Преглед на избраните настройки на цикъла), на който вече е наличен бутонът **Skip load check** (Пропускане на проверката на зареждането). Докоснете или **Skip load check** (Пропускане на проверката на зареждането), или **Start** (Старт), за да продължите с протоколния цикъл.

-  Ако избере опцията **Skip load check** (Пропускане на проверката на зареждането), операторът трябва да направи визуална проверка, за да потвърди правилното поставяне на ВСИЧКИ консумативи във ВСИЧКИ позиции на работната маса.

Важно: Пропуснатата проверка на зареждането ще бъде записана в отчета за цикъла и всички аликвотни части ще бъдат маркирани като невалидни.

-  **Важно:** Ако проверката на зареждането бъде неуспешна за втори път, извадете аликвотните части и CARRIER (IC) от работната маса, затворете епруветките и ги съхранявайте при подходящи условия. Калибрирайте повторно камерата и се свържете с отдела за техническа поддръжка на QIAGEN за допълнителна помощ.

30. След успешно завършване на проверката на зареждането напредъкът на цикъла и изминалото време на изпълнение се показват на екрана „Protocol run in progress“ (Протоколният цикъл се извършва).

31. Когато протоколът приключи успешно, се появява екранът „Protocol run completed“ (Протоколният цикъл е завършен).
32. Отворете капака, внимателно извадете стативите за крайници и ги поставете върху плота. Първо извадете пречистената ДНК/РНК от ред D. Избягвайте да докосвате другите епруветки, докато изваждате единичните епруветки за елуиране (ЕТ). Затворете епруветките за елуиране с капациите, предоставени с набора.
-  След края на цикъла незабавно извадете елуатите и ги оставете на съхранение.
33. Изхвърлете отпадъците от подготовката на аликвотните части от ред А*.
Изхвърлете държачите за крайници и крайниците, както и епруветките CARRIER (IC).
-  Спазвайте местните разпоредби за безопасност при изхвърляне на отпадъци.
34. Извадете стативите за касети и изхвърлете RCV и епруветката от ямка 11.
-  Преди да извадите RCV, първо извадете и изхвърлете епруветката от ямка 11 на всяка касета. В противен случай RCV няма да може да бъде извадена от статива за касети.
 -  Спазвайте местните разпоредби за безопасност при изхвърляне на отпадъци (вижте също „Предупреждения и предпазни мерки“ на страница 13).
35. Следвайте инструкциите в „After run maintenance“ (Поддръжка след завършване на цикъл) и след това поставете отметка в квадратчето.
-  Устройството за пробиване е остро! Препоръчва се използването на два чифта ръкавици.
 -  За допълнителни процедури за поддръжка вижте *Ръководството за потребителя на EZ2 Connect MDx*.

* Отпадъците от аликвотните части съдържат гуанидинови соли и следователно не са съвместими с белина. Вижте страница 12 относно Информация за безопасността.

36. Натиснете бутона **Finish** (Край), за да създадете отчет за цикъла и да се върнете към началния екран. Времето на завършване на цикъла и състоянието на поддръжката няма да бъдат прехвърлени в отчета за цикъла, докато бутонът **Finish** (Край) не бъде натиснат .
37. След последния цикъл за деня трябва да се извършва процедурата за ежедневна поддръжка, последвана от УВ обеззаразяване.
38. Ако е необходимо, извършете процедурата за седмична поддръжка след тази за ежедневната.

Протокол: Пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК с помощта на апаратите EZ1

Важни моменти преди да започнете

- Ако използвате набора EZ1 DSP Virus Kit за първи път, прочетете „Съхранение и боравене с реактиви“, „Съхранение и работа с проби“ и „Работа с апаратите EZ1“ от страница 17 нататък.
- Касетите с реактиви (RCV) съдържат гуанидинови соли и следователно не са съвместими с реактиви за дезинфекция, съдържащи белина. Вземайте необходимите мерки за безопасност и носете ръкавици, когато боравите с материала. Вижте страница 13 относно Предупреждения и предпазни мерки.
- Всички етапи на протокола трябва да се извършват при стайна температура (15–25°C). По време на процедурата за настройка трябва да се работи бързо.
- След получаването на набора проверете неговите компоненти за повреди. Ако касетите с реактиви (RCV) или други компоненти на набора са повредени, се обърнете към „Техническо обслужване“ или местния дистрибутор на QIAGEN. В случай на разливане на течност направете справка с „Предупреждения и предпазни мерки“ (страница 13). Не използвайте повредени касети с реактиви (RCV) или други увредени компоненти на набора, тъй като тяхната употреба може да влоши неговите работни характеристики, да доведе до нараняване на потребителя или до повреда на апарата. Не отстранявайте фолиото от RCV.
- В някои стъпки от процедурата може да се направи един от 2 избора. Изберете ▲, ако използвате EZ1 Advanced или EZ1 Advanced XL; изберете ■, ако използвате BioRobot EZ1 DSP.

Неща, които да направите, преди да започнете

- Пригответе аликвотни части от серум, плазма, ГМТ или назофарингеални тампони в транспортна среда, както е описано в „Съхранение и работа с проби“ на страница 19. Ако в размразените аликвотни части се виждат криоутайки, центрофугирайте при 6800 x g за 3 минути, прехвърлете супернатантите в нови епруветки, без да нарушавате пелетите, и веднага започнете процедурата за пречистване.
- Пригответе аликвотни части от фекалии, както е описано в „Съхранение и работа с проби“ на страница 19 и в „Протокол: Предварителна обработка на аликвотни части от фекалии“ на страница 41.
- За изолирането на ДНК от грам-положителни бактерии пригответе аликвотните части, както е описано в „Протокол: Предварителна обработка за изолиране на геномна ДНК от грам-положителни бактерии“ (страница 43)
- Пригответе изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER) (с вътрешна контрола [Internal Control, IC] по избор), преди да го използвате за първи път. Разтворете лиофилизираната носеща РНК (CARRIER) в 310 µl елуиращ буфер (AVE) (предоставен с набора) и я смесете с вътрешната контрола (Internal Control, IC) (по избор), както е описано в „Подготовка на носеща РНК (CARRIER)“ и „Използване на вътрешна контрола (Internal Control, IC)“, страници 38–39.

Процедура

1. За всяка аликвотна част пригответе 60 µl разтвор, съдържащ 3,6 µl разтворена носеща РНК (CARRIER), (с вътрешна контрола [Internal Control, IC] по избор) в епруетка (ET) от 1,5 ml (предоставена). Смесете внимателно, като пипетирате разтвора 10 пъти. Не разбърквайте с вортекс.

Епруетката (ET) от 1,5 ml трябва да се зареди на ред 3, както е указано в инструкциите на екрана.

i Уверете се, че разтворът на носещата РНК (CARRIER) е на дъното на епруветката (ET) от 1,5 ml, за да може апаратът EZ1 да прехвърли съответното количество.

2. Темперирайте аликвотните части до стайна температура (15–25°C) и прехвърлете 100, 200 или 400 µl от аликвотната част в епруветки за аликвотни части (ST) от 2 ml (без периферия; предоставени с набора), преди да ги заредите на работната маса. Ако използвате замразени аликвотни части, размразете ги, темперирайте ги до стайна температура и ги разбъркайте добре чрез вортекс. Препоръчителният обем на аликвотната част за екстракция на вирусни/бактериални нуклеинови киселини от фекалии е 200 µl. За предварителна обработка на аликвотните части вижте съответния протокол за предварителна обработка.

i Използвайте само епруветките (ST) от 2 ml (без периферия), предоставени с набора.

i Не замразявайте повторно размразените аликвотни части и не ги съхранявайте при 2–8°C за повече от 6 часа, тъй като това води до значително намален добив на вирусни нуклеинови киселини или бактериална ДНК.

i Избягвайте прехвърлянето на запушен материал на аликвотната част в епруветките за аликвотни части. Това може да доведе до прекъсване на процедурата и до потенциална повреда на апарата.

i Не използвайте обеми на аликвотната част, по-големи от 100, 200 или 400 µl. След лизиране и свързване на вирусните нуклеинови киселини или бактериалната ДНК към магнитните частици част от лизата се прехвърля в епруветката за аликвотни части (ST). Не използвайте повторно материала от аликвотната част, останал в епруветката за аликвотни части (ST).

3. Вкарайте докрай ▲ картата EZ1 Advanced DSP Virus Card в слота за EZ1 Advanced Card на EZ1 Advanced, картата EZ1 Advanced XL DSP Virus Card в слота за EZ1 Advanced XL Card на EZ1 Advanced XL или картата ■ EZ1 DSP Virus Card в слота за EZ1 Card на BioRobot EZ1 DSP.
4. Включете апарата EZ1.

Превключвателят за захранването се намира вляво отзад на апарата.
5. Натиснете **START** (Старт), за да стартирате подготовката на работната маса на протокола EZ1 DSP Virus.
6. За подготовка на работната маса, избор на променлива на протокола и ▲ проследяване на данни следвайте инструкциите на екрана.
 - ① След като поставите аликвотните части върху работната маса, незабавно стартирайте протокола, тъй като продължителното време на съхранение в апарата може да доведе до изпаряване.
7. Отворете вратата на апарата.
8. Обърнете касетите с реактиви (RCV) 4 пъти, за да смесите магнитните частици.
9. Заредете касетите с реактиви в статива за касети и натиснете касетата надолу, докато не щракне на място.
 - ① Ако има по-малко от 6 (BioRobot EZ1 DSP, EZ1 Advanced) или 14 (EZ1 Advanced XL) касети с реактиви (RCV), можете да ги заредите на произволен ред в статива. Въпреки това, когато зареждате останалото лабораторно оборудване, трябва да се уверите, че и то спазва същата последователност.
 - ① ▲: За проследяване на данни винаги започвайте зареждането на аликвотните части от позиция А на EZ1 Advanced и позиция 1 на EZ1 Advanced XL. Поставете останалите аликвотни части последователно в следващите свободни позиции на работната маса.

- ▲: Когато използвате опцията за проследяване на данни, трябва да се уверите, че идентификаторът на алиquotната част е в същата последователност като алиquotните части на работната маса, за да избегнете объркване на данните.

10. Поставете празна епруветка (ST) от 2 ml (без периферия; предоставена с набора) в ямка 11 на всяка RCV.

- Уверете се, че празната епруветка за алиquotни части (ST) е заредена без капак.

Празната епруветка е необходима за стъпката на лизиране от протокола.

11. Следвайте инструкциите на екрана за по-нататъшната подготовка на работната маса.

Трябва да пригответе епруветки за елуиране, накрайници, държач за накрайници, епруветки CARRIER (IC), както и епруветки за алиquotни части.

- При подготовката на накрайниците и държача за накрайници трябва да докосвате само горната част на накрайниците с ръкавици.



- Уверете се, че епруветките за елуиране (ET, епруветки от 1,5 ml) са заредени без капак.


- Уверете се, че епруветките за алиquotни части са заредени на правилните позиции, както е избрано в стъпка 9.

По избор: Използвайте шаблона от „Приложение С: Бланка с алиquotни части за употреба със система EZ1 DSP Virus“, за да проследите идентификатора и ориентацията на алиquotната част.


- Уверете се, че епруветките за алиquotни части са заредени без капак.




- Уверете се, че епруветките за алиquotни части съдържат правилния обем материал за алиquotната част.

-  Избягвайте образуването на пяна или мехурчета върху алиquotната част или по ръба на епруветките за алиquotни части.
-  След като поставите алиquotните части върху работната маса, незабавно стартирайте протокола, тъй като продължителното време на съхранение в апарата може да доведе до изпаряване.
- 12. Заредете приготвения статив за касети и статив за крайници в апарата.

 -  Не разменяйте стативите за касети и стативите за крайници между различни апарати.
- 13. Затворете вратата на апарата.
- 14. Натиснете **START** (Старт), за да стартирате протокола.
- 15. Когато протоколът приключи, на дисплея се показва „Protocol finished“ (Протоколът е завършен).

 - ▲ Натиснете **ENT**, за да генерирате файл с отчета.
 - ▲ EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL могат да съхраняват до 10 файла с отчети. Файловете с отчети могат да бъдат директно отпечатани на свързан принтер или прехвърлени на компютър.
- 16. Отворете вратата на апарата, внимателно извадете статива за крайници и го поставете върху плота.
- 17. Извадете епруветките за елуиране (ЕТ), съдържащи пречистените вирусни нуклеинови киселини и/или бактериална ДНК, от ред 1. Избягвайте да докосвате другите епруветки, докато изваждате единичните епруветки за елуиране (ЕТ). Затворете ЕТ с капациите, предоставени с набора.

 -  След края на цикъла незабавно махнете елуатите от работната маса и ги оставете на съхранение.

18. Изхвърлете отпадъците от подготовката на алиquotните части.* Изхвърлете държачите за крайници и крайниците, както и епруветките CARRIER (IC).
19. Извадете статива за касети и изхвърлете RCV, включително епруветката от ямка 11.
-  Спазвайте местните разпоредби за безопасност при изхвърляне на отпадъци (вижте също „Предупреждения и предпазни мерки“ на страница 13).
20. ▲ Препоръчително: За извършване на УВ обеззаразяване на повърхностите на работната маса следвайте инструкциите на екрана.
21. Извършете процедурата за редовна поддръжка, например УВ цикъл, както е описано в ръководството за потребителя, предоставено с апарата EZ1. Редовна поддръжка трябва да се извършва в края на всеки протоколен цикъл. Тя включва почистване на устройството за пробиване и на повърхностите на работната маса.
-  Устройството за пробиване е остро! Препоръчва се използването на два чифта ръкавици.
-  За допълнителни процедури за поддръжка вижте *Ръководството за потребителя на EZ1 Advanced XL*.
22. За да изпълните друг протокол, натиснете **START** (Старт), изпълнете стъпки 1 и 2 от протокола и след това следвайте протокола от стъпка 5 нататък. В противен случай натиснете **STOP** (Стоп) два пъти, за да се върнете към първия екран на дисплея, затворете вратата на апарата и изключете апарата EZ1. Стъпки 3 и 4 не са необходими, когато искате да изпълните друг протокол. Пропуснете тези стъпки.

* Отпадъците от алиquotните части съдържат гуанидинови соли и следователно не са съвместими с белина. Вижте страница 12 относно Предупреждения и предпазни мерки.

Контрол на качеството

В съответствие със сертифицираната по ISO Система за управление на качеството на QIAGEN всяка производствена партида EZ1 DSP Virus Kit се тества по предварително определени спецификации, за да се осигури постоянно качество на продуктите.

Ограничения

Потребителят носи отговорността да валидира работните характеристики на системата за всички процедури в неговата лаборатория, които не са включени в изследванията на работните характеристики на QIAGEN.

Работните характеристики на системата са установени в проучвания на работните характеристики при използване на плазма, серум, ГМТ, фекалии и назофарингеални тампони в транспортна среда за изолиране на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК и примерни приложения надолу по веригата. Тъй като общите работни характеристики силно зависят от приложението надолу по веригата, отговорност на потребителя е да валидира работните характеристики на целия диагностичен работен процес, включително подготовката на аликвотните части и конкретното приложение надолу по веригата.

За да се сведе до минимум рискът от отрицателно въздействие върху диагностичните резултати, трябва да се използват подходящи контроли за последващите приложения по веригата. За допълнително валидиране се препоръчва да се използват указанията на International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (Международната конференция за хармонизиране на техническите изисквания) (ICH) в *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology* (Валидиране на аналитични процедури: текст и методика).

Всички получени диагностични резултати трябва да се интерпретират заедно с другите клинични или лабораторни констатации.

Работни характеристики

Можете да намерите приложимите работни характеристики в раздела „Resources“ (Ресурси) на страницата с продукти на www.qiagen.com.

Ръководство за отстраняване на проблеми

Това ръководство за отстраняване на проблеми може да бъде полезно за отстраняване на евентуално възникнали проблеми. За повече информация вижте и страницата „Често задавани въпроси“ (Frequently Asked Questions, FAQ) в нашия Център за техническа поддръжка: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Учените в отдел „Технически услуги“ на QIAGEN винаги с готовност ще отговорят на всички ваши въпроси относно информацията и/или протоколите в този наръчник или относно аликвотните части и технологиите на анализ (за информация за контакти посетете www.qiagen.com).

Коментари и предложения

Обща работа

- | | |
|---|---|
| a) Съобщение за грешка на дисплея на апарата | Вижте ръководството за потребителя, доставено с апарата EZ1 или EZ2. |
| b) Файлт с отчета не се отпечатва (за EZ1) | Проверете дали принтерът е свързан към EZ1 Advanced или EZ1 Advanced XL чрез серийния порт „PC/Printer“ (Компютър/Принтер).
Проверете дали серийният порт е настроен за употреба с принтер. |
| c) Файлт с отчета не се изпраща към компютъра (за EZ1) | Проверете дали компютърът е свързан към EZ1 Advanced или EZ1 Advanced XL чрез серийния порт „PC/Printer“ (Компютър/Принтер).
Проверете дали серийният порт е настроен за употреба с компютър. |
| d) Въведен е грешен идентификатор на Q-карта (за EZ1) | Ако е бил въведен грешен идентификатор на Q-картата, EZ1 Advanced или EZ1 Advanced XL няма да приеме идентификатора и ще изисква идентификатор на Q-картата, докато не бъде въведен правилният. Натиснете STOP (Стоп) два пъти, за да отидете в главното меню. |
| e) Въведен е грешен идентификатор на Q-карта (за EZ2 Connect MDx) | Ако е бил въведен грешен идентификатор на Q-картата, EZ2 Connect MDx няма да покаже правилния протокол, който ще се използва. Въведете правилния идентификатор на Q-картата, за да се покаже необходимият протокол.
По време на проверката на зареждането EZ2 Connect MDx проверява дали избраният протокол и заредените касети с реактиви съпадат. Ако е бил избран грешен протокол поради грешен идентификатор на Q-картата, прекратете цикъла и започнете настройката на цикъла в апарата отначало. |

Коментари и предложения

Нисък добив на вирусни нуклеинови киселини или бактериална ДНК

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Магнитните частици не са напълно ресуспендирани | Преди да заредите касетите с реактиви (RCV) в държача, първо се уверете, че сте ресуспендирали напълно магнитните частици. |
| b) | Аспирираният реактив не е достатъчен | След като обърнете касетите с реактиви (RCV), за да ресуспендирате магнитните частици, трябва да се уверите, че реактивите в RCV са се утаили на дъното на янките. |
| c) | Грешен обем на аликвотната част в епруветката за аликвотни части | Уверете се, че пипетирате точния обем аликвотна част в епруветката за аликвотни части. |
| d) | Прехвърлено е грешно количество аликвотна част (прехвърлен е по-малък от очакваното обем от епруветката за аликвотни части) | Проверете дали епруветките за аликвотни части са почти празни след цикъла. Проверете дали избраният и предоставеният обем аликвотна част съвпадат. Проверете дали останалият материал в аликвотната част в епруветките не съдържа съсиреци или утайки. Проверете състоянието на гресиране на О-пръстените на пипетора (седмична поддръжка). |
| e) | Реактивите са заредени в грешен ред на работната маса | Уверете се, че всички епруветки (ET, ST) и държачите за крайници (DTH) с крайниците (DFT) са заредени в правилен ред на работната маса. Повторете процедурата за пречистване с нови аликвотни части. |
| f) | Не е добавена носеща РНК (CARRIER) | Разтворете лиофилизираната носеща РНК (CARRIER) в 310 µl елуиращ буфер (AVE). За всяка аликвотна част използвайте 3,6 µl от този изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER), смесен с вътрешна контрола (Internal Control, IC) (по избор) и допълнителен елуиращ буфер (AVE) до краен обем от 60 µl, както е описано в „Подготовка на носеща РНК (CARRIER)“ и „Използване на вътрешна контрола (Internal Control, IC)“ на страници 38–39. Повторете процедурата за пречистване с нови аликвотни части. |
| g) | Носещата РНК (CARRIER) и елуиращият буфер (AVE) не са достатъчно разбъркани | Смесете носещата РНК (CARRIER), вътрешната контрола (Internal Control, IC) (по избор) и елуиращия буфер (AVE), като пипетирате най-малко 10 пъти. |
| h) | РНК се е разградила | Възможно е РНК да е била разградена от РНКазите в оригиналните аликвотни части. Трябва да обработвате аликвотните части веднага след вземането им или изваждането им от мястото за съхранение. |

РНК или ДНК не се представят добре в приложения надолу по веригата

- | | | |
|----|---|---|
| a) | В елуата има малко/няма никаква нуклеинова киселина | Вижте „Нисък добив на вирусни нуклеинови киселини или бактериална ДНК“ на страница 65 за възможни причини. Ако е възможно, увеличете количеството елуат, добавено към ензимната реакция надолу по веригата. |
| b) | Замразени аликвотни части не са били добре разбъркани след размразяване | Размразете замразените аликвотни части при стайна температура (15–25°C) и разбъркайте чрез импулсен вортекс за 15 сек. |

Коментари и предложения

- | | | |
|----|--|--|
| c) | Нуклеинови киселини в алиquotни части са се разградили преди пречистването | Това може да се случи, ако алиquotните части са били замразени отново след размразяване или ако са били съхранявани твърде дълго време на стайна температура. Винаги използвайте пресни алиquotни части или алиquotни части, които са били размразявани само веднъж. Повторете процедурата за пречистване с нови алиquotни части. |
| d) | Недостатъчно лизиране на алиquotната част | Това може да се случи, ако касетите с реактиви (RCV) са били съхранявани твърде дълго време при високи температури, което води до инактивиране на протеиназа К. Повторете процедурата за пречистване, като използвате нови алиquotни части и касети с реактиви (RCV). |
| e) | По време на елуирането е пренесена сол | За получаване най-добри резултати се уверете, че касетите с реактиви (RCV) са при температура 20–30°C. |
| f) | Твърде много или твърде малко носеща PHK (CARRIER) в елуата | Определете максималното количество носеща PHK (CARRIER), подходящо за реакцията на амплификация. Коригирайте концентрацията на разтвора на носещата PHK (CARRIER). |
| g) | Твърде много елуат в реакцията на амплификация | Определете максималния обем елуат, подходящ за реакцията на амплификация. Намалете обема на елуата, добавен към реакцията на амплификация, или съответно увеличете обема на елуиране. Ако желаете, можете да добавите положителна контрола в елуата, за да се определи ефектът на елуата върху реакцията на амплификация. |
| h) | Различни работни характеристики на пречистени нуклеинови киселини при последващи анализи | Компонентите на солта и етанола на промиващия буфер 1 или промиващия буфер 2 в касетата (RCV) може да са се отделили поради дългосрочно съхранение. Винаги обръщайте добре касетите (RCV) и се уверявайте, че реактиви в RCV са се утаили на дъното на ямките. |
| i) | Липса на чувствителност поради инхибиращи вещества | Увеличете обема на елуиране. Ако е необходимо, можете да добавите положителна контрола към елуата, за да се определи ефектът на обема на елуиране върху реакцията на амплификация.
Ако елуатите, получени от алиquotни части от фекалии, са мътни, ви препоръчваме да ги центрофугирате на пълни обороти (20 000 x g) за 3 минути, за да ги избистрите. Това няма да има отрицателно въздействие върху бистрите елуати, но ще подобри работните характеристики на мътните елуати в приложението надолу по веригата. След центрофугиране прехвърлете елуата в нова епруветка, без да нарушавате утайката. |
| j) | Нова комбинация от обратна транскриптаза и Taq ДНК полимераза | Ако ензимите са променени, може да е необходимо да коригирате количеството носеща PHK (CARRIER), добавена към елуиращия буфер (AVE), както и количеството на използвания елуат. |
| k) | Пренасяне на магнитни частици | Пренасянето на магнитни частици в елуатите няма да засегне повечето приложения надолу по веригата, включително RT-PCR. Ако рискът от пренасяне на магнитни частици трябва да бъде сведен до минимум (напр. за приложения като real-time PCR), първо поставете епруветките, съдържащи елуата, в подходящ магнитен сепаратор за 1 минута и след това прехвърлете елуатите в чисти епруветки. Ако не е наличен подходящ магнит, центрофугирайте епруветките, съдържащи елуати, в микроцентрофуга на пълни обороти за 1 минута, за да гранулирате останалите магнитни частици, и прехвърлете супернатантите в чисти епруветки. |

Символи

Следните символи се фигурират в инструкциите за употреба или на опаковката и етикетите:

Символ	Описание на символа
 Σ <N>	Съдържа реактиви, достатъчни за <N> реакции
	Използвайте до
	Този продукт отговаря на изискванията на Европейски регламент 2017/746 за медицински изделия за инвитро диагностика.
	Медицинско изделие за инвитро диагностика
	Каталожен номер
	Партиден номер
	Номер на материал (на етикета на компонента)
	Уникален идентификатор на изделието
	Компоненти

Символ	Описание на символа
	Съдържа
	Номер
	Обем
	Глобален номер на търговска единица
Rn	„R“ означава редакция на Инструкциите за употреба, а „n“ е номерът на редакцията
	Температурни ограничения
	Адрес/Законен производител
	Важна бележка
	Направете справка с инструкциите за употреба
	Пазете от слънчева светлина
	Предупреждение/внимание

Символ

Описание на символа

USE	За употреба само с
REAG CART VIRUS	RCV: Касета с вирусен реактив
CAR RNA	CARRIER: Носеща PHK
ELU BUF	AVE: Елуирац буфер Buffer AVE
DISP FILT TIP	DFT: Филтърни накрайници за еднократна употреба
DISP TIP HOLD	DTH: Държач за накрайници за еднократна употреба
SAMP TUBE	ST: Епруветка за аликвотни части
ELU TUBE	ET: Епруветка за елуиране
GITC	Гуанидин изотиоцианат
GuHCl	Гуанидин хидрохлорид
EtOH	Етанол
IPA	Изопропанол
LiCl	Литиев хлорид

Символ

Описание на символа



Протеиназа К



Тази страна надолу при отваряне

Информация за контакт

За техническа помощ и повече информация вижте нашия Център за техническа поддръжка на www.qiagen.com/Support, позвънете на телефон 00800-22-44-6000 или се свържете с един от отделите за техническа поддръжка на QIAGEN или с местен дистрибутор (вижте задната корица или посетете www.qiagen.com).

Приложение А: Съобщения на екрана на апарати EZ1/EZ2

Съобщенията, показвани от софтуерния протокол върху апаратите EZ1 по време на подготовката на работната маса, по време на протоколния цикъл и след извършване на протоколния цикъл, са изброени в таблици 2 – 4. Номерата на съобщенията, посочени в таблиците, съответстват на номерата на съобщенията, показани от софтуера.

За общи съобщения за грешка, показани на дисплея на апарата EZ1, вижте ръководството за потребителя, предоставено с апарата EZ1.

За общи съобщения за грешки, показани на апарата EZ2 Connect MDx, вижте съответното ръководство за потребителя. Обърнете се към „Техническо обслужване“ на QIAGEN за съдействие при отстраняване на проблеми.

Таблица 2. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced XL DSP Virus

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
Няма	Насока	Date/time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup (Дата/Час START: Цикъл 1: UB 2: Ръчно 3: Тест 4: Настройка)
1	Насока	EZ1 Advanced XL DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced XL DSP Virus Версия 1.0)
2	Проследяване на данни	Enter user ID ENT: Next (Въведете потребителски ID ENT: Напред)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 2. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced XL DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
3	Проследяване на данни	Enter Q-Card bar code ENT: Next (Въведете баркод на Q-карта ENT: Напред)
4	Насока	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT: Back (Грешен набор! Заредете EZ1 DSP Virus Kit ENT: Назад)
5	Насока	Kit expired MMYY ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Срокът на годност на набора изтече на ММГГ ENT: Използвайте нов набор ESC: Спиране на протокола)
6	Проследяване на данни	Use Q-Card data with sample 1 to xx Enter 1 to 14 ENT: Next (Използвайте данните от Q-картата с аликвотна част 1 до xx Въведете от 1 до 14 ENT: Напред)
7	Насока	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no (Желаете ли да обработите още аликвотни части с друга партида от набора? ENT: Да, ESC: Не)
8	Проследяване на данни	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No (Желаете ли да добавите ID на аликвотна част? ENT: Да, ESC: Не)
9	Проследяване на данни	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next (Въведете ID за аликвотна част № [x] ENT: Напред)
10	Проследяване на данни	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No (Желаете ли да проверите ID на аликвотните части? ENT: Да, ESC: Не)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 2. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced XL DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
11	Проследяване на данни	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next (ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Напред)
12	Проследяване на данни	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back (ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Напред, UP: Назад)
13	Проследяване на данни	D 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back (ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Напред, UP: Назад)
14	Проследяване на данни	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back (ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Напред, UP: Назад)
15	Проследяване на данни	ID 13: ID 14: ESC: Rescan DOWN: Next, UP: Back (ID 13: ID 14: ESC: Повторно сканиране DOWN: Напред, UP: Назад)
16	Проследяване на данни	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Желаете ли да добавите информация за анализа? ENT: Да, ESC: Не)
17	Проследяване на данни	Enter assay ID for sample no. [x] ENT: Next (Въведете ID за алиquotна част № [x] ENT: Напред)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 2. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced XL DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
18	Проследяване на данни	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No (Желаете ли да проверите ID на анализите?) ENT: Да, ESC: Не)
19	Проследяване на данни	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Желаете ли да добавите бележки?) ENT: Да, ESC: Не)
20	Проследяване на данни	Enter notes for sample no. [X] ENT: Next (Въведете бележки за аликвотна част № [X]) ENT: Напред)
21	Проследяване на данни	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No (Желаете ли да прегледате бележките?) ENT: Да, ESC: Не)
22	Избор	Select sample volume: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl (Изберете обем на аликвотната част: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl)
23	Избор	Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Изберете обем на елуиране: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl)
24	Насока	You have chosen: Sample volume: xxx µl Elution volume: yyy µl ENT: Next, ESC: Back (Избрали сте: Обем на аликвотната част: xxx µl Обем на елуиране: yyy µl ENT: Напред, ESC: Назад)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 2. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced XL DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
25	Насока	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back (Заредете касетите на същите места като алиquotните части ENT: Напред, ESC: Назад)
26	Насока	Load empty 2 ml tubes into heating block ENT: Next, ESC: Back (Заредете празни епруветки от 2 ml в нагревателния блок ENT: Напред, ESC: Назад)
27	Насока	Load elution tubes (1.5 ml) into first row ENT: Next, ESC: Back (Заредете епруветки за елуиране (1,5 ml) на първи ред ENT: Напред, ESC: Назад)
28	Насока	Load tip holders and tips into second row ENT: Next, ESC: Back (Заредете държачи за крайници и крайници на втори ред ENT: Напред, ESC: Назад)
29	Насока	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC into third row ENT: Next, ESC: Back (Заредете епруветки от 1,5 ml, съдържащи cRNA и IC, на трети ред ENT: Напред, ESC: Назад)
30	Насока	Load 2 ml tubes with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back (Заредете епруветки от 2 ml с алиquotна част на четвърти ред ENT: Напред, ESC: Назад)
31	Насока	Loading finished Close door and press START ESC: Back (Зареждането е завършено. Затворете вратата и натиснете START ESC: Назад)
32	Насока	Please close door! ENT: Next (Моля, затворете вратата! ENT: Напред)
33	Насока	Checking temperature Set: Cur (Проверка на температурата Зададена: Текуща:)
34	Статус	Protocol started (Протоколът започна)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 2. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced XL DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
35	Статус	Piercing foil [x] of 43 min left (Пробиване на фолиото Остават [x] от 43 мин)
36	Статус	Collecting elution buffer AVE [x] of 43 min left (Вземане на елуиращ буфер Buffer AVE Остават [x] от 43 мин)
37	Статус	Collecting cRNA + IC [x] of 43 min left (Вземане на cRNA + IC Остават [x] от 43 мин)
38	Статус	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Вземане на буфер за лизиране Остават [x] от 43 мин)
39	Статус	Collecting Sample [x] of 43 min left (Вземане на алиquotна част Остават [x] от 43 мин)
40	Статус	Collecting Proteinase K [x] of 43 min left (Вземане на протеиназа K Остават [x] от 43 мин)
41	Статус	Mixing lysate [x] of 43 min left (Разбъркване на лизата Остават [x] от 43 мин)
42	Статус	15 min Incubation [x] of 43 min left (15-минутна инкубация Остават [x] от 43 мин)
43	Статус	Tip touch [x] of 43 min left (Доковане с накрайника Остават [x] от 43 мин)
44	Статус	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (Вземане на свързващ буфер Остават [x] от 43 мин)
45	Статус	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Вземане на буфер за лизиране Остават [x] от 43 мин)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 2. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced XL DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
46	Статус	Collecting Beads [x] of 43 min left (Вземане на зърна Остават [x] от 43 мин)
47	Статус	Resuspending Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left (Ресуспендиране на зърната в свързващ буфер Остават [x] от 43 мин)
48	Статус	Transferring Lysate [x] of 43 min left (Прехвърляне на лизат Остават [x] от 43 мин)
49	Статус	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (Свързване чрез магнитно отделяне Остават [x] от 43 мин)
50	Статус	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Промиване 1 Магнитно отделяне Остават [x] от 43 мин)
51	Статус	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Промиване 2 Магнитно отделяне Остават [x] от 43 мин)
52	Статус	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Промиване 3 Магнитно отделяне Остават [x] от 43 мин)
53	Статус	Drying Beads [x] of 43 min left (Изсушаване на зърната Остават [x] от 43 мин)
54	Статус	Rinse [x] of 43 min left (Изплакване Остават [x] от 43 мин)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 2. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced XL DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
55	Статус	Elution [x] of 43 min left (Елуиране Остават [x] от 43 мин)
56	Насока	Check transfer of cRNA + IC (row 3) ENT: Next (Проверете прехвърлянето на cRNA + IC (ред 3) ENT: Напред)
57	Насока	Check transfer of sample (row 4) ENT: Next (Проверете прехвърлянето на аликвотната част (ред 4) ENT: Напред)
58	Насока	Protocol finished ENT: Next (Протоколът завърши ENT: Напред)
59	Проследяване на данни	Transferring report file Attempt no. (Прехвърляне на файл с отчет Опит №)
60	Няма	
Няма	Насока	Report file sent Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k. (Файлът с отчета е изпратен Наред ли е всичко с разпечатката? 1: Да, 2: Не)
61	Насока	Report file sent ENT: Next (Файлът с отчета е изпратен ENT: Напред)
62	Насока	Report file could not be sent ENT: Resend (Файлът с отчета не може да бъде изпратен ENT: Повторно изпращане)
63	Насока	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (Желаете ли да извършите цикъл с УВ светлина? ENT: Да, ESC: Не)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 2. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced XL DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
64	Насока	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next (Отстранете елуатите и консумативите от работната маса: ENT: Напред)
65	Насока	UV decontamination: Enter 20–60 min ENT: Next (УВ обеззаразяване Въведете време между 20 и 60 мин ENT: Напред)
66	Насока	UV decontamination time must be between 20–60 min ESC: Back (Времето за УВ обеззаразяване трябва да е между 20 и 60 мин ESC: Назад)
67	Насока	UV decontamination Total time: min Time left: min (УВ обеззаразяване Общо време: мин Оставащо време: мин)
68	Насока	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (След всеки цикъл трябва да се извършва редовна поддръжка ESC: Главно меню)
69	Насока	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next (Срокът на годност на УВ лампите изтича скоро Оставащи цикли с УВ светлина: ENT: Напред)
70	Насока	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort (УВ лампите са с изтекъл срок на годност ENT: Напред, ESC: Прекратяване)
71	Насока	Decontamination UV lamps cooling Please stand by (УВ лампите за обеззаразяване се охлаждат Моля, изчакайте)
72	Насока	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (След всеки цикъл трябва да се извършва редовна поддръжка ESC: Главно меню)

Таблица 3. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced DSP Virus

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
Няма	Насока	Date/Time START:Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Дата/Час START: Цикъл 1: УВ 2: Ръчно 3: Тест 4: Настройка Клавиш: START, 1, 2, 3, 4)
1	Насока	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus, Версия 1.0)
2	Проследяване на данни	Scan/enter user ID (Сканирайте/въведете потребителски ID)
Няма	Насока	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Дата/Час START: Цикъл 1: УВ 2: Ръчно 3: Тест 4: Настройка Клавиш: START, 1, 2, 3, 4)
1	Насока	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus Версия 1.0)
2	Проследяване на данни	Scan/enter user ID (Сканирайте/въведете потребителски ID)
3	Проследяване на данни	Scan/enter Q-Card barcode (Сканирайте/въведете баркод на Q-карта)
4	Насока	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT=Back (Грешен набор! Заредете EZ1 DSP Virus Kit ENT=Назад)
5	Насока	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Наборът е с изтекъл срок на годност ENT: Използвайте нов набор ESC: Спиране на протокола)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 3. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
6	Проследяване на данни	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6 (Използвайте данните от Q-картата с алиquotна част № 1 до Въведете от 1 до 6)
7	Насока	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no (Желаете ли да обработите още алиquotни части с друга партида от набора? ENT: Да, ESC: Не)
8	Проследяване на данни	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No (Желаете ли да добавите ID на алиquotна част? ENT: Да, ESC: Не)
9	Проследяване на данни	Scan/enter sample ID sample no. [X] (Сканирайте/въведете ID за алиquotна част № [x])
10	Проследяване на данни	ID1: ID2: ID3: Next=ENT (ID1: ID2: ID3: ENT=Напред)
11	Проследяване на данни	ID4: ID5: ID6: Next=ENT, ID1-3=Up (ID4: ID5: ID6: ENT=Напред, UP=ID1-3)
12	Проследяване на данни	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Желаете ли да добавите информация за анализа? ENT: Да, ESC: Не)
13	Проследяване на данни	Scan/enter assay ID ID sample no. [x] (Сканирайте/въведете ID на анализа ID на алиquotна част № [x])
14	Проследяване на данни	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Желаете ли да добавите бележки? ENT: Да, ESC: Не)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 3. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
15	Проследяване на данни	Scan/enter notes sample no. [x] (Сканирайте/въведете бележки за алиquotна част № [x])
16	Насока	Select sample volume: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl (Изберете обем на алиquotната част: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl)
17	Насока	Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Изберете обем на елуиране: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl)
18	Насока	You have chosen: Sample volume: [xxx] µl Elution volume: [yyy] µl Next=Any, Prev=Esc (Избрали сте: Обем на алиquotната част: [xxx] µl Обем на елуиране: [yyy] µl Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
19	Насока	Load cartridges at same positions as sample Next=Any, Prev=Esc (Заредете касетите на същите места като алиquotните части Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
20	Насока	Load empty 2.0 ml tubes at heating block Next=Any, Prev=Esc (Заредете празни епруветки от 2,0 ml в нагревателния блок Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
21	Насока	Load elution tubes (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=Esc (Заредете епруветки за елуиране (1,5 ml) на първи ред Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
22	Насока	Load tip holders and tips into second row Next=Any, Prev=Esc (Заредете държачи за крайници и крайници на втори ред Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 3. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
23	Насока	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC in third row Next=Any, Prev=Esc (Заредете епруветки от 1,5 ml, съдържащи cRNA и IC, на трети ред Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
24	Насока	Load 2.0 ml tubes with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc (Заредете епруветки от 2,0 ml с аликвотни части на четвърти ред Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
25	Насока	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc (Зареждането е завършено. Затворете вратата и натиснете START ESC=Назад)
26	Насока	Please close door! (Моля, затворете вратата!)
27	Насока	Checking temperature Set: Cur: (Проверка на температурата Зададена: Текуща:
28	Статус	Protocol started (Протоколът започна)
29	Статус	Piercing foil (Пробиване на фолиото)
30	Статус	Collecting Elution Buffer AVE (Вземане на елуиращ буфер Buffer AVE)
31	Статус	Collecting cRNA + IC (Вземане на cRNA + IC)
32	Статус	Collecting Lysis Buffer (Вземане на буфер за лизиране)
33	Статус	Collecting Sample (Вземане на аликвотна част)
34	Статус	Collecting Proteinase K (Вземане на протеиназа K)
35	Статус	Mixing lysate (Разбъркване на лизата)
36	Статус	15 min Incubation [x] of 43 min left (15-минутна инкубация Остават [x] от 43 мин)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 3. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
37	Статус	Kick [x] of 43 min left (Изтласкване) Остават [x] от 43 мин)
38	Статус	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (Вземане на свързващ буфер) Остават [x] от 43 мин)
39	Статус	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Вземане на буфер за лизиране) Остават [x] от 43 мин)
40	Статус	Collecting Beads [x] of 43 min left (Вземане на зърна) Остават [x] от 43 мин)
41	Статус	Resuspension of Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left (Ресуспендиране на зърната в свързващ буфер) Остават [x] от 43 мин)
42	Статус	Transferring Lysate [x] of 43 min left (Прехвърляне на лизат) Остават [x] от 43 мин)
43	Статус	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (Свързване чрез магнитно отделяне) Остават [x] от 43 мин)
44	Статус	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Промиване 1) Магнитно отделяне Остават [x] от 43 мин)
45	Статус	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Промиване 2) Магнитно отделяне Остават [x] от 43 мин)
46	Статус	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Промиване 3) Магнитно отделяне Остават [x] от 43 мин)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 3. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
47	Статус	Drying Beads [x] of 43 min left (Изсушаване на зърната Остават [x] от 43 мин)
48	Статус	Rinse [x] of 43 min left (Изплакване Остават [x] от 43 мин)
49	Статус	Elution [x] of 43 min left (Елуиране Остават [x] от 43 мин)
50	Насока	Check transfer of cRNA + IC (row 3) Next=Any (Проверете прехвърлянето на cRNA + IC (ред 3) Произволен клавиш=Напред)
51	Насока	Check transfer of sample (row 4) Next=Any (Проверете прехвърлянето на алиquotната част (ред 4) Произволен клавиш=Напред)
52	Насока	Protocol finished (Протоколът завърши)
53	Проследяване на данни	Transfer Report file, attempt no. (Прехвърляне на файл с отчет, опит №)
54	Насока	Report file sent Next=ENT (Файлът с отчета е изпратен ENT=Напред)
55	Насока	Report file could not be sent Resend=ENT (Файлът с отчета не може да бъде изпратен ENT=Повторно изпращане)
56	Насока	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (Желаете ли да извършите цикъл с УВ светлина?) ENT: Да, ESC: Не)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 3. Съобщения в процедурата EZ1 Advanced DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
57	Насока	UV decontamination Set time min Key: 0–9, ENT (УВ обеззаразяване Зададено време мин Клавиш: 0–9, ENT)
58	Насока	UV decontamination. Time must be between 20–60 min Key:ESC (УВ обеззаразяване. Времето трябва да е между 20 и 60 мин Клавиш: ESC)
59	Насока	UV decontamination Time left: min (УВ обеззаразяване Оставащо време: мин)
60	Насока	Perform regular maintenance after each run ESC=Main menu (След всеки цикъл трябва да се извършва редовна поддръжка ESC=Главно меню)
53	Проследяване на данни	Transfer Report file, attempt no. (Прехвърляне на файл с отчет, опит №)
54	Насока	Report file sent Next=ENT (Файлът с отчета е изпратен ENT=Напред)
61	Насока	UV lamp expires soon UV runs left: ENT=continue (Срокът на годност на УВ лампите изтича скоро Оставащи цикли с УВ светлина ENT=Напред)
62	Насока	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort (УВ лампата е с изтекъл срок на годност ENT=Напред ESC=Прекратяване)
63	Насока	Decontamination UV lamp cooling Please stand by (УВ лампата за обеззаразяване се охлажда Моля, изчакайте)

Таблица 4. Съобщения в процедурата BioRobot EZ1 DSP Virus

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на BioRobot EZ1 DSP
Няма	Насока	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Дата/Час START: Цикъл 1: УВ 2: Ръчно 3: Тест 4: Настройка Клавиш: START, 1, 2, 3, 4)
1	Насока	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus Версия 1.0)
2	Проследяване на данни	Scan/enter user ID (Сканирайте/въведете потребителски ID)
3	Насока	Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Изберете обем на елуиране: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl)
4	Насока	You have chosen: Sample Volume:[sample volume] µl Elution Volume:[elution volume] µl Next=Any, Prev=ESC (Избрали сте: Обем на аликвотната част: [sample volume] µl Обем на елуиране: [elution volume] µl Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
5	Насока	Load cartridges (RCV) at same positions as samples Next=Any, Prev=ESC (Заредете касетите (RCV) на същите места като аликвотните части Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 4. Съобщения в процедурата BioRobot EZ1 DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на BioRobot EZ1 DSP
6	Насока	Load empty 2.0 ml tubes (ST) at heating block Next=Any, Prev=ESC (Заредете празни епруветки (ST) от 2 ml в нагревателния блок Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
7	Насока	Load elution tubes (ET) (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=ESC (Заредете епруветки за елуиране (ET) (1,5 ml) на първи ред Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
8	Насока	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC (Заредете държачи за крайници (DTH) и крайници (DFT) на втори ред Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
9	Насока	Load 1.5 ml tubes (ET) with (CARRIER) + IC in third row Next=Any, Prev=ESC (Заредете епруветки (ET) от 1,5 ml със cRNA (CARRIER) + IC на трети ред Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
10	Насока	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=ESC (Заредете епруветки (ST) от 2 ml с алиquotна част на четвърти ред Произволен клавиш=Напред, ESC=Назад)
11	Насока	Start protocol Press START Prev=ESC (Стартирайте протокола Натиснете START ESC=Назад)
12	Статус	Checking Temperature Set: 63.0 [deg] Cur: [deg] (Проверка на температурата Зададена: 63,00 [deg] Текуща: [deg])
13	Статус	Protocol started (Протоколът започна)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 4. Съобщения в процедурата BioRobot EZ1 DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на BioRobot EZ1 DSP
14	Статус	Piercing foil (Пробиване на фолиото)
15	Статус	Collecting Elution Buffer (Вземане на елуиращ буфер Buffer AVE)
16	Статус	Collecting cRNA (Вземане на cRNA)
17	Статус	Collecting Lysis Buffer (Вземане на буфер за лизиране)
18	Статус	Collecting Sample (Вземане на алиquotна част)
19	Статус	Collecting (Вземане)
20	Статус	Mixing lysate (Разбъркване на лизата)
21	Статус	Checking Temperature Set: 56.0 [deg] Cur: [deg] (Проверка на температурата Зададена: 56,00 [deg] Текуща: [deg])
22	Статус	15 min Incubation (15-минутна инкубация)
23	Статус	Kick (Изтласкване)
24	Статус	Collecting Binding Buffer (Вземане на свързващ буфер)
25	Статус	Collecting Lysis Buffer (Вземане на буфер за лизиране)
26	Статус	Collecting Beads (Вземане на зърна)
27	Статус	Resuspension of Beads in Binding Buffer (Ресуспендиране на зърната в свързващ буфер)
28	Статус	Transferring Lysate (Прехвърляне на лизат)
29	Статус	Binding Magnetic Separation (Свързване чрез магнитно отделяне)
30	Статус	Wash 1 Magnetic Separation (Промиване 1, Магнитно отделяне)
31	Статус	Wash 2 Magnetic Separation (Промиване 2, Магнитно отделяне)

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 4. Съобщения в процедурата BioRobot EZ1 DSP Virus (продължение)

Номер на съобщението	Тип съобщение	Текст на съобщението на BioRobot EZ1 DSP
32	Статус	Wash 3 Magnetic Separation (Промиване 3, Магнитно отделяне)
33	Статус	Dry Beads (Изсушаване на зърната)
34	Статус	Kick (Изтласкване)
35	Статус	Dry Beads (Изсушаване на зърната)
36	Статус	Kick (Изтласкване)
37	Статус	Rinse (Изплакване)
38	Статус	Checking Temperature Set: 65.0 [deg] Cur: [deg] (Проверка на температурата Зададена: 65,00 [deg] Текуща: [deg])
39	Статус	Elution (Елуиране)
40	Насока	Check transfer of cRNA (CARRIER)+ IC (tube [ET], row 3) Next=Any (Проверете прехвърлянето на cRNA (CARRIER) + IC (епруветка [ET], ред 3) Произволен клавиш=Напред)
41	Насока	Check transfer of sample (tube [ST], row 4) Next=Any (Проверете прехвърлянето на алиquotната част (епруветка [ST], ред 4) Произволен клавиш=Напред)
42	Насока	Protocol finished! Press ESC to return to Menu (Протоколът завърши! Натиснете ESC, за да се върнете в менюто)

Приложение В: Изчисляване на количеството вътрешна контрола (Internal Control, IC)

За да се следи ефективността на подготовката на алиquotните части и по-нататъшния анализ, може да се наложи към процедурата за подготовка на алиquotните части да се добави вътрешна контрола (Internal Control, IC). За да се изчисли количеството вътрешна контрола (Internal Control, IC), изисквано за протокола EZ1 DSP Virus, трябва да се вземат предвид обеят на буфера, съдържащ IC и добавен за алиquotна част, и обеят на елуиране за дадения анализ.

Определяне на количеството вътрешна контрола (Internal Control, IC), което ще присъства в реакциите надолу по веригата

За да определите обема на вътрешната контрола (Internal Control, IC), който ще присъства в даден последващ анализ, използвайте формулата:

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

където:

IC_{RXN} = Обем на вътрешната контрола (Internal Control, IC) за реакция надолу по веригата

IC_{LB} = Обем на вътрешната контрола (Internal Control, IC), добавен към буфера за лизиране (LB)

LB_{SAM} = Обем на буфера за лизиране (LB) за всяка алиquotна част

EL_{RXN} = Обем на елуата за всяка реакция надолу по веригата

LB_{TOT} = Общ обем на буфера за лизиране (LB) плюс носеща РНК (CARRIER), използван в протокола

EL_{SAM} = Обем на елуата за всяка аликвотна част

Например с помощта на въведена по-рано система за анализи Потребител 1 добавя 39 μ l разтвор на вътрешна контрола (Internal Control Solution, ICLB) към 8,4 ml буфер за лизиране (LB) и 140 μ l носеща РНК (CARRIER). Като използва референтната процедура в наръчника за системата за анализи, той добавя 625 μ l буфер за лизиране (LB) към всяка аликвотна част (LB_{SAM}) и използва обем на елуиране от 75 μ l (EL_{SAM}). Потребител 1 използва 50 μ l елуат за всяка реакция надолу по веригата (EL_{RXN}). Обемът разтвор на вътрешната контрола във всяка реакция надолу по веригата (IC_{RXN}) е:

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

Финалните реакции надолу по веригата за дадената система за анализи съдържат 1,89 μ l разтвор на вътрешна контрола за реакция.

Определяне на количеството разтвор на вътрешна контрола, което трябва да се добави преди стартиране

Ако сте наясно какво количество вътрешна контрола (Internal Control, IC) искате да участва в последващия анализ (IC_{RXN}), тогава трябва да определите и количеството вътрешна контрола (IC), което да бъде разрежено с елуиращ буфер (AVE) и носеща РНК (CARRIER) (IC_{AVE}), преди да стартирате пречишването. За да изчислите тази стойност, използвайте формулата:

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

където:

IC_{AVE} = Обем на вътрешната контрола (Internal Control, IC), разреден в елуиращ буфер-носител PHK (AVE-CARRIER)

IC_{RXN} = Обем на вътрешната контрола (Internal Control, IC) за всяка реакция надолу по веригата

IC_{TOT} = Общ обем разредена вътрешна контрола (Internal Control, IC) в елуиращ буфер-носител PHK (AVE-CARRIER) за всеки цикъл

IC_{SAM} = Обем разредена вътрешна контрола (Internal Control, IC), добавен към всяка аликвотна част

EL_{SAM} = Обем на елуата за всяка аликвотна част

EL_{RXN} = Обем на елуата за всяка реакция надолу по веригата

Например Потребител 2 работи върху анализ, оптимизиран за употреба с 1,0 μ л разтвор на вътрешна контрола на реакция (IC_{RXN}) и 20 μ л елуат на реакция (EL_{RXN}). Потребител 2 следва протокола EZ1 DSP Virus и избира количество елуат от 60 μ л (EL_{SAM}). За всяка обработена аликвотна част трябва ръчно да се пипетира обем от 60 μ л разредена вътрешна контрола (Internal Control, IC) в епруветка (ET) от 1,5 ml в позиция 3 на работната маса на EZ1 или на ред В на работната маса на EZ1, но по време на процеса на подготовка на аликвотната част от протокола EZ1 DSP Virus апаратът EZ1/EZ2 ще прехвърли само 50 μ л от разредената вътрешна контрола (IC_{SAM}) от ямка 3/ред В към реакцията на свързване. Необходимият общ обем разредена вътрешна контрола (Total Volume of Diluted Internal Control, IC_{TOT}) за 6-те аликвотни части, които се обработват в един цикъл, е:

$IC_{\text{TOT}} = \text{Брой аликвотни части на цикъл} \times 60 \mu\text{l}$

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

Обемът на разтвора на вътрешна контрола (IC_{AVE}), от който се нуждае Потребител 2 за 6 аликвотни части, е:

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

За всяка аликвотна част трябва да се добави 3,6 μl изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER) с 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ към IC разреждането. Трябва да се изчисли общият обем за 6 аликвотни части:

Общ обем на изходната носеща РНК = 6 x 3,6 μl изходна носеща РНК = 21,6 μl

За краен общ обем от 360 μl разреждана вътрешна контрола (Internal Control, IC) потребителят трябва да добави елуиращ буфер (AVE):

Обем елуиращ буфер (AVE) = $IC_{\text{TOT}} - IC_{\text{AVE}} - \text{Обем носеща РНК (CARRIER)}$

$$= 360 \mu\text{l} - 21,6 \mu\text{l} - 21,6 \mu\text{l} = 316,8 \mu\text{l}$$

Потребител 2 трябва да добави 21,6 μl разтвор на вътрешна контрола към 316,8 μl елуиращ буфер (AVE) и 21,6 μl носеща РНК (CARRIER), за да получи 360 μl разреждана вътрешна контрола (Internal Control, IC). 60 μl от тази разреждана вътрешна контрола (Internal Control, IC) трябва ръчно да се прехвърлят в епруветки (ET) от 1,5 ml в позиция 3 на работната маса EZ1 или на ред В на работната маса EZ2 преди стартиране на протокола EZ1 DSP Virus.

Приложение С: Бланка с алиquotни части за употреба със система EZ1 DSP Virus

Тази образец на бланка с алиquotни части може да ви бъде от полза за водене на регистри, когато използвате процедурата EZ1 DSP Virus. Тази бланка може да бъде фотокопирана или отпечатана и етикетирана с описания на алиquotните части и подробности за цикъла.

Система EZ1 DSP Virus

Дата/Час: _____ Партиден номер на набора: _____

Оператор: _____ Идентификатор за изпълнение: _____

Сериен номер на **EZ1**: _____

Позиция на работната маса	Идентификатор на алиquotната част	Материал на алиquotната част	Заредени ли са RCV и празна епруветка?	Заредена ли е ST?	Заредена ли е ET?	Заредени ли са DTH с DFT?	Заредена ли е ET с CARRIER и IC?
1 (ляво)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14 (дясно)							

Дата/Час: _____ Партиден номер на набора: _____

Оператор: _____ Идентификатор за изпълнение: _____

Сериен номер на **EZ2**: _____

Позиция на работната маса	Идентификатор на аликвотната част	Материал на аликвотната част	Заредени ли са RCV и празна епруветка?	Заредена ли е ST?	Заредена ли е ET?	Заредени ли са DTH с DFT?	Заредена ли е ET с CARRIER и IC?
1 (ляво)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24 (дясно)							

Информация за поръчка

Продукт	Съдържание	Кат. №
EZ1 DSP Virus Kit (48)	За 48 подготовки на вирусни нуклеинови киселини и/или бактериална ДНК: Фабрично заредени касети с реактиви, държачи за крайници за еднократна употреба, филтърни крайници за еднократна употреба, епруветки за аликвотни части, епруветки за елуиране, буфери, носеща РНК	62724
EZ1 Advanced XL DSP Virus Card	Предварително програмирана карта за протокол EZ1 DSP Virus; за употреба с апарат EZ1 Advanced XL	9018703
EZ1 Advanced DSP Virus Card	Предварително програмирана карта за протокол EZ1 DSP Virus; за употреба с апарат EZ1 Advanced	9018306
EZ1 DSP Virus Card	Предварително програмирана карта за протокол EZ1 DSP Virus; за употреба с апарат BioRobot EZ1 DSP*	9017707
EZ1 Advanced XL	Роботизиран апарат за автоматизирано пречистване на нуклеинови киселини от до 14 аликвотни части с помощта на набори EZ1 Kit, 1-годишна гаранция на части и труд*	9001492

* Препоръчва се Warranty PLUS 2 (кат. № 9237720): 3-годишна гаранция, 1 профилактично посещение за поддръжка на година, 48-часово отзоваване с приоритет, за целия труд, транспорт и части за ремонт.

Продукт	Съдържание	Кат. №
EZ2 Connect MDx	Настолен апарат за паралелно автоматизирано изолиране на нуклеинови киселини от до 24 аликвотни части с помощта на запечатани, предварително напълнени касети EZ1 Kit; включва 1-годишна гаранция на части и труд WiFi връзка за лесна употреба на LIMS и QIASphere	9003230
Buffer ASL (4 x 140 mL)	4 x 140 ml Buffer ASL	19082

За актуална лицензионна информация и заявления за освобождаване от отговорност за конкретни продукти вижте инструкциите за употреба на съответния набор QIAGEN. Ръководствата за употреба на набора QIAGEN са достъпни на адрес www.qiagen.com или могат да бъдат заявени от отдела за технически услуги на QIAGEN или местния ви дистрибутор.

Хронология на редакциите на документа

Редакция	Описание
R1, юни 2022 г.	<ul style="list-style-type: none">• Нова версия V5 на набора съгласно новия регламент на ЕС 2017/746 (IVDR)• Добавено описание на употребата на новия апарат EZ2 Connect MDx• Актуализация на предоставените материали (добавени активни съставки)• Актуализация на раздела с ограничения: от предназначена употреба са премахнати материали за аликвотната част – цяла кръв, урина, изсушени тампони, слюнка• Актуализация на предупрежденията и предпазните мерки• Актуализация на съхранението и боравенето с реактиви• Актуализация на стабилността при употреба на носещата РНК• Добавен е раздел „Изхвърляне“• Актуализация на ръководството за отстраняване на проблеми
R2, ноември 2022 г.	Коригирани са каталожният номер и името на реактива под таблицата със съдържанието на набора.

Ограничено лицензно споразумение за EZ1 DSP Virus Kit

Употребата на този продукт означава, че всеки купувач или потребител на продукта приема следните условия:

1. Продуктът може да се използва само по протоколите, предоставени с продукта и този наръчник, и само с компонентите, съдържащи се в набора. QIAGEN не предоставя лиценз по никакви права върху своята интелектуална собственост за употребата или включването на приложените компоненти на този набор с компоненти, които не са включени в този набор, освен както е описано в протоколите, предоставени с продукта, този наръчник и допълнителните протоколи, които могат да се изтеглят от адрес www.qiagen.com. Някои от тези допълнителни протоколи са предоставени от потребители на QIAGEN за потребители на QIAGEN. Тези протоколи не са тествани щателно или оптимизирани от QIAGEN. QIAGEN не дава гаранция за тях и не гарантира, че те не нарушават правата на трети страни.
2. Освен изрично посочените лицензи, QIAGEN не дава гаранция, че този набор и/или неговата употреба не нарушават правата на трети страни.
3. Този набор и неговите компоненти се лицензират за еднократна употреба и не могат да се използват повторно, обновяват или препродават.
4. QIAGEN изрично се освобождава от всички други лицензи, изрични или подразбиращи се, с изключение на изрично заявените.
5. Купувачът и потребителят на набора се съгласяват да не предприемат и да не позволяват на други лица да предприемат стъпки, които могат да улеснят или да доведат до някое от действията, забранени по-горе. QIAGEN може да прилага забраните в настоящото Ограничено лицензно споразумение във всеки съд и ще възстанови всички свои разходи за разследване и съдебни разноски, включително адвокатските хонорари, при всяко действие за прилагане на настоящото Ограничено лицензно споразумение или упражняване на всяко от своите права върху интелектуална собственост във връзка с набора и/или неговите компоненти.

Актуалните условия на лиценза ще намерите на www.qiagen.com.

Търговски марки: QIAGEN®, Sample to Insight®, EZ1®, EZ2®, BioRobot® (QIAGEN Group). Регистрираните имена, търговските марки и пр., използвани в настоящия документ, дори ако не са изрично обозначени като такива, не се считат за незащитени от закона.

Ноември-2022 HB-3026-002 1129846BG © 2022 QIAGEN, всички права запазени.

Поръчки: www.qiagen.com/shop | Техническа поддръжка support.qiagen.com |
Уебсайт www.qiagen.com