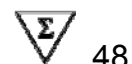


# Наръчник за EZ1<sup>®</sup> DSP Virus Kit



Версия 4



За инвитро диагностична употреба



62724



1066790BG



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANY

R4



1066790BG



## QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN е водещ доставчик на иновативни технологии за обработка на проби и анализи, позволяващи изолирането и откриването на съдържание във всяка биологична проба. Нашите напреднали, висококачествени продукти и услуги гарантират успех от пробата до резултата.

### **QIAGEN поставя стандарти в:**

Пречистването на ДНК, РНК и протеини

Анализ на нуклеинови киселини и протеини

Изследване на микроРНК и РНКi

Автоматизиране на технологии за проби и анализи

Мисията ни е да ви позволим да постигнете изключителен успех и важни научни открития. За повече информация, посетете [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## **Съдържание**

<b>Предназначение</b>	5
<b>Обобщение и обяснение</b>	5
<b>Принципи на процедурата</b>	6
<b>Предоставени материали</b>	8
Съдържание на кита	8
<b>Необходими, но непредоставени материали</b>	9
<b>Предупреждения и предпазни мерки</b>	11
<b>Съхранение и боравене с реактивите</b>	12
<b>Съхранение и боравене с пробите</b>	13
<b>Процедура</b>	14
Работа с EZ1 инструментите	14
Подготовка на носещата РНК (CARRIER)	20
Използване на вътрешна контрола (IC)	21
Обеми на промиване и елуиране	21
Съхранение на вирусни нуклеинови киселини/бактериална ДНК	22
<b>Характеристики на работа</b>	22
<b>Протокол: Предварителна обработка на урина</b>	23
<b>Протокол: Пречистване на цяла кръв</b>	24
<b>Протокол: Предварителна обработка на изпражнения</b>	25
<b>Протокол: Предварителна обработка на сухи тампони</b>	27
<b>Протокол: Предварителна обработка на вискозни дихателни проби</b>	28
<b>Протокол: Предварителна обработка за изолиране на геномна ДНК от грам положителни бактерии</b>	29
<b>Протокол: Пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК</b>	30
<b>Качествен контрол</b>	34
<b>Ограничения</b>	34
<b>Символи</b>	35
<b>Референции</b>	36
<b>Контакти</b>	36
<b>Отстраняване на проблеми</b>	37
<b>Приложение А: Показване на съобщения</b>	41

<b>Приложение В: Изчисляване на количеството вътрешна контрола (IC)</b>	<b>60</b>
<b>Приложение С: Бланка с проби за използване със системата EZ1 DSP Virus</b>	<b>63</b>
<b>Приложение D: Пример за отчет на EZ1 Advanced</b>	<b>65</b>
<b>Информация за заявка</b>	<b>67</b>

## Предназначение

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

Продуктът е предназначен за използване от професионалисти като техници и лекари, обучени за работа с молекулярно биологични техники.

Системата EZ1 DSP Virus е предназначена за употреба в ин витро диагностиката.

## Обобщение и обяснение

Китът EZ1 DSP Virus предоставя напълно автоматизирана процедура за едновременно пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК от следните пробни материали, използвайки EZ1 инструментите:

Серум и плазма

Ликвор (CSF)

Урина

Цяла кръв

Изпращания

Транспортна среда

Дихателни проби

Сухи тампони

Китът може да се използва за пречистване на нуклеинови киселини от широк спектър ДНК-ови и РНК-ови вируси, както и на ДНК от бактерии. Въпреки това, работата на кита не е гарантирана за всеки вид патогени за която и да е проба и трябва да се валидира от потребителя. Технологията на магнитните частици позволява пречистване на висококачествени нуклеинови киселини, в които няма протеини, нуклеази и други примеси. Пречистените нуклеинови киселини са готови за използване при високочувствителна детекция в последващи анализи, като амплификация или ензимни реакции. EZ1 инструментът извършва всички процедури по подготовката на пробата за до 6 проби (използвайки EZ1 Advanced или BioRobot EZ1 DSP\*) или до 14 проби (използвайки EZ1 Advanced XL) в единичен опит.

\* Не се предлага в САЩ и Канада.

## **Принципи на процедурата**

Технологията на магнитните частици комбинира скоростта и ефикасността на пречистването на нуклеинови киселини върху силициев диоксид нуклеинова с удобното боравене с магнитни частици.

Процедурата по пречистване е разработена така, че да гарантира безопасно и възпроизводимо боравене с потенциално инфекциозни проби. Пречистващата процедура включва 4 стъпки: лизиране, свързване, промиване и елуиране (виж по-долу и схемата).

Предварителната обработка на пробата е важна при урина, цяла кръв, изпражнения, дихателни проби и сухи тампони. Вижте протокола за предварителна обработка за съответния материал на пробата.

### **Лизиране с протеиназа К**

Протеолиза на пробите се извършва във високо денатуриращи условия при високи температури. Лизирането се извършва в присъствието на протеиназа К и лизиращ буфер, които заедно осигуряват разграждането на протеините от вирусната обвивка и деактивират нуклеазата.

### **Свързване на магнитните частици**

Към лизираните проби се добавя свързващ буфер за настройване на условията на свързване. Лизатите се смесват грижливо с магнитните частици за постигане на оптимална адсорбция на вирусните нуклеинови киселини и бактериалната ДНК на силиконовата повърхност. Солевите и рН условия гарантират, че протеинът и другите замърсители, които могат да възпрепятстват PCR и другите последващи ензимни реакции, няма да се свържат с магнитните частици.

### **Промиване на свързаните нуклеинови киселини**

Докато вирусните нуклеинови киселини и бактериалната ДНК остават свързани с магнитните частици, замърсителите ефикасно се отмиват по време на поредица от стъпки за промиване като първо се използва промиващ буфер 1, след това промиващ буфер 2 и накрая етанол.

### **Елуиране на чистата нуклеинова киселина**

В една единствена стъпка, изключително чистите нуклеинови киселини се елуират в елуиращ буфер (AVE). Пречистените нуклеинови киселини могат веднага да се използват в последващи приложения или да се съхранят за бъдеща употреба.

## EZ1 DSP Virus Процедура

Серум, плазма, ликвор, транспортна среда или предварително обработена урина, цяла кръв, изпражнения, дихателни проби или сухи тампони



Лизиране с протеиназа К и лизиращ буфер



Магнитни частици и свързващ буфер се добавят към лизатите



Нуклеиновите киселини се свързват с магнитните частици



Магнитна сепарация



Измиване с буфер 1, след това измиване с буфер 2, след това с етанол



Магнитна сепарация



Елуиране с елуиращ буфер (AVE)



Пречистена, висококачествена вирусна нуклеинова киселина и/или бактериална ДНК

## Предоставени материали

### Съдържание на кита

EZ1 DSP Virus Kit			(48)
Каталожен номер			62724
Брой проби			48
RCV	Reagent Cartridges, Virus* <sup>†</sup>	<b>REAG</b> <b>CART</b> <b>VIRUS</b>	48
DTH	Disposable Tip Holders	<b>DISP</b> <b>TIP</b> <b>HOLD</b>	50
DFT	Disposable Filter-Tips	<b>DISP</b> <b>FILT</b> <b>TIP</b>	50
ST	Sample Tubes (2 ml)	<b>SAMP</b> <b>TUBE</b>	100
ET	Elution Tubes (1.5 ml)	<b>ELU</b> <b>TUBE</b>	100
CARRIER	Carrier RNA	<b>CAR</b> <b>RNA</b>	310 µg
AVE	Elution Buffer <sup>†</sup>	<b>ELU</b> <b>BUF</b>	3 x 2 ml
	Q-Card <sup>‡</sup>		1
	Handbook	<b>H</b> <b>B</b>	1

\* Съдържа гуанидинова сол. Несъвместим с дезинфектанти, съдържащи белина. Вижте стр. 11 за информация за безопасността.

<sup>†</sup> Съдържа натриев азид като консервант.

<sup>‡</sup> Информацията кодирана в бар кода на Q-картата е необходима за регистриране на данните на реактива, използвайки EZ1Advanced и EZ1 Advanced XL инструментите.



## Необходими, но непредоставени материали

Когато работите с химикали, винаги носете подходящо лабораторно облекло, еднократни ръкавици и защитни очила. За повече информация, обърнете се към съответните листове за безопасност (SDSs), налични при доставчика на продукта.

### Всички протоколи

Пипети\* и стерилни, без РНazi връхчета за пипети

Мека хартиена кърпа

Вода

70% етанол

По желание: вортекс\* (ако замразени проби трябва да се миксират)

### За предварителна обработка на урина и цяла кръв

ATL (каталожен номер 939016)

### За предварителна обработка на изпражнения

Buffer ASL (каталожен номер 19082)

Вортекс

Термоклатачка\* или 70°C водна баня\*

### За предварителна обработка на сухи тампони

ATL (каталожен номер 939016)

Термоклатачка (56°C)\*

### За предварителна обработка на вискозни дихателни проби

Sputasol (Oxoid Limited; [www.oxoid.com](http://www.oxoid.com))

Термоклатачка\* или 37°C водна баня\*

### За изолиране на геномна ДНК от грам положителни бактерии

Lysozyme, Tris-HCl, EDTA, Triton X-100

Термоклатачка\* или 37°C водна баня\*

\* Уверете се, че инструментите са проверени, поддържани и редовно калибрирани съгласно препоръките на производителя.

### **За потребители на BioRobot EZ1**

BioRobot EZ1 DSP instrument\*† (каталожен номер 9001360)

EZ1 DSP Virus Card† (каталожен номер 9017707)

### **За потребители на EZ1 Advanced**

EZ1 Advanced instrument\* (каталожен номер 9001411)

EZ1 Advanced DSP Virus Card (каталожен номер 9018306)

### **За потребители на EZ1 Advanced XL**

EZ1 Advanced XL instrument\* (каталожен номер 9001492)

EZ1 Advanced XL DSP Virus Card (каталожен номер 9018703)

### **За потребители на EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL**

За проследяване на пробите, са необходими:

PC и TFT монитор, 17" (QIAGEN cat. no. 9016643), (или ваш собствен PC и монитор) с EZ1 Advanced Communicator Software (доставен софтуер заедно с EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL инструментите)

Принтер (каталожен номер 9018464) и пакет принадлежности към принтер (каталожен номер 9018465)

\* Уверете се, че инструментите са проверени, поддържани и редовно калибрирани съгласно препоръките на производителя.

† Не се предлага в САЩ и Канада.

## Предупреждения и предпазни мерки

За използване при ин витро диагностика.

Когато работите в химикали, винаги носете подходящо лабораторно облекло, еднократни ръкавици и предпазни очила. За повече информация, консултирайте със съответните листове за безопасност (SDSs). Можете да ги намерите онлайн в удобен и компактен PDF формат на [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) където можете да видите, разгледате и отпечатате SDS за всеки QIAGEN кит и съставка на кита.



**ВНИМАНИЕ:** НЕ добавяйте белина или кисели разтвори директно към отпадъка от подготовката на пробата.

Някои буфери в касетите с реактиви (RCV) съдържат гуанидин хидрохлорид или гуанидин изотиоцианат, които могат да образуват силно реактивни компоненти, когато се смесят с белина.

Ако течност, съдържаща тези буфери се разлее, почистете с подходящ лабораторен почистващ препарат и вода. Ако течност, съдържаща потенциално замърсяващи агенти се разлее върху EZ1 инструмента, дезинфектирайте инструмента с препарат, описан в наръчника, който е приложен към вашия EZ1 инструмент.

Счупени и течачи касети с реактиви (RCV) трябва да се изхвърлят съгласно местните правила за безопасност. Не използвайте повредени касети за реактиви (RCV) или други компоненти на кита, тъй като тяхната употреба може да доведе до лош резултат при използването на кита.

QIAGEN не е тествал течния отпадък, произведен по време на EZ1 DSP Virus процедурата за остатъчни инфекциозни материали. Заразяването на отпадната течност с остатъчни инфекциозни материали е твърдо необичайно, но не може напълно да бъде изключено. Затова остатъчният течен отпадък трябва да се счита за заразен и да се третира и унищожава съгласно местните правила за безопасност.

Следните предупреждения и препоръки за безопасност са приложими за компонентите на EZ1 DSP Virus Kit:

#### Reagent Cartridge, Virus Mini, v2.0 CE



Съдържа: етанол; гуанидин тиоцианат; изопропанол. Опасност! Предизвиква тежки изгаряния на кожата и поражява очите. Силни запалими течност и изпарения. Изхвърлете съдържанието/контейнера в удобено за целта съоръжение. АКО ПОПАДНЕ В ОЧИТЕ: Внимателно изплакнете с вода в продължение на няколко минути. Отстранете контактните лещи, ако имате такива и можете лесно да го направите. Продължете с плакненето. АКО ПОПАДНЕ ВЪРХУ КОЖАТА (или косата): Свалете / отстранете незабавно заразено облекло. Изплакнете кожата с вода / вземете душ. Незабавно се обадете в Център по зарази (отрови) или на лекар. Пазете от топлина / искри / открити пламъци / горещи повърхности. Не пушете. Съхранявайте на добре проветрено място. Дръжте на хладно. Носете предпазни ръкавици / защитно облекло / защита на очите / защита за лицето.

## Съхранение и боравене с реактивите

Съхранявайте касетите с реактив (RCV) изправени и при стайна температура (15–25°C). Когато се съхраняват при такава температура, магнитните частици в касетите с реактив (RCV) остават активни. **Не замразявайте касетите с реактив (RCV)**. Когато се съхраняват правилно, касетите с реактив (RCV) са стабилни до датата на срока им на годност на Q-Card и кутията на кита.

Лиофилизираната носеща РНК (CARRIER) е стабилна до изтичане на срока на годност върху кутията на кита, когато се съхранява на стайна температура.

Утайки могат да се образуват в буферите за предварителна подготовка ATL или ASL по време на съхранението им на стайна температура или при 2–8°C. Инкубирайте флаконите при 50–56°C за 15–20 минути и разклатете с ръка флаконите два пъти по време на инкубацията.

## Съхранение и боравене с пробите

По време на процедурата за предварителна подготовка, пробите трябва да се обработват по подходящ начин, за да се избегне смесване на проби.

Процедурата по пречистване е оптимизирана за 100 µl, 200 µl или 400 µl обем на пробите. За извличане на вирусни или бактериални нуклеинови киселини от изпражнения се препоръчва обем на пробата от 200 µl. За подготовка на плазма кръвните проби могат да се обработват с EDTA или цитрат в качеството му на антикоагулант. Пробите от плазма могат да бъдат пресни или замразени, стига да не са били замразявани отново след размразяването.

Цялата кръв трябва да се обработва като прясна проба. Ако е необходимо съхранение, препоръчваме съхранение на пробите от цяла кръв при 2–8°C за срок от 2 дни.

След събирането им (и центрофугиране в случаите на плазма и серум), пробите могат да се съхраняват при 2–8°C за срок от 6 часа. За по-продължително съхранение, препоръчваме замразяване на аликвоти от пробите отделно от цялата кръв при –80°C до –20°C. Размразявайте замръзналите проби на стайна температура (15–25°C) и обработвайте пробите веднага щом достигнат стайна температура. Не замразявайте отново аликвотите след размразяване. Повторното замразяване-размразяване води до денатуриране и утаяване на протеини, което пък води до намаляване на вирусните и бактериални титри и от там до намален добив на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК. Ако крио-утайките се виждат в пробите, центрофугирайте при 6800 x g за 3 минути ± 30 секунди, прехвърлете супернатантите в чисти епруветки без да разклащате пелетите и започнете веднага процедурата по пречистване. Тази стъпка няма да намали вирусните титри, но може да повлияе върху бактериалните титри.

За екстракцията на трудни за лизиране грам положителни бактерии, може да се извърши допълнителен прелизис, съдържащ смилане на лизозима, преди екстракцията с EZ1 инструмента (виж стр. 29 за “Протокол: Предварителна обработка за изолиране на геномна ДНК от грам положителни бактерии”).

# Процедура

## Работа с EZ1 инструментите

Основните характеристики на EZ1 инструментите включват:

Пречистване на висококачествени нуклеинови киселини от 1–6 или 1–14 проби на цикъл

Малко място, което заема в лабораторията

Предварително програмирани EZ1 DSP карти\* съдържащи готови за употреба протоколи

Предварително напълнени, запечатани касети с реактиви за лесна, сигурна и бърза настройка

Пълбна автоматизация за пречистване на нуклеиновата киселина

Допълнителни характеристики на EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL включващи:

Четене на бар код и проследяване на пробите

Проследяване данните на кита с Q-карта доставена с кита

UV лампа за елиминиране на преноса на проби от цикъл на цикъл и позволяваща обеззаразяването на повърхността на работната маса

**Забележка:** UV обеззаразяването подпомага да се намали възможното заразяване с патогени на повърхностите на работните маси на EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL. Ефективността на инактивиране трябва да се определи за всеки специфичен организъм и зависи, например, от дебелината на слоя и типа на пробата. QIAGEN не гарантира цялостно ликвидиране на специфичните патогени.

EZ1 DSP карти,\* EZ1 Advanced DSP карти и EZ1 Advanced XL DSP карти

Протоколите за пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК са запаметени в EZ1 карти. Потребителят просто вкарва EZ1 Advanced XL DSP картата в EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced DSP картата в EZ1 Advanced или EZ1 DSP картата\* в BioRobot EZ1 DSP инструмента\*, и след това инструментът е готов за стартиране на протокола (Фигури 1 и 2).

\* Не се предлага в САЩ и Канада.



Фигура 1. Опростено настройване на протокола с EZ1 DSP карта. Поставяне на EZ1 картата, препрограмирана с протокола, в EZ1 инструмента.

**Забележка:** Инструментът трябва да бъде включен едва след вкарването на приложимата EZ1 DSP Card. Уверете се, че приложимата EZ1 DSP Card е вкарана напълно! В противен случай важни данни за инструмента могат да се загубят, което да доведе до грешка в паметта. Приложимата EZ1 DSP Card не трябва да се сменя, докато инструментът е включен.



Фигура 2. Картата е напълно вкарана в гнездото си.

EZ1 DSP Virus китът изисква използването на EZ1 DSP Virus карта,\* EZ1 Advanced DSP Virus карта или EZ1 Advanced XL DSP Virus карта. Картите съдържат протоколи за пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК от серум, плазма, CSF, урина, цяла кръв, изпражнения, транспортна среда, сухи тампони и дихателни проби.

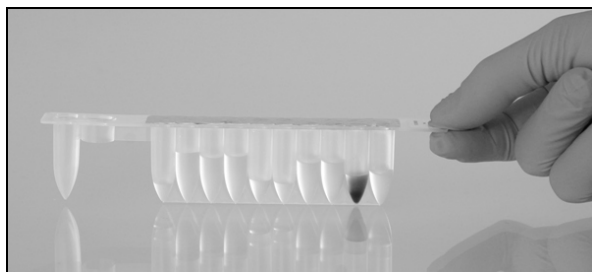
\* Не се предлага в САЩ и Канада.

### Касети с реактиви (RCV)

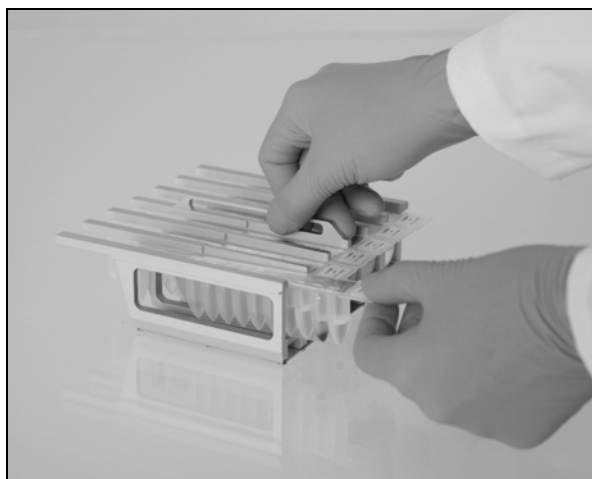
Реактивите за пречистване на нуклеинови киселини от единична проба се съдържат в една единствена касета с реактив (RCV) (Фигура3). Всяка ямка от касетата (RCV) съдържа определен реактив, като напр. магнитни частици, лизиращ буфер, измиващ буфер или свободен от РН-ази елуиращ буфер (AVE). Тъй като всяка ямка съдържа само необходимото количество реактив, генерирането на допълнителен отпадък поради останал реактив в края на процеса на пречистване е избегнато.

Касетите с реактив (RCV) доставени с EZ1 DSP Virus кита са предварително напълнени с цялото необходимо количество реактив за пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК, с изключение на носещата РНК (CARRIER). Носещата РНК (CARRIER) и вътрешните контроли (IC) (по желание) са добавени в епруветка, извън касетата с реактива (RCV).

**A**



**B**



Фигура3. Опростено настройване на инструмента с използване на касетата с реактиви (RCV). **A** Запечатана, предварително напълнена с реактиви касета (RCV). Нивото на напълване варира, в зависимост от типа на касетата с реактиви (RCV). **B** Зареждане на касетата с реактиви (RCV) в чекмеджето за касети. Самото чекмедже за касети е обозначено със стрелка, показваща посоката, в която трябва да се зареди касетата с реактиви (RCV).

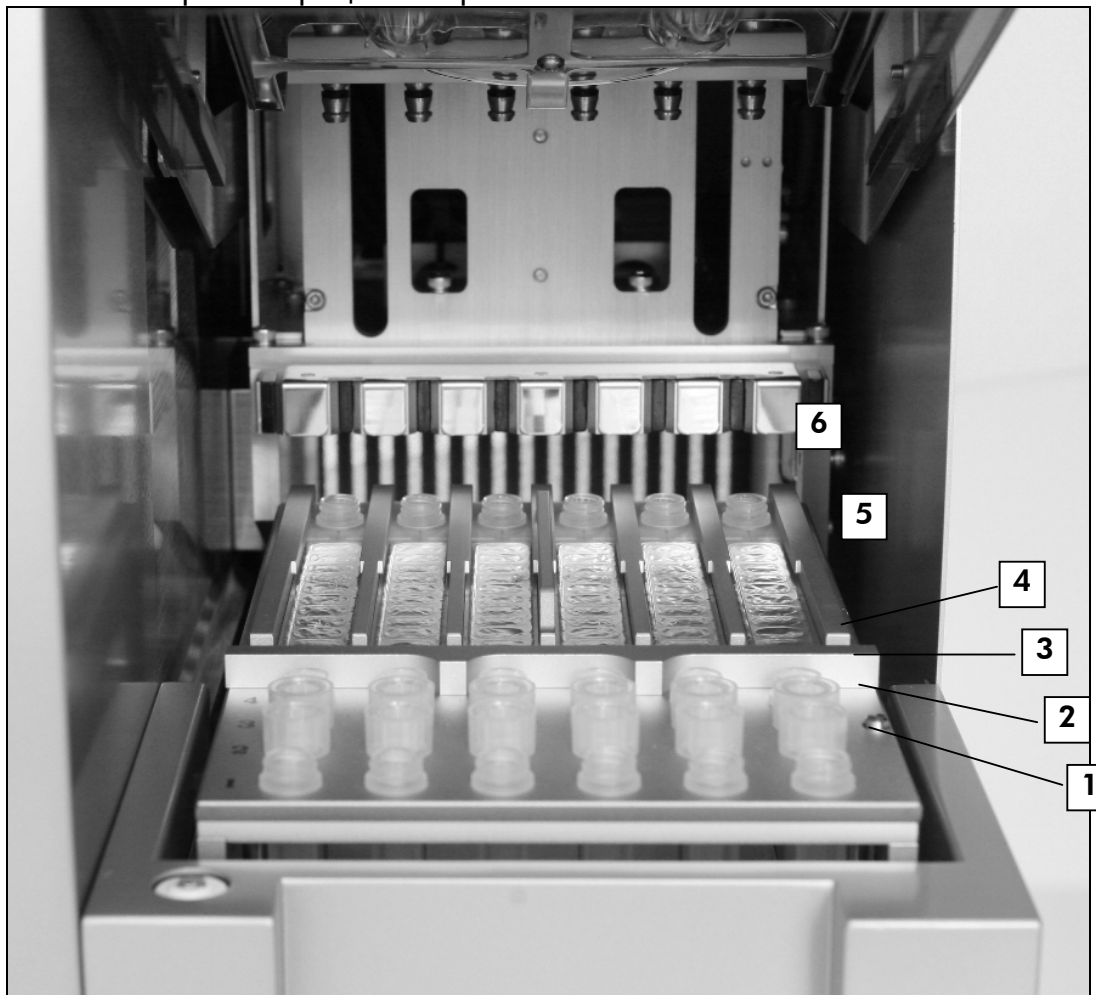


## Работна маса

Работната маса на EZ1 инструментите е мястото, където потребителят зарежда пробите и компонентите на EZ1 DSP Virus кита.

Детайли за настройката на работната маса се показват на вакуум флуоресцентния дисплей (VFD) на EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL или дисплея с течен кристал (LCD) на BioRobot EZ1 DSP\* контролния панел, когато потребителят започне настройването на работната маса.

Инструментът показва също така статуса на протокола по време на автоматизирания процес на пречистване.



Фигура 4. Работна маса на EZ1 инструмент.

1. Елуиращи епруветки (ET) (1.5 ml) заредени на първия ред.
2. Еднократни държачи за типчета (DTH) съдържащи еднократни филтърни връхчета (DFT) заредени във втория ред.
3. Епруветка (ET) (1.5 ml) съдържаща носеща РНК (CARRIER) и вътрешна контрола (IC) (ако се използва) в елуиращ буфер (AVE), заредени в третия ред.
4. Епруветки за проби (ST) (2 ml) заредени в четвъртия ред.

\* Не се предлага в САЩ и Канада.

5. Касетки с реактиви (RCV) заредени в чекмеджетата за касетки.
6. Подгриващ блок с 2 ml епруветки (ST) в касетите с реактив за лизиране.

### Проследяване на данните с EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL позволяват пълно проследяване на набор от данни за по-висок контрол на процеса и надеждност.

Партидният номер и срокът на годност на EZ1 DSP кита се въвеждат при стартиране на протокола като се използва бар кода на Q-картата. ID номерът и бар кодът на Q-картата могат да се въведат ръчно с помощта на клавиатурата или чрез сканиране на бар кодовете използвайки четец за бар кодове. Информацията за пробите и анализите може да се въведе по желание в началото на протокола. В края на процеса по протокола, се генерира автоматично файл с отчет. EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL може да запамети до 10 файла с отчети, а данните могат да се прехвърлят към персонален компютър или директно да се разпечатат на принтер (вижте “Последователност на процесите при работата на EZ1 DSP Virus”, стр. 19).

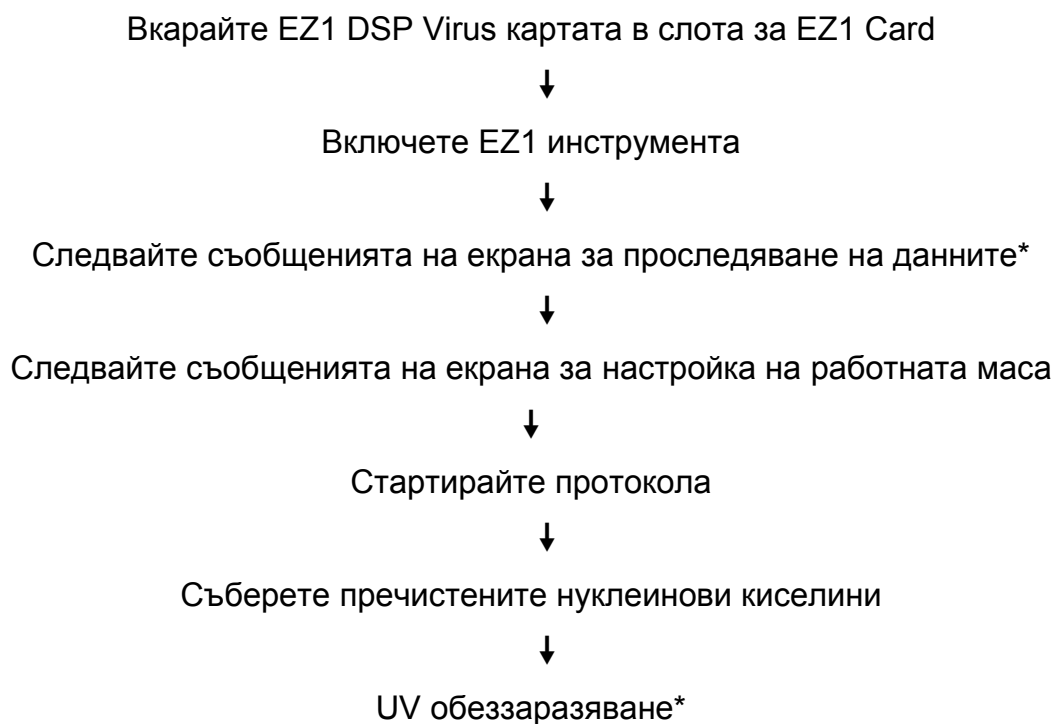
За да се получат отчети на PC, трябва да се инсталира EZ1 Advanced Communicator софтуера. Софтуерът получава файла с отчета и го запамята в папка, която вие сте определили. След като PC е получил файла с отчета, можете да използвате и обработвате файла с LIMS (Laboratory Information Management System) или други програми. Във файловете с отчети, 6-те пипетиращи канала на EZ1 Advanced са именувани от ляво надясно, канали A до F, или 14-те пипетиращи канала на EZ1 Advanced XL са именувани от ляво надясно като канали 1 – 14.

Когато се сканира ID на потребителя или бар кода на Q-картата с четец за бар код, звуков сигнал потвърждава въвеждането на данните. След като информацията се показва за 2 секунди, тя автоматично се запамята и се показва следващото съобщение на дисплея. Когато сканирате ID на пробата, ID на анализиращия кит или бележки, звуков сигнал потвърждава въвеждането на данните, информацията се показва на екрана и съобщение ви предупреждава да въведете следващия показател с информация. След като сканирате ID на пробата, ID на анализиращия кит или бележки, натиснете веднъж “ENT” за да потвърдите, че информацията е въведена правилно. Ако сте сканирали, например, грешен бар код за някоя от пробите, натиснете “ESC” и след това сканирайте отново бар кодовете на всички проби съгласно инструкциите, които излизат на екрана. ID на потребители и бележки в цифри, можете да въвеждате като използвате клавиатурата или можете лесно да генерирате собствени бар кодове, за да кодирате тези номера.

**Забележка:** За проследяване на данните, винаги започвайте да зареждате пробите от позиция A на EZ1 Advanced и позиция 1 на EZ1 Advanced XL. Поставете останалите проби последователно в следващите свободни позиции на работната маса.

За подробности относно проследяването с EZ1 Advanced Communicator софтуера, вижте *EZ1 Advanced* *наръчника* или *EZ1 Advanced XL* *наръчника*.

Последователност на процесите при работата на EZ1 DSP Virus



\* Само за EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL.

## Подготовка на носещата РНК (CARRIER)

Носещата РНК (CARRIER) служи за две цели по време на процедурата по пречистване. Първо, възпрепятства свързването на вирусните нуклеинови киселини и бактериалната ДНК към силиконовата повърхност на магнитните частици, особено, когато пробата съдържа много малко таргетни молекули. Второ, добавянето на голямо количество носеща РНК (CARRIER) намалява възможността за деградация на вирусната РНК в редките случаи, когато РНазите не са денатурирани от хаотропните соли и детергенти в лизиращия буфер. Ако носещата РНК (CARRIER) не се добави към реакцията, добивът на вирусната ДНК или РНК или бактериална ДНК ще намалее.

Лиюфилизираната носеща РНК (CARRIER) доставена към кита е достатъчна за подготовката на 48 проби. Концентрацията на носещата РНК(CARRIER) използвана в процедурата по пречистване позволява EZ1 DSP Virus китът да се използва като генерична пречистваща система, съвместима с различни системи за амплифициране и е подходяща за пречистване на нуклеинови киселини от широк спектър бактерии, ДНК-ови и РНК-ови вируси. Все пак, системите за амплифициране са различни по ефикасност и зависят от общия брой нуклеинови киселини, намиращи се в реакцията. Елуатите получени с помощта на EZ1 DSP Virus кита съдържат вирусни и бактериални нуклеинови киселини и носеща РНК (CARRIER), като количеството носеща РНК (CARRIER) във всеки елуат значително надвишава количеството на вирусните и бактериални нуклеинови киселини. За да се получи най-високо ниво на чувствителност в реакциите на амплификация, може да се наложи напасване на количеството носеща РНК (CARRIER) чрез добавяне на разтвор.

Разтворете лиюфилизираната носеща РНК (CARRIER) внимателно в 310 µl елуиращ буфер (AVE), разделете го в подходящи по размер аликвоти и съхранявайте при  $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ . Не замразявайте–размразявайте аликвотите повече от два пъти.

За всяка обработена проба, разтворете 3.6 µl от изходния разтвор на носещата РНК (CARRIER) в общ обем от 60 µl като използвате елуиращ буфер (AVE) (и/или разтвор с вътрешна контрола). 50 µl от този разтвор на носеща РНК–елуиращ буфер (CARRIER–AVE) се прехвърля в лизиращата смес, което съответства на 3 µg носеща РНК (CARRIER).

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

**Забележка:** Процедурата на пречистване е оптимизирана до тези 3 µg носеща РНК (CARRIER) които се добавят към пробата. Ако е указано различно количество носеща РНК (CARRIER) като по-добро за специфична система на амплификация, променете количеството на изходния разтвор на носещата РНК (CARRIER), което е смесено с елуиращия буфер (AVE) или използвайте различна концентрация на

изходния разтвор. Общото количество на разтвора на носещата РНК-елуиращия буфер (CARRIER–AVE) за проба трябва да бъде 60 µl, от които 50 µl се прехвърлят към лизиращия микс. Използването на различно количество носеща РНК (CARRIER) трябва да бъде валидирано за всеки отделен тип проба и последващ анализ.

## **Използване на вътрешна контрола (IC)**

Използването на EZ1 DSP Virus кита в комбинация с наличните на пазара системи за амплификация може да изисква въвеждането на вътрешна контрола (IC) в процедурата по пречистване, за да се наблюдава ефикасността при подготовка на пробите.

Вътрешната контрола на ДНК или РНК трябва да се комбинира с изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER) (3.6 µl) в един микс. За всяка проба, миксът на носеща РНК–вътрешна контрола (CARRIER–internal control) трябва да е с обем 60 µl, от които 50 µl ще се прехвърлят в лизиращия микс. Това количество съответства на 3 µl изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER) плюс 47 µl елуиращ буфер (AVE) и/или разтвор на вътрешна контрола.

**Забележка:** Ако вътрешната контрола (IC) е стабилна в плазма, серум, ликвор, урина, дихателни проби, цяла кръв, изпражнения транспортна среда или сухи тампони (например, блиндирана РНК), то тя може алтернативно да се добави към пробата непосредствено преди започване на подготовката на пробата.

Съобразете се с инструкциите на производителя за определяне на оптималното количество вътрешна контрола (IC) за специфични последващи приложения. Използването на количество, различно от препоръчаното, може да намали ефикасността на амплификацията. За определяне количеството на вътрешната контрола(IC) необходимо за протокола на EZ1 DSP Virus, трябва да се вземе предвид количеството елуат. Виж “Приложение В: ”, стр. 60, за подробни инструкции как да се калкулира правилно количеството на вътрешната контрола (IC).

Вътрешните контроли (IC) не са част EZ1 DSP Virus кита.

## **Обеми на промиване и елуиране**

Финалната стъпка от процедурата по пречистване е промиването на вирусните нуклеинови киселини и бактериалната ДНК в краен обем от 60 µl, 90 µl, 120 µl, or 150 µl. Ако материалът на пробата е изпражнение, препоръчваме измиващ обем от 120–150 µl.

Ако елуатите, получени от изпражнения са, мътни, центрофугирайте на пълна скорост (20,000 x g) в продължение на 3 минути ± 30 секунди, за да се изчисти елуатът. Тази обработка ще подобри работата на мътните елуати в последващите приложения.

## **Съхранение на вирусни нуклеинови киселини/бактериална ДНК**

За краткосрочно съхранение до 24 часа, препоръчваме съхранение на пречистените нуклеинови киселини или бактериалната ДНК при 2–8°C. За по-продължително съхранение над 24 часа, препоръчваме съхранение при –80°C до –20°C.

## **Характеристики на работа**

За всякаква допълнителна информация, налична за вашата страна, посетете уебсайта на QIAGEN:

<http://www.qiagen.com/literature/handbooks/literature.aspx>

## Протокол: Предварителна обработка на урина

Този протокол е предназначен за предварителна обработка на урина преди пречистването на нуклеиновата киселина (page 30).

### Процедура

1. Добавете урина към ATL до краен обем от 100 µl, 200 µl или 400 µl, съгласно таблицата.

Таблица 9. Обеми урина и ATL

Урина (µl)	ATL (µl)	Краен обем на пробата (µl)
75	25	100
150	50	200
300	100	400

ATL се заявява отделно, виж информация за заявка, стр. 67.

2. Миксирайте разтвора като внимателно пипетирате нагоре и надолу, или като обръщате затворената епруветка 3 пъти.
3. Продължете с протокола за пречистване (стр. 30)

## Протокол: Пречистване на цяла кръв

Този протокол е предназначен за предварителна обработка на проби от цяла кръв преди пречистването на нуклеиновата киселина (стр. 30).

### Процедура

1. Добавете цяла кръв към ATL до краен обем 100 µl, 200 µl или 400 µl, съгласно таблицата.

Таблица 10. Обеми цяла кръв и ATL

Цяла кръв (µl)	ATL (µl)	Краен обем на пробата (µl)
50	50	100
100	100	200
200	200	400

ATL се заявява отделно, виж информация за заявка, стр. page 67.

2. Миксирайте разтвора като внимателно пипетирате нагоре и надолу, или като обръщате затворената епруветка 3 пъти.
3. Продължете с протокола за пречистване (стр. 30).



## Протокол: Предварителна обработка на изпражнения

Този протокол е предназначен за предварителна обработка, както на твърди, така и на течни проби от изпражнения преди пречистването на нуклеиновата киселина (стр. 30).

### Процедура

1. Ресуспендирайте 100 mg твърди или течни изпражнения в 900  $\mu$ l Buffer ASL.  
**Забележка:** Ако се използват по-малко или повече изпражнения, количеството Buffer ASL трябва да бъде така адаптиран, че да се запази съотношение на разреждане 1:10 (w/v). Използването на 30 mg изпражнения е минималното изискване за получаване на поне 200  $\mu$ l обем на пробата след предварителната обработка за екстракция с EZ1 инструмента.
2. Вортексирайте енергично пробата в продължение на 1–2 минути или докато се получи хомогенна суспензия.  
**Забележка:** Ако се работи с много твърди изпражнения, процедурата по ресуспендиране трябва да се удължи или да се опита раздробяване на пробата чрез пипетиране нагоре и надолу. За по-лесно пипетиране, може да се наложи изрязване на края на пипетиращото връхче. Някои частици ще останат неразтворени и ще се отстранят при следващата стъпка.
3. Инкубирайте пробата в продължение на 10 минути  $\pm$  1 минута на стайна температура върху статива, за да се позволи утаяване на големите частици от изпражненията.
4. Прехвърлете поне 400  $\mu$ l супернатанта от повърхността на суспензията в чиста епруветка с капачка от 1.5 ml без да прехвърляте големи частици от изпражненията.  
**Забележка:** Уверете се, че заедно със супернатантата не са се прехвърлили и твърди частици от изпражненията към EZ1 инструмента. Големи частици от изпражненията в пробата могат да запушат филтърното връхче на EZ1 инструмента.
5. Инкубирайте пробата в продължение на 10 минути  $\pm$  1 минута при 70°C  $\pm$  3°C на водна баня\* или в термоклатачка\*.
6. Продължете с протокола за пречистване (стр. 30).  
**Забележка:** За проби от изпражнения се препоръчва използването на 200  $\mu$ l проба за екстракция и 120–150  $\mu$ l за елуиране. По-голямото

\* Уверете се, че инструментите са проверени, поддържани и редовно калибрирани, съгласно препоръките на производителя.

количество проба и по-малък обем за елуиране могат да намалят чувствителността на последващите приложения.

**Забележка:** Ако елуатите, получени от изпражнения са мътни, препоръчваме да центрофугирате на пълна скорост (20,000 x *g*) в продължение на 3 минути ± 30 секунди с цел избистряне на елуатите. Това няма да има отрицателно въздействие върху бистрите елуати, но ще подобри работата на мътните елуати в последващите приложения.

## Протокол: Предварителна обработка на сухи тампони

Този протокол е предназначен за предварителна обработка на сухи тампони за отделяне на сух пробен материал от тампони преди пречистването на нуклеиновата киселина (стр. 30).

### Процедура

1. Добавете 600  $\mu\text{l}$  от ATL към сухия тампон.  
**Забележка:** Обемът е съобразен с вида на тампона. За екстракцията трябва да има обем 400  $\mu\text{l}$ .
2. Инкубирайте тампона за около 15 минути  $\pm$  1 минута при  $56^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  с енергично разклащане.
3. Прехвърлете 100  $\mu\text{l}$ , 200  $\mu\text{l}$  или 400  $\mu\text{l}$  от течността в нова епруветка с капачка, в зависимост от избрания обем.
4. Продължете с протокола по пречистване (стр. 30).

## Протокол: Предварителна обработка на вискозни дихателни проби

Този протокол е предназначен за предварителна обработка на вискозни дихателни проби преди пречистването на нуклеиновата киселина. Невискозните дихателни проби не изискват предварителна обработка и могат да се използват директно като изходен материал в протокола за пречистване (стр. 30).

### Процедура

1. Добавете 1 единица обем Sputasol разтвор към 1 единица обем от пробата и разклатете добре.
2. Поставете на водна баня\* или в термоклатачка\* и инкубирайте при  $37^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  като периодично разклащате докато пробата се втечни напълно.
3. Продължете с протокола по пречистване (стр. 30).

\* Уверете се, че инструментите са проверени, поддържани и редовно калибрирани, съгласно препоръките на производителя.

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

Екстракцията на ДНК може да бъде подобрена за някои грам положителни бактерии чрез ензиматична предварителна обработка преди прехвърляне на пробата в EZ1 инструмента. Ако пробите са с висок вискозитет, като например хрочка, преди стартирането на този протокол се препоръчва втечняване, съгласно протокола за дихателните проби. Този протокол не е предназначен за употреба при проби от изпражнения или цяла кръв.

### **Процедура:**

1. Пелетирайте бактериите чрез центрофугиране в продължение на 10 минути  $\pm$  1 минута при 5000 x *g* (7500 rpm в микроцентрофуга).
2. Суспендирайте бактериалните пелети в 180  $\mu$ l ензимен разтвор (20 mg/ml лизозим; 20 mM Tris-HCl, pH 8.0; 2 mM EDTA; 1.2% Triton X-100) в епруетка с капачка от 2 ml.
3. Инкубирайте поне 30 минути при 37°C  $\pm$  3°C.
4. За кратко центрофугирайте епруетката, за да отстраните капките от вътрешната страна на капака.
5. Продължете с протокола за пречистване (стр. 30).

# Протокол: Пречистване на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК

## Важно преди да започнете

Ако използвате EZ1 DSP Virus кита за първи път, прочетете “Процедура” (стр. 14). Касетите с реактиви (RCV) съдържат гуанидинови соли и по тази причина са несъвместими с дезинфектанти, които съдържат белина. Вземете подходящи мерки за безопасност и работете с ръкавици. Виж стр. 11 относно информацията за безопасност.

Извършете всички стъпки от протокола при стайна температура (15–25°C). По време на настройките, работете бързо.

След получаване на кита, проверете компонентите дали не са увредени. В случай, че касетките с реактиви (RCV) или други компоненти на кита са повредени, свържете се с QIAGEN Technical Services или местния дистрибутор. В случай на изтичане на течности, прочетете “Предупреждения и предпазни мерки” (стр. 11). Не използвайте повредени касети с реактиви (RCV) или други компоненти на кита, тъй като употребата им може да доведе до лоши резултати.

В някои стъпки от процедурата, може да се направи избор измежду 2 възможности. Изберете ▲ ако използвате EZ1 Advanced или EZ1 Advanced XL; изберете ● ако използвате BioRobot EZ1 DSP\*.

## Неща, които трябва да направите преди да започнете

Лизирацият буфер в касетата с реактив (RCV) може да образува утайка по време на съхранението. Ако е необходимо, разтворете отново като загреете на 30–40°C и след това оставете на стайна температура.

Подгответе серум, плазма, ликвор или транспортна среда, както е описано в “Съхранение и боравене с пробите”, page 13. Ако се забелязват криоутайки в размразените проби, центрофугирайте при 6800 x g в продължение на 3 минути ± 30 секунди, прехвърлете супернатантите в чисти епруветки без да разбърквате пелетите и започнете незабавно процедурата по пречистване.

Подгответе пробите от урина както е описано в “Протокол: Предварителна обработка на урина”, стр. 23.

Подгответе пробите от цяла кръв както е описано в “Протокол: Пречистване на цяла кръв”, стр. 24.

Подгответе пробите от изпражнения както е описано в “Протокол: Предварителна обработка на изпражнения”, стр. 25.

\* Не се предлага в САЩ и Канада.

Подгответе пробите от сухи тампони както е описано в “Протокол: Предварителна обработка на сухи тампони”, стр. 27.

Подгответе вискозните дихателни проби както е описано в “Протокол: Предварителна обработка на вискозни дихателни проби”, стр. 28.  
Невискозните дихателни проби не изискват предварителна обработка.

Подгответе изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER) (по избор с вътрешна контрола [IC]) преди да я използвате за първи път. Разтворете лиофилизираната носеща РНК (CARRIER) в 310 µl елуиращ буфер (AVE) (доставен с кита), като я смесите с вътрешната контрола (IC) (по желание) както е описано в “Подготовка на носещата РНК (CARRIER)” и “Използване на вътрешна контрола (IC)”, стр. 20–21.

## Процедура

1. За всяка проба подгответе 60 µl разтвор, в който се съдържат 3.6 µl разтворена носеща РНК (CARRIER) (по желание с вътрешна контрола [IC]) в 1.5 ml епруветка (ET) (налична). Миксирайте внимателно като пипетирате разтвора 10 пъти. Не вортексирайте.

Епруветката от 1.5 ml (ET) се зарежда в третия ред, както е видно от инструкциите на екрана.

**Забележка:** Уверете се, че разтворът на носещата РНК (CARRIER) е на дъното на епруветката от 1.5 ml (ET) така, щото необходимото количество да може да се прехвърли от EZ1 инструмента.

2. Прехвърлете пробата от 100 µl, 200 µl или 400 µl в 2 ml епруветка за проби (ST), и темперирайте до стайна температура (15–25°C) преди да заредите на работната маса. Ако използвате замразени проби, размразете и темперирайте до стайна температура и смесете добре чрез вортексиране.

**Забележка:** За постигане на оптимален резултат, важно е да се използват епруветки от 2 ml (ST) налични в кита.

**Забележка:** Не замразявайте отново размразени проби и не съхранявайте проби за повече от 6 часа при 2–8°C, тъй като това може значително да намали добива на вирусни нуклеинови киселини или бактериална ДНК.

Препоръчваме използването на проби с обем от 100 µl, 200 µl или 400 µl. За извличане на вирусни/бактериални нуклеинови киселини от изпражнения препоръчваме обем на пробата от 200 µl. За предварителна обработка на проби, прочетете съответния протокол за предварителна обработка. Ако искате да използвате малка проба, сведете обема до 100 µl, 200 µl или 400 µl със съответното количество елуиращ буфер (AVE) (допълнителен елуиращ буфер [AVE] не се доставя; може да се достави отделно).

**Забележка:** Не използвайте проби с обем по-голям от 100 µl, 200 µl или 400 µl. След лизиране и свързване на вирусните нуклеинови киселини или на бактериалната ДНК към магнитните частици, част от лизата се прехвърля в епруветката с пробата (ST) с цел инактивиране на остатъчните вируси. Всяка проба, оставена в епруветката (ST) след прехвърлянето на пробата, ще бъде загубена.

3. Въведете ▲ EZ1 Advanced DSP Virus картата изцяло в слота за EZ1 Advanced карта на EZ1 Advanced или EZ1 Advanced XL DSP Virus картата напълно в слота за EZ1 Advanced XL карта на EZ1 Advanced XL, или ● EZ1 DSP Virus картата\* изцяло в слота за EZ1 карта на BioRobot EZ1 DSP\*.
4. Включете EZ1 инструмента.  
Копчето за включване се намира на лявата странична част на инструмента.
5. Натиснете “START” за да стартирате настройката на протокола на работната маса на EZ1 DSP Virus.
6. Отворете вратичката на инструмента.
7. Обърнете касетите с реактив (RCV) 3 пъти, за да миксирате магнитните частици. След това запушете касетите (RCV), за да поставите реактивите на дъното в съответните ямки.
8. Следвайте инструкциите за настройване на работната маса от екрана, променливият избор на протокол и ▲ проследяване на данните.

**Забележка:** След поставянето на касетата с реактива (RCV) в гнездото за касети, натиснете касетата надолу, докато влезе на мястото си.

**Забележка:** Ако имате повече от 6 (BioRobot EZ1 DSP\*, EZ1 Advanced) или 14 (EZ1 Advanced XL) касети с реактив (RCV), те могат да се зареждат в произволен ред в гнездата. Все пак, когато зареждате лабораторните си пособия, уверете се, че и те следват същия ред.

**Забележка:** Проверете дали количеството проби отговаря на количеството проби в избрания протокол.

**Забележка:** Проверете дали елуиращите обеми отговарят на елуиращите обеми в избрания протокол.

**▲ Забележка:** За проследяване на данните, винаги започвайте зареждането на пробите от позиция A на EZ1 Advanced и позиция 1 на EZ1 Advanced XL. Поставете останалите проби последователно в следващата свободна позиция на работната маса.

\* Не се предлага в САЩ и Канада.



▲ **Забележка:** когато използвате опцията за проследяване на данни, уверете се, че ID на пробите следва същия ред като този на пробите на работната маса, за да се избегне объркване на данните.

9. Затворете вратичката на инструмента.
10. Натиснете “START” за да стартирате протокола.
11. Когато протоколът приключи, на дисплея се изписва “Protocol finished”. ▲ Натиснете “ENT” за да генерирате файл с отчет.  
▲ EZ1 Advanced и EZ1 Advanced XL може да запамятат до 10 файла с отчети. Отчетите могат да се разпечатат директно на свързан принтер или да се прехвърлят в компютър.
12. Отворете вратичката на инструмента.
13. Извадете епруветките за елуат (ET), които съдържат пречистените вирусни нуклеинови киселини и/или бактериална ДНК от първия ред. Изхвърлете излишната заготовка на проби.\*
14. ▲ Препоръчително: Следвайте инструкциите на екрана, за да извършите обеззаразяване на повърхностите на работната маса.
15. Извършете регулярните процедури по поддръжка, както е описано в наръчника за потребителя, наличен с вашия EZ1 инструмент.  
Редовна поддръжка трябва да се извършва в края на всеки протокол. Тя се състои в почистване на пробивното устройство и повърхността на работната маса.  
**Забележка:** Пробивното устройство е остро! Препоръчва се употребата на двойни ръкавици.
16. За започване на друг протокол, натиснете “START”, следвайте стъпки 1 и 2 от протокола и след това продължете протокола от стъпка 5. В противен случай, натиснете два пъти “STOP”, за да се върнете към първия екран на дисплея, затворете вратичката на инструмента и изключете EZ1 инструмента.  
Стъпки 3–4 не са необходими при стартирането на друг протокол. Прескочете тези стъпки.

\* Отпадъците от пробите съдържат гванидинови соли и затова не са съвместими с белина, Виж page 22 с инструкциите за безопасност.

## Качествен контрол

В съответствие с ISO-сертифицираната система за управление на качеството на QIAGEN, всяка партида на EZ1 DSP Virus Kit е тествана спрямо предварително определени спецификации, за да се гарантира постоянно качество на продукта.

## Ограничения

Потребителите са отговорни за валидиране работата на системата за всяка една процедура, използвана в техните лаборатории, която не се извършва от проучванията за оценяване на изпълнението от QIAGEN.

Работата на системата е определена на базата на проучвания за оценка на работата чрез използването на плазма, серум, ликвор, урина, цяла кръв, изпражнения, транспортна среда, сухи тампони и дихателни проби за изолиране на вирусни нуклеинови киселини и бактериална ДНК. Оценката на изпълнението е направена само чрез комбинация на патогени и пробен материал, изброен в данните за изпълнение в наръчника.

За намаляване на риска от отрицателен резултат на диагностичните резултати, трябва да се използват подходящи контроли за последващите приложения. За по-нататъшна валидация се препоръчват насоките на Международната конференция по хармонизация на техническите изисквания (International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) в *ICH Q2(R1) Валидиране на аналитични процедури: Текстовете и методология (Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology)*.

Всички генерирани диагностични резултати трябва да се интерпретират свързано с другите клинични и лабораторни резултати.

## СИМВОЛИ



Китът съдържа реактиви за подготовката на 48 проби



Да се използва от



Медицинско изделие за инвитро диагностика



Каталожен номер



Партида номер



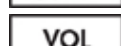
Материал номер



Компоненти



Номер



Количество/обем



Global Trade Item Number (Световен търговски артикулен номер)



Температурни ограничения



Законен производител



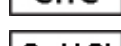
Само за употреба с



Съдържа



Гуанидин изоцианат



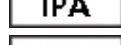
Гуанидин хидрохлорид



Етанол



Изопропанол



Протеиназа К



Тази страна надолу, когато отваряте

## Референции

QIAGEN поддържа голяма, актуализирана онлайн база данни от научни публикации, използващи QIAGEN продукти. Подробни опции за търсене ви позволяват да намерите статиите, които ви трябва или чрез търсене по ключова дума или чрез определяне на приложение, сфера на проучване, заглавие и т.н.

За пълния списък с референции, посетете QIAGEN Reference Database online на [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp) или се свържете с QIAGEN Technical Services или вашия локален дистрибутор.

## Контакти

В QIAGEN се гордеем с качеството и достъпността на нашата техническа поддръжка. В отделите за техническа поддръжка работят опитни специалисти с обширен практически и теоретичен опит по отношение на пробите и аналитичните технологии и използването на QIAGEN® продукти. Ако имате въпроси или срещате някакви трудности по отношение на EZ1 DSP Virus кита или QIAGEN продуктите по принцип, не се колебайте да се свържете с нас.

Клиентите на QIAGEN са основен източник на информация по отношение на напреднали или специализирани приложения на нашите продукти. Тази информация е полезна за други научни работници, както и за изследователите в QIAGEN. Затова ви насърчаваме да се свържете с нас, ако имате препоръки относно приложението на продуктите или нови приложения и техники.

За техническа помощ и повече информация, свържете се с нашия Център за техническа поддръжка на [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) или се обадете на някой от Отделите за техническа поддръжка или локалния дистрибутор (вижте корицата или посетете [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Отстраняване на проблеми

Тези насоки за отстраняване на проблеми могат да ви бъдат полезни при решаването на възникнали проблеми. За повече информация, вижте също страницата за Често задавани въпроси в Центъра за техническа поддръжка: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Научните работници от Техническа поддръжка в QIAGEN с удоволствие ще отговорят на всеки въпрос, който имате по отношение на информацията и протоколите в този наръчник или по отношение на пробите и технологиите за анализ (за контакти, вижте корицата или посетете [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Коментари и препоръки

---

#### Общи указания за работа

- |  |   |
|--|---|
| a) Съобщение за грешка на дисплея на инструмента | Консултирайте се с наръчника на EZ1 инструмента.  |
| b) Отчетът не се отпечата                        | Проверете дали принтерът е свързан с EZ1 Advanced или EZ1 Advanced XL през "PC/Printer" серийен порт.<br>Проверете дали серийният порт е настроен за работа с принтера.                                       |
| c) Файлът с отчета не се препраща към компютъра  | Проверете дали компютърът е свързан с EZ1 Advanced или EZ1 Advanced XL чрез "PC/Printer" серийен порт.<br>Проверете дали серийният порт е настроен за работа с компютъра.                                     |
| d) Въведен е грешен ID на Q-картата              | Ако е въведен грешен ID вместо ID на Q-Card, EZ1 Advanced или EZ1 Advanced XL няма да приеме ID и ще иска въвеждането на правилния ID за Q-картата. Натиснете два пъти "STOP", за да влезете в главното меню. |

#### Слаб добив на вирусни нуклеинови киселини или бактериална ДНК

- |  |  |
|--|--|
| a) Магнитните частици не са напълно ресуспендирани | Уверете се, че сте ресуспендирали магнитните частици внимателно преди да заредите касетите с реактив (RCV) в държача (гнездото).   |
| b) Аспириран е недостатъчен реактив                | След обръщането на касетите с реактив (RCV) с цел ресуспендиране на магнитните частици, уверете се че сте затворили добре касетите (RCV) и поставете реактивите на дъното на гнездата. |

## Коментари и препоръки

- c) Реактивите са заредени върху работната маса в погрешен ред  
Уверете се, че всички епруветки (ET, ST) и държачи на типчетата (DTH) и самите типчета (DFT) са заредени на работната маса в правилната последователност. Повторете процедурата по пречистване с нови проби.
- d) Не е добавена носеща РНК (CARRIER)  
Разтворете лиофилизираната носеща РНК (CARRIER) в 310 µl елуиращ буфер (AVE). За всяка проба използвайте 3.6 µl от този изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER), смесен с вътрешна контрола (IC) (по желание) и допълнителен елуиращ буфер (AVE) до получаване на краен обем от 60 µl, както е описано в “Подготовка на носещата РНК (CARRIER)” и “Използване на вътрешна контрола (IC)”, стр. 20–21. Повторете процедурата по пречистване с нови проби.
- e) Носещата РНК (CARRIER) и елуиращият буфер (AVE) не са достатъчно смесени  
Смесете носещата РНК (CARRIER), вътрешна контрола (IC) (по желание) и елуиращ буфер (AVE) като пипетирате най-малко 10 пъти.
- f) Влошена РНК  
Качеството на РНК може да се влоши от РНазите в оригиналните проби. Уверете се, че пробите са обработени веднага след събирането им или изваждането от съхранение.
- g) На дъното на ямките на касетите с реактив се вижда утайка  
Поставете касетите с реактив (RCV) в шейкър-инкубатор и инкубирайте на 30–40°C с леко разклащане в продължение на 2 часа. Не използвайте касетите с реактив (RCV), ако утайките не се разтворят отново.

РНК или ДНК не се представят добре в последващите приложения

- a) В елуата има малко или отсъства нуклеинова киселина  
Виж “Слаб добив на вирусни нуклеинови киселини или бактериална ДНК”, стр. 37, за възможните причини. Увеличете количеството на елуата, който се добавя в последващата ензимна реакция, ако е възможно.

## Коментари и препоръки

---

- b) Замразените проби не са смесени добре след размразяването
- Размразете замразените проби на стайна температура (15–25°C) и миксирайте посредством пулсиращо вортексиране в продължение на 15 секунди.
- c) Преди пречистването нуклеиновите киселини в пробите вече са били разрушени
- Това може да се случи, ако пробите са били замразени отново след размразяване или са съхранявани на стайна температура прекалено продължително. Винаги използвайте пресни проби или проби, които са размразявани само веднъж. Повторете процедурата по пречистване с нови проби.
- d) Недостатъчно лизиране на пробите
- Това може да се случи, ако касетите с реактив (RCV) са съхранявани прекалено дълго при по-високи температури, което е довело до инактивация на протеиназата K. Повторете процеса на пречистване като използвате нови проби и касети с реактиви (RCV).
- e) Остатъчна сол по време на елуирането
- За по-добри резултати, уверете се, че касетите с реактив (RCV) са при 20–30°C.
- f) Прекалено много или прекалено малко носеща РНК (CARRIER) в елуата
- Определете максималното количество носеща РНК (CARRIER) подходяща за вашата реакция на амплификация. Адаптирайте концентрацията на разтвора на носеща РНК (CARRIER).
- g) Прекалено много елуат в реакцията на амплификация
- Определете максималното количество елуат, подходящо за вашата реакция на амплификация. Намалете количеството елуат, което добавяте към реакцията за амплификация или увеличете съответно елуирация обем. Ако желаете, можете да накапете положителна контрола в елуата, за да се определи ефекта на елуата върху реакцията на амплификация.

## Коментари и препоръки

---

- h) Варираща производителност на пречистените нуклеинови киселини в последващите анализи
- Компонентите сол и етанол на измиващия буфер 1 или измиващия буфер 2 в касетата (RCV) може да са се разделили поради продължително съхранение. Винаги разклащайте интензивно касетите (RCV) и ги затваряйте преди да започнете процедура по пречистване.
- i) Липса на чувствителност поради инхибиращи субстанции
- Увеличете елуиращия обем. Ако желаете, можете да накапете положителна контрола в елуата, за да се определи ефекта на елуата върху реакцията на амплификация. Ако елуатите, получени от проби с изпражнения са мътни, препоръчваме центрофугиране на пълни обороти (20,000 x *g*) в продължение на 3 минути ± 30 секунди, за да се избистри елуатът. Това няма да повлияе отрицателно резултата на бистрия елуат, но ще подобри резултатите на мътните елуати в последващите приложения.
- j) Нова комбинация от обратна транскриптаза и *Taq* ДНК полимераза
- Ако ензимите са променени, може да се наложи ново адаптиране на количеството носеща РНК (CARRIER), което се добавя към елуиращия буфер (AVE) и количеството използван елуат.
- k) Остатъци от магнитни частици
- Излишъкът от магнитни частици в елуата не влияе на повечето последващи приложения, включително и RT-PCR. Ако се налага намаляване на риска от излишък на магнитни частици (например, за приложения като real-time PCR), поставете епруветката с елуата в модходящ магнит (например, 12-Tube Magnet [cat. no. 36912]) за 1 минута и след това прехвърлете елуата в чиста епруветка. Ако не разполагате с подходящ магнит, центрофугирайте епруветките с елуат в микроцентрофуга на пълни обороти в продължение на 1 минута, за да се пелетират всички останали магнитни частици и прехвърлете супернатантите в чисти епруветки.



## Приложение А: Показване на съобщения

Съобщенията, които се изписват на екрана от протокола на софтуера по време на настройването на работната маса, по време на извършването на протокола и след приключването на протокола, са изброени в таблици 11-13. Номерацията на съобщенията, изброени в таблиците съответстват на номерата на съобщенията, показани от софтуера.

За съобщения за общи грешки на дисплея на EZ1 инструмента, направете справка с наръчника, доставен заедно с EZ1 инструмента.

**Таблица 11. Съобщения в процедурата на EZ1 Advanced XL DSP Virus**

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
Няма	Насока	Date/time START: Run 1: UV                      2: Man 3: Test                     4: Setup
1	Насока	EZ1 Advanced XL DSP Virus Version 1.0
2	Проследяване на данни	Enter user ID ENT: Next
3	Проследяване на данни	Enter Q-Card bar code ENT: Next
4	Насока	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT: Back
5	Насока	Kit expired MMYY ENT: Use new kit ESC: Stop protocol
6	Проследяване на данни	Use Q-Card data with sample 1 to xx Enter 1 to 14 ENT: Next

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 11. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
7	Насока	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no
8	Проследяване на данни	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No
9	Проследяване на данни	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next
10	Проследяване на данни	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No
11	Проследяване на данни	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next
12	Проследяване на данни	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back
13	Проследяване на данни	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back
14	Проследяване на данни	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 11. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
15	Проследяване на данни	ID 13: ID 14: ESC: Rescan DOWN: Next, UP: Back
16	Проследяване на данни	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No
17	Проследяване на данни	Enter assay ID for sample no. [x] ENT: Next
18	Проследяване на данни	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No
19	Проследяване на данни	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No
20	Проследяване на данни	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next
21	Проследяване на данни	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No
22	Избор	Select sample volume: 1: 100 ul 2: 200 ul 3: 400 ul

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 11. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
23	Избор	Select elution volume: 1: 60 ul 2: 90 ul 3: 120 ul 4: 150 ul
24	Насока	You have chosen: Sample volume: xxxul Elution volume:yyyul ENT: Next, ESC: Back
25	Насока	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back
26	Насока	Load empty 2 ml tubes into heating block ENT: Next, ESC: Back
27	Насока	Load elution tubes (1.5 ml) into first row ENT: Next, ESC: Back
28	Насока	Load tip holders and tips into second row ENT: Next, ESC: Back
29	Насока	Load 1.5ml tubes containing cRNA and IC into third row ENT: Next, ESC: Back
30	Насока	Load 2 ml tubes with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 11. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
31	Насока	Loading finished Close door and press START ESC: Back
32	Насока	Please close door! ENT: Next
33	Насока	Checking temperature Set: Cur:
34	Статус	Protocol started
35	Статус	Piercing foil [x] of 43 min left
36	Статус	Collecting elution buffer AVE [x] of 43 min left
37	Статус	Collecting cRNA + IC [x] of 43 min left
38	Статус	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left
39	Статус	Collecting Sample [x] of 43 min left
40	Статус	Collecting Proteinase K [x] of 43 min left

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 11. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
41	Статус	Mixing lysate [x] of 43 min left
42	Статус	15 min Incubation [x] of 43 min left
43	Статус	Tip touch [x] of 43 min left
44	Статус	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left
45	Статус	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left
46	Статус	Collecting Beads [x] of 43 min left
47	Статус	Resuspending Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left
48	Статус	Transferring Lysate [x] of 43 min left
49	Статус	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left
50	Статус	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 11. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
51	Статус	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left
52	Статус	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left
53	Статус	Drying Beads [x] of 43 min left
54	Статус	Rinse [x] of 43 min left
55	Статус	Elution [x] of 43 min left
56	Насока	Check transfer of cRNA + IC (row 3) ENT: Next
57	Насока	Check transfer of sample (row 4) ENT: Next
58	Насока	Protocol finished ENT: Next
59	Проследяване на данни	Transferring report file Attempt no.
60	Няма	

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 11. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
Няма	Насока	Report file sent Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k.
61	Насока	Report file sent ENT: Next
62	Насока	Report file could not be sent ENT: Resend
63	Насока	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No
64	Насока	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next
65	Насока	UV decontamination: Enter 20-60 min ENT: Next
66	Насока	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back
67	Насока	UV decontamination Total time: min Time left: min
68	Насока	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu

Таблицата продължава на следващата страница.



Таблица 11. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced XL
69	Насока	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next
70	Насока	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort
71	Насока	Decontamination UV lamps cooling Please stand by
72	Насока	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu

Таблица 12. Съобщения в EZ1 Advanced DSP Virus процедурата

Номер на съобщението	Вид на съобщението	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
1	Насока	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0
2	Проследяване на данни	Scan/enter user ID
3	Проследяване на данни	Scan/enter Q-Card bar code
4	Насока	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT=back
5	Насока	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol
6	Проследяване на данни	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6
7	Насока	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no
8	Проследяване на данни	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No
9	Проследяване на данни	Scan/enter sample ID sample no. [x]

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 12. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
10	Проследяване на данни	ID1: ID2: ID3: Next=ENT
11	Проследяване на данни	ID4: ID5: ID6: Next=ENT, ID1-3=Up
12	Проследяване на данни	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No
13	Проследяване на данни	Scan/enter assay ID ID sample no. [x]
14	Проследяване на данни	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No
15	Проследяване на данни	Scan/enter notes sample no. [x]
16	Насока	Select sample volume: 1: 100 ul 2: 200 ul 3: 400 ul
17	Насока	Select elution volume: 1: 60 ul 2: 90 ul 3: 120 ul 4: 150 ul
18	Насока	You have chosen: Sample volume: [xxx] ul Elution volume: [yyy] ul Next=Any, Prev=Esc
19	Насока	Load cartridges at same positions as sample Next=Any, Prev=Esc

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 12. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
20	Насока	Load empty 2.0 ml tubes at heating block Next=Any, Prev=Esc
21	Насока	Load elution tubes (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=Esc
22	Насока	Load tip holders and tips into second row Next=Any, Prev=Esc
23	Насока	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC in third row Next=Any, Prev=Esc
24	Насока	Load 2.0 ml tubes with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc
25	Насока	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc
26	Насока	Please close door!
27	Насока	Checking temperature Set: Cur:
28	Статус	Protocol started
29	Статус	Piercing foil
30	Статус	Collecting Elution Buffer AVE
31	Статус	Collecting cRNA + IC
32	Статус	Collecting Lysis Buffer
33	Статус	Collecting Sample
34	Статус	Collecting Proteinase K
35	Статус	Mixing Lysate
36	Статус	15 min Incubation [x] of 43 min left

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 12. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
37	Статус	Kick [x] of 43 min left
38	Статус	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left
39	Статус	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left
40	Статус	Collecting Beads [x] of 43 min left
41	Статус	Resuspension of Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left
42	Статус	Transferring Lysate [x] of 43 min left
43	Статус	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left
44	Статус	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left
45	Статус	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left
46	Статус	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left
47	Статус	Dry Beads [x] of 43 min left
48	Статус	Rinse [x] of 43 min left
49	Статус	Elution [x] of 43 min left

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 12. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
50	Насока	Check transfer of cRNA + IC (row 3) Next=Any
51	Насока	Check transfer of sample (row 4) Next=Any
52	Насока	Protocol finished
53	Проследяване на данни	Transfer Report file, attempt no.
54	Насока	Report file sent Next=ENT
55	Насока	Report file could not be sent Resend=ENT
56	Насока	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No
57	Насока	UV decontamination Set time min Key:0-9, ENT
58	Насока	UV decontamination. Time must be between 20-60 min Key:ESC
59	Насока	UV decontamination Time left: min
60	Насока	Perform regular maintenance after each run ESC=Main menu
61	Насока	UV lamp expires soon UV runs left: ENT=continue

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 12. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на EZ1 Advanced
62	Насока	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort
63	Насока	Decontamination UV lamp cooling Please stand by

Таблица 13. Съобщения в BioRobot EZ1 DSP\* Virus процедурата

\* Не се предлага в САЩ и Канада.



Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на BioRobot EZ1 DSP
Няма	Насока	Choose button: START: Protocols 1: Tools 2: Tests
1	Насока	BioRobot EZ1 DSP Virus Version
2	Насока	Select sample volume: 1: 100ul 2: 200ul 3: 400ul
3	Насока	Select elution volume: 1: 60ul 2: 90ul 3: 120ul 4: 150ul
4	Насока	You have chosen: Sample Volume:[sample volume]ul Elution Volume:[elution volume]ul Next=Any, Prev=ESC
5	Насока	Load cartridges (RCV) at same positions as samples Next=Any, Prev=ESC
6	Насока	Load empty 2.0ml tubes (ST) at heating block Next=Any, Prev=ESC
7	Насока	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=ESC
8	Насока	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC
9	Насока	Load 1.5ml tubes (ET) with (CARRIER) + IC in third row Next=Any, Prev=ESC

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 13. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на BioRobot EZ1 DSP
10	Насока	Load 2.0ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=ESC
11	Насока	Start protocol Press START Prev=ESC
12	Статус	Checking Temperature Set: 63.0 [deg] Cur: [deg]
13	Статус	Protocol started
14	Статус	Piercing Foil
15	Статус	Collecting Elution Buffer (AVE)
16	Статус	Collecting cRNA (CARRIER) + IC
17	Статус	Collecting Lysis Buffer
18	Статус	Collecting Sample
19	Статус	Collecting
20	Статус	Mixing Lysate
21	Статус	Checking Temperature Set: 56.0 [deg] Cur: [deg]
22	Статус	15 min Incubation
23	Статус	Kick
24	Статус	Collecting Binding Buffer
25	Статус	Collecting Lysis Buffer
26	Статус	Collecting Beads
27	Статус	Resuspension of Beads in Binding Buffer
28	Статус	Transferring Lysate
29	Статус	Binding Magnetic Separation

Таблицата продължава на следващата страница.

Таблица 13. Продължение

Номер на съобщението	Вид на съобщението	Текст на съобщението на BioRobot EZ1 DSP
30	Статус	Wash 1 Magnetic Separation
31	Статус	Wash 2 Magnetic Separation
32	Статус	Wash 3 Magnetic Separation
33	Статус	Dry Beads
34	Статус	Kick
35	Статус	Dry Beads
36	Статус	Kick
37	Статус	Rinse
38	Статус	Checking Temperature Set: 65.0 [deg] Cur: [deg]
39	Статус	Elution
40	Насока	Check transfer of cRNA (CARRIER)+ IC (tube [ET], row 3) Next=Any
41	Насока	Check transfer of sample (tube [ST], row 4) Next=Any
42	Насока	Protocol finished! Press ESC to return to Menu

## Приложение В: Изчисляване на количеството вътрешна контрола (IC)

С цел мониториране на ефикасността на обработката на пробите в последващите анализи, трябва да се добави вътрешна контрола (IC) към процеса за подготовка на пробите. За да се изчисли количеството вътрешна контрола (IC), изискваща се от протокола на EZ1 DSP Virus, трябва да се вземат предвид количеството на буфера, съдържащ IC, който се добавя към всяка проба и количеството елуат за даден анализ.

### Определяне на количеството (IC) в последващи реакции

За да определите количеството на вътрешната контрола (IC), което ще присъства в последващия анализ, използвайте формулата:

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

където:

$IC_{RXN}$  = Количество вътрешна контрола (IC) на последваща реакция

$IC_{LB}$  = Количество вътрешна контрола (IC), добавена към лизирация буфер (LB)

$LB_{SAM}$  = Количество лизиращ буфер (LB) на проба

$EL_{RXN}$  = Количество елуат на последваща реакция

$LB_{TOT}$  = Общо количество лизиращ буфер (LB) плюс носеща РНК (CARRIER), използвани в протокола

$EL_{SAM}$  = Количество елуат на проба

Например, използвайки по-рано установената система за анализ, Потребител 1 добавя 39 µl разтвор на вътрешна контрола (ICLB) към 8.4 ml лизиращ буфер (LB) и 140 µl носител на РНК (CARRIER). Използвайки референтната процедура в наръчника за системата на анализ, 625 µl от лизирация буфер (LB) се добавя към всяка проба ( $LB_{SAM}$ ), и се използва елуиращ обем от 75 µl ( $EL_{SAM}$ ). Потребител 1 използва 50 µl от елуата на последваща реакция ( $EL_{RXN}$ ). Количеството разтвор на вътрешната контрола във всяка последваща реакция ( $IC_{RXN}$ ) 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 последващи реакции за дадената система на анализ съдържат 1.89 µl разтвор на вътрешна контрола за реакция.

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

Ако знаете количеството вътрешна контрола (IC), което искате да участва в последващия анализ (IC<sub>RXN</sub>), то ще трябва да определите и количеството вътрешна контрола (IC), което трябва да се разрежда с елуиращ буфер (AVE) и носеща РНК (CARRIER) (IC<sub>AVE</sub>) преди да започнете пречистването. За да изчислите това количество, използвайте формулата:

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

където:

IC<sub>AVE</sub> = Количество вътрешна контрола (IC), разредена в елуиращ буфер-носеца РНК (AVE-CARRIER)

IC<sub>RXN</sub> = Количество вътрешна контрола (IC) на последваща реакция

IC<sub>TOT</sub> = Общо количество разредена вътрешна контрола (IC) в елуиращ буфер-носеца РНК (AVE-CARRIER) опит

IC<sub>SAM</sub> = Количество разредена вътрешна контрола (IC), добавено към всяка проба (50 µl)

EL<sub>SAM</sub> = Количество елуат на проба

EL<sub>RXN</sub> = Количество елуат на последваща реакция

Например, Потребител 2 работи върху анализ, оптимизиран за използване с 1.0 µl разтвор на вътрешна контрола на реакция (IC<sub>RXN</sub>) и 20 µl елуат на реакция (EL<sub>RXN</sub>). Потребител 2 следва протокола на EZ1 DSP Virus и е избрано количество елуат 60 µl (EL<sub>SAM</sub>). За всяка обработена проба, ръчно се пипетира обем от 60 µl разредена вътрешна контрола (IC) в 1.5 ml епруветка (ET) в позиция 3 на работната маса на EZ1, но по време на процеса на обработка на пробата с протокола на EZ1 DSP Virus, EZ1 инструментът ще прехвърли само 50 µl от разредената вътрешна контрола (IC<sub>SAM</sub>) от гнездо 3 към реакцията на свързване. За 6-те проби, които се обработват в един цикъл, необходимият общ обем разредена вътрешна контрола (IC<sub>TOT</sub>) е:

$$\begin{aligned} IC_{TOT} &= \text{Брой проби на опит} \times 60 \mu\text{l} \\ &= 6 \times 60 \mu\text{l} = 360 \mu\text{l} \end{aligned}$$

Количеството разтвор на вътрешна контрола ( $IC_{AVE}$ ), от което се нуждае Потребител 2 за 6 проби е:

$$IC_{AVE} = \frac{1 \mu\text{l} \times 360 \mu\text{l} \times 60 \mu\text{l}}{(50 \mu\text{l} \times 20 \mu\text{l})} = 21.6 \mu\text{l}$$

За всяка проба, към IC разтвора трябва да се добавят 3.6  $\mu\text{l}$  изходен разтвор на носеща РНК (CARRIER) с 1  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . За 6 проби трябва да се изчисли общото количество:

Общо количество изходна носеща РНК = 6 x 3.6  $\mu\text{l}$  изходна носеща РНК = 21.6  $\mu\text{l}$

За краен обем от 360  $\mu\text{l}$  разредена вътрешна контрола (IC), потребителят трябва да добави елуиращ буфер (AVE):

$$\begin{aligned} \text{Количество елуиращ буфер (AVE)} &= IC_{TOT} - IC_{AVE} - \text{количество носеща РНК (CARRIER)} \\ &= 360 \mu\text{l} - 21.6 \mu\text{l} - 21.6 \mu\text{l} = 316.8 \mu\text{l} \end{aligned}$$

Потребител 2 трябва да добави 21.6  $\mu\text{l}$  разтвор от вътрешна контрола към 316.8  $\mu\text{l}$  елуиращ буфер (AVE) и 21.6  $\mu\text{l}$  изходна носеща РНК (CARRIER), за да се получат 360  $\mu\text{l}$  разредена вътрешна контрола (IC). От тази разредена вътрешна контрола (IC), 60  $\mu\text{l}$  трябва ръчно да се прехвърлят в 1.5 ml епруветки (ET) в позиция 3 на работната маса на EZ1 преди стартиране на EZ1 DSP Virus протокола.

## Приложение С: Бланка с проби за използване със системата EZ1 DSP Virus

Този образец на бланка с проби за използване при записване на данните, когато се използва EZ1 DSP Virus процедурата може да ви бъде от полза. Този лист може да се фотокопира и надпише с името на пробата и детайли относно опита.

### EZ1 DSP Virus система

Дата/час: \_\_\_\_\_ Кит партиден номер: \_\_\_\_\_

Оператор: \_\_\_\_\_ ID на опита: \_\_\_\_\_

Сериен номер на инструмента: \_\_\_\_\_

Позиция на работната маса	ID на пробата	Материал на пробата	Наличие на RCV?	Наличие на ST?	Наличие на ET?	Наличие на DTH с DFT?	Наличие на ET с CARRIER и IC?
1 (ляво)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							

14 (дясно)



## Приложение D: Пример за отчет на EZ1 Advanced

Това приложение показва типичен файл с отчет, генериран от EZ1 Advanced. Стойностите на всеки параметър могат да се различават от отчета, генериран от вашия EZ1 Advanced. Моля имайте предвид, че "User ID" (ID на потребителя) може да съдържа максимум 9 символа, а "Assay kit ID" (ID на кита за анализ) и "Note" (Забележка) могат да съдържат максимум 14 символа.

EZ1 Advanced XL генерира подобен файл с отчет, съдържащ информация за инструмента и протокола, относими към EZ1 Advanced XL и информация за канали 1–14.

Report File EZ1 Advanced:

Serial No. EZ1 Advanced:....."123456789"  
User ID: ..... "964"  
Firmware version: ..... "V 1.0.0"  
Installation date of instrument: ..... " , "  
Weekly maintenance done on:....."Feb 26, 2008"  
Yearly maintenance done on: ..... "Nov 06, 2007"  
Date of last UV-run: ..... "Mar 03, 2008"  
Start of last UV-run: ..... "14:48"  
End of last UV-run: ..... "14:52"  
Status of last UV-run:....."UV run aborted"

Protocol name:..... "Virus DSP"  
..... "Version 1.0"

Date of run: ..... "Mar 03, 2008"  
Start of run: ..... "14:54"  
End of run: ..... "15:40"  
Status run: ..... "o.k"  
Error Code: ..... "\_\_\_"  
Sample input Volume [ul]: ..... " 400"  
Elution volume [ul]: ..... " 60"

Channel A:  
Sample ID: ..... "717"  
Reagent Kit number: ..... "9801401"  
Reagent Lot number: ..... "1181234567"  
Reagent Expiry date: ..... "1210"  
Assay Kit ID: ..... "717"  
Note: ..... "717"

Channel B:  
Sample ID: ..... "393"  
Reagent Kit number: ..... "9801401"  
Reagent Lot number: ..... "1181234567"  
Reagent Expiry date: ..... "1210"  
Assay Kit ID: ..... "393"  
Note: ..... "393"

Channel C:  
Sample ID: ..... "163"  
Reagent Kit number: ..... "9801401"

Reagent Lot number: ..... "1181234567"  
Reagent Expiry date: ..... "1210"  
Assay Kit ID: ..... "163"  
Note: ..... "163"

Channel D:  
Sample ID: ..... "149"  
Reagent Kit number: ..... "9801401"  
Reagent Lot number: ..... "1181234567"  
Reagent Expiry date: ..... "1210"  
Assay Kit ID: ..... "149"  
Note: ..... "149"

Channel E:  
Sample ID: ..... "719"  
Reagent Kit number: ..... "9801401"  
Reagent Lot number: ..... "1181234567"  
Reagent Expiry date: ..... "1210"  
Assay Kit ID: ..... "719"  
Note: ..... "719"

Channel F:  
Sample ID: ..... "407"  
Reagent Kit number: ..... "9801401"  
Reagent Lot number: ..... "1181234567"  
Reagent Expiry date: ..... "1210"  
Assay Kit ID: ..... "407"  
Note: ..... "407"

[Checksum E95974AC]

## Информация за заявка

Продукт	Съдържание	Каталожен №
EZ1 DSP Virus Kit (48)	За 48 обработки на вирусни нуклеинови киселини и/или бактериална ДНК: Предварително напълнени касети с реактив, еднократни държачи за типчета, еднократни филтърни типчета, епруветки за проби, епруветки за елуат, буфери, носител на РНК	62724
EZ1 Advanced DSP Virus Card	Препрограмирана карта за протокола на EZ1 DSP Virus; за употреба с EZ1 Advanced инструмента	9018306
EZ1 Advanced XL DSP Virus Card	Препрограмирана карта за протокола на EZ1 DSP Virus; за употреба с EZ1 Advanced XL инструмента	9018703
EZ1 DSP Virus Card*	Препрограмирана карта за протокола на EZ1 DSP Virus; за употреба с BioRobot EZ1 DSP инструмента*	9017707
EZ1 Advanced XL	Роботизиран инструмент за автоматизирано пречистване на нуклеинови киселини от до 14 проби, използвайки EZ1 Kits, 1-годишна гаранция за частите и лабораторните неща*†	9001492
EZ1 Advanced	Роботизиран инструмент за автоматизирано пречистване на нуклеинови киселини от до 14 проби, използвайки EZ1 Kits, 1-годишна гаранция за частите и лабораторните неща†	9001411
ATL (4x 50 ml)	4x 50 ml ATL	939016

\* Не се предлага в САЩ и Канада.

† Препоръчва се Гаранция PLUS 2 (каталожен № 9237720): 3-годишна гаранция, 1 профилактично посещение за поддръжка на година, 48-часово отзоваване с приоритет, всички лабораторни неща, транспорт и части за ремонт.

Продукт	Съдържание	Каталожен №
Buffer ASL (4x 140 ml)	4x 140 ml Buffer ASL	19082

Посетете [www.qiagen.com/products/assays](http://www.qiagen.com/products/assays), за да прочетете повече относно анализните технологии на QIAGEN!

За актуална лицензна информация и специфични за продукта откази, вижте съответния наръчник за кита на QIAGEN или наръчника за потребителя. QIAGEN наръчниците за кита и наръчниците за потребителите се намират на [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) или могат да се изискват от QIAGEN Technical Services или вашия локален дистрибутор.

Тази страница нарочно е оставена празна.

Тази страница нарочно е оставена празна.

Търговски марки: QIAGEN®, EZ1® (QIAGEN Group).

Ограничен лицензионен договор

Използването на този продукт показва съгласието на всеки купувач или потребител на EZ1 DSP Virus Kit със следните условия:

1. EZ1 DSP Virus Kit може да се използва самостоятелно в съответствие с *EZ1 DSP Virus Kit Handbook* и с компоненти, съдържащи се само в кита. QIAGEN не предоставя лиценз на която и да било от своите интелектуални собствениности за използване или интегриране на включените в този кит компоненти с други невключени в този кит компоненти, с изключение на описаните в *EZ1 DSP Virus Kit Handbook* и допълнителните протоколи, налични на [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
2. QIAGEN не дава гаранции, освен изрично посочените лицензии, че този кит и/или неговите потребители не нарушават правата на трети страни.
3. Този кит и неговите компоненти са лицензирани за еднократна употреба и не бива да се използват повторно, да се ремонтират или препродават.
4. QIAGEN изрично отхвърля всякакви други лицензии, изразени или подразбиращи се, различни от изрично посочените.
5. Купувачът и потребителят на кита са съгласни да не допускат или позволяват на друг да предприема действия, които да доведат до или да спомогнат за действия, забранени по-горе. QIAGEN може да наложи спазването на забраните в този Ограничен лицензионен договор във всеки един съд и трябва да покрие всички разходи за проучвания и на съда, включително адвокатски такси, във всяко едно действие за влизане в сила на Ограничителния лицензионен договор или на което и да е свое право върху интелектуална собственост, отнасящи се до кита и/или неговите компоненти.

За актуални лицензионни условия, виж [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2015 QIAGEN, всички права запазени.

---

[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

**Australia** ■ Orders 03-9840-9800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technical 1-800-243-066

**Austria** ■ Orders 0800/28-10-10 ■ Fax 0800/28-10-19 ■ Technical 0800/28-10-11

**Belgium** ■ Orders 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technical 0800-79556

**Brazil** ■ Orders 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

**Canada** ■ Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

**China** ■ Orders 021-3865-3865 ■ Fax 021-3865-3965 ■ Technical 800-988-0325

**Denmark** ■ Orders 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technical 80-885942

**Finland** ■ Orders 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technical 0800-914413

**France** ■ Orders 0-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930 ■ Offers 01-60-920-928

**Germany** ■ Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

**Hong Kong** ■ Orders 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technical 800 930 425

**Ireland** ■ Orders 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technical 1800 555 061

**Italy** ■ Orders 02-33430-420 ■ Fax 02-33430-426 ■ Technical 800-787980

**Japan** ■ Telephone 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

**Korea (South)** ■ Orders 1544 7145 ■ Fax 1544 7146 ■ Technical 1544 7145

**Luxembourg** ■ Orders 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technical 8002-2067

**Mexico** ■ Orders 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technical 01-800-7742-639

**The Netherlands** ■ Orders 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technical 0800-0229602

**Norway** ■ Orders 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technical 800-18712

**Singapore** ■ Orders 65-67775366 ■ Fax 65-67785177 ■ Technical 65-67775366

**Spain** ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

**Sweden** ■ Orders 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technical 020-798328

**Switzerland** ■ Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

**UK** ■ Orders 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technical 01293-422-999

**USA** ■ Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

