

# NX-48S Bakteriální DNA Kit

## Uživatelský návod

**BD146, BD156, BD166  
BD143, BD153, BD163**



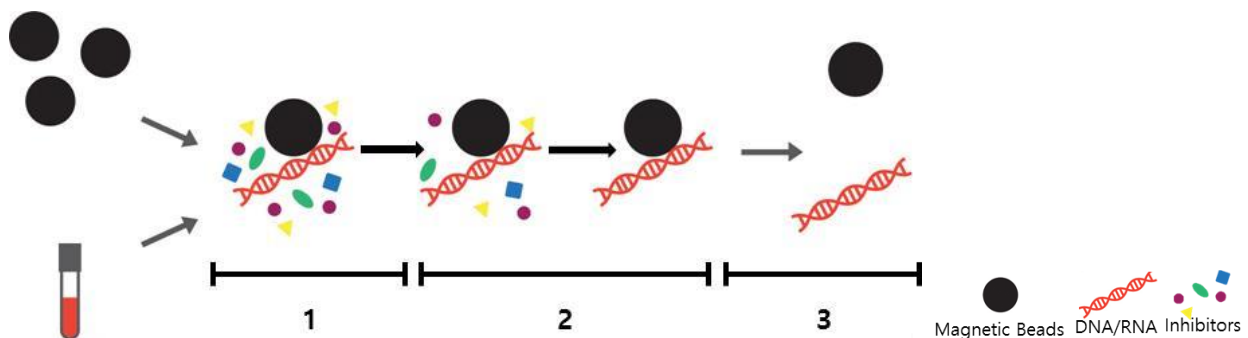
# Obsah

1. Přehled .....	3
2. Princip postupu .....	3
3. Součásti a platnost produktu.....	3
4. Další požadované materiály a vybavení.....	3
5. Varování a bezpečnostní pokyny .....	3
6. Odběr a skladování vzorků.....	4
7. Proces experimentu.....	4
7.1 DNA extrakce ze vzorků moči.....	5
7.2 DNA extrakce z vaginálního/cervikálního/genitálního/uretrového výtěru, semene a vředů .....	7
7.3 DNA extrakce z nezpracovaného (viskózního) sputa.....	9
7.4 DNA extrakce ze sputa, ošetřeného pomocí NaOH nebo NaOH/NALC.....	11
7.5 DNA extrakce z/ze bronchoalveolární laváže (BAL), pleurální tekutiny, ascitické tekutiny, synoviální tekutiny, tělních tekutin, likvoru, bronchiálního výplachu a brushingu, stěrů z rány (hnisu) a vzorků moče .....	13
7.6 DNA Extrakce ze vzorků kolonií a media .....	15
8. Řešení potíží.....	17
9. Vysvětlení symbolů.....	17

## 1. Přehled

**Souprava NX-48S Bakteriální DNA Kit** slouží jako automatický extrakční systém pro izolaci vysoce kvalitní DNA ze vzorků moči, genitálních/vaginálních výtěrů, EPS, semene, sputa, BALu, BF a dalších typů vzorků. Tato extrakční souprava je navržena pro použití se systémem Nextractor® NX-48S pro zajištění izolace s velkým výtěžkem a vysokou kvalitou DNA ze vzorků. Podrobnosti najdete v samostatné příručce pro Nextractor® NX-48S.

## 2. Principy postupu



1. 『Lyzační fáze a vazba DNA na magnetické kuličky』. Nyní je vzorek smíchan s lyzačním roztokem a magnetickými kuličkami. V tomto kroku je DNA extrahována a váže se na magnetické kuličky.
2. 『DNA přečištění I / přečištění II』. V tomto kroku jsou inhibitory ovlivňující PCR reakci odstraněny promývacím roztokem.
3. 『DNA eluční fáze』. V tomto kroku je DNA, která je vázána na magnetických kuličkách, uvolněna do elučního pufu.

## 3. Součásti a platnost produkt

	Kód produktu					
	BD143	BD153	BD163	BD146	BD156	BD166
<b>Velikost balení</b>	48 Testů			96 Testů	48 Testů	
<b>BD Lysis Solution</b>	120 mL X 1 Lahev			-		
<b>Typ kazety</b>	96 jamek X 2 kusy	32 jamek X 6 kusů	4 jamky X 48 kusů	96 jamek X 4 kusy	32 jamek X 6 kusů	4 jamky X 48 kusů
<b>Stripy</b>	1 balení (6 kusů)		3 balení (18 kusů)	2 balení (12 kusů)	1 balení (6 kusů)	3 balení (18 kusů)

- Platnost: Tento kit má dobu trvalivosti 1 rok za podmínek skladování 15~35°C.



## 4. Další požadované materiály a vybavení

1. Jednorázové rukavice
2. Pipety a jednorázové špičky
3. Vortex
4. Mikrocentrifuga
5. Automatický izolační systém **Nextractor® NX-48S**
6. Zahřívací blok

## 5. Varování a bezpečnostní pokyny

Reagenční kazety obsahují ethanol a chaotropní sůl. Tyto látky by měly být považovány za hořlavé, škodlivé a dráždivé. Nextractor® NX-48S a reagenční kazety jsou navrženy pro použití s potenciálně infekčními látkami. Při manipulaci s infekčními látkami by uživatelé měli používat vhodné osobní ochranné prostředky (např. rukavice a laboratorní plášť).

Abyste předešli kontaminaci produktu ze strany uživatele a prostředí, před použitím oblast očistěte. Nepoužívejte produkt k jinému než určenému účelu.

	<p><b>Škodlivé</b> – může způsobit přecitlivělost při styku s kůží. Vyvarujte se kontaktu s kůží, používejte vhodné rukavice. Škodlivý pro vodní zdroje, může mít dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí. <b>Obsahuje:</b> Chaotropní sůl</p>
	<p><b>Vysoce hořlavé</b>- chraňte před zdrojem vznícení, zákaz kouření <b>Obsahuje:</b> Etanol</p>

## 6. Odběr a skladování vzorků

### (1) Odběr vzorků

- NX-48S Bacteria DNA Kit je optimalizován pro extrakci DNA/RNA z různých druhů vzorků.

### (2) Skladování vzorků

- Doporučuje se, aby byly klinické vzorky skladovány při teplotě -20 ~ -80°C.

## 7. Proces experimentu

### Důležité poznámky před spuštěním

- NX-48S Bacteri DNA Kit by měl být používán se systémem Nextractor® NX-48S

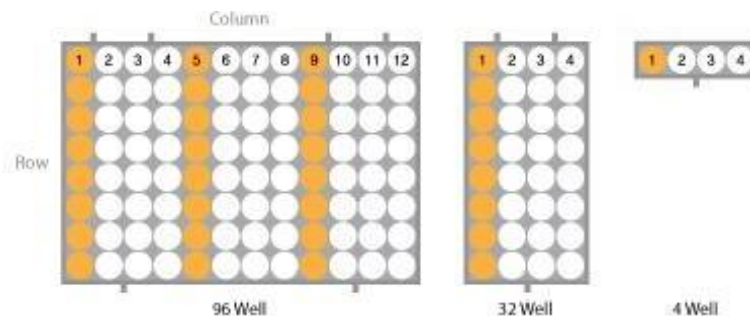
\* \* Všechny izolace by měly být zpracovány při teplotě mezi 15~35°C.

\* \* Extrakční souprava Genolution by měla být udržována při teplotě mezi 15 ~ 35 °C. V opačném případě může být výsledek ovlivněn.

## 7.1 DNA Extrakce ze vzorků moči (BD146, BD156, BD166)

### Postup

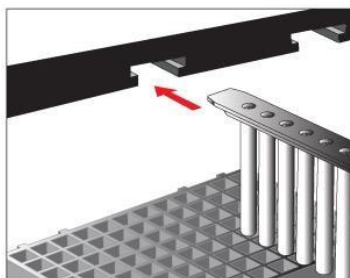
- (1) Vortexujte vzorek moči po dobu 10 sekund. Přeneste asi 10 ~ 15 mL vzorku do čisté zkumavky.
- (2) Centrifugujte po dobu 15 minut při 3,000 otáčkách (rpm).
- (3) Odstraňte přebytečný supernatant a izolujte pouze z 250  $\mu$ L vzorku.
- (4) Určete si přesný počet vzorků, který bude testován a opatrně sundejte těsnící fólii.
- (5) Vortexujte vzorek po dobu 10 sekund. Přeneste 200  $\mu$ L vzorku do jamek pro vzorky do destičky. Při přidávání vzorků dávejte pozor, abyste nezaměnili vzorky.



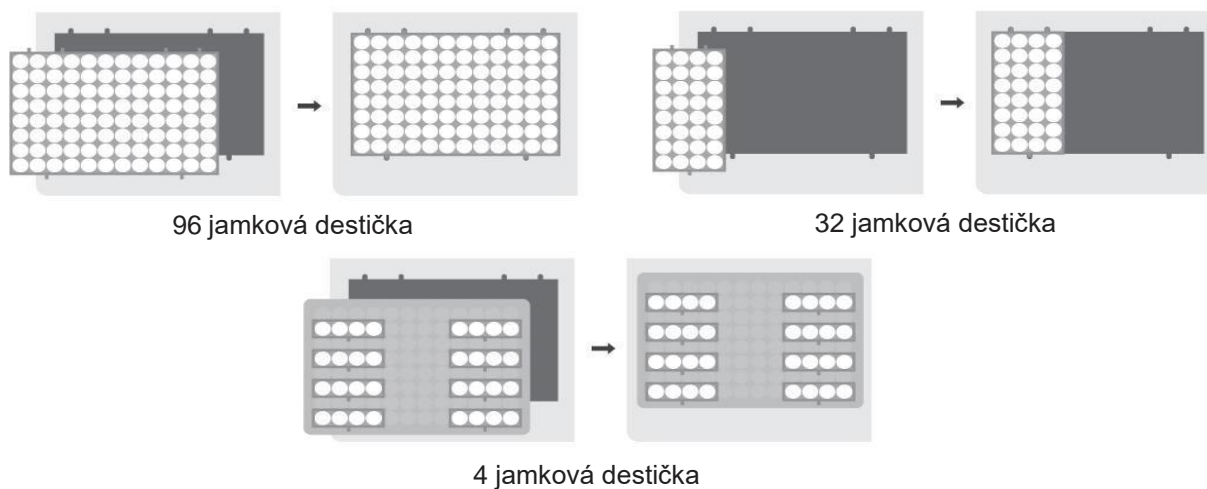
Jamky pro vzorky jsou zvýrazněny oranžově.

96 jamková destička: 1., 5., a 9. sloupec; 32 jamková destička: 1. sloupec; 4 jamková destička: 1. sloupec

- (6) Otevřete přední skleněná dvířka Nextractor® NX-48S a vytáhněte nakládací panel.
- (7) Vložte stripy do daných pozic držáku a plně je zatlačte dozadu.  
\*Ujistěte se, že jsou stripy dotlačeny úplně dovnitř.



- (8) Umístěte izolační kazety na nakládací panel.

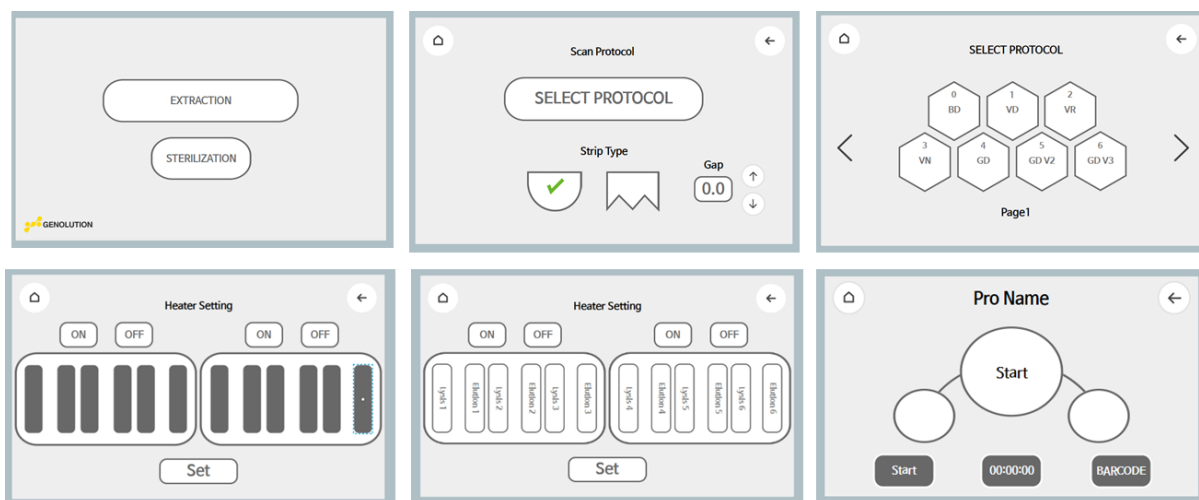


\* Umístěte 4-jamkovou kazetu na dodaný adaptér a položte jej na nakládací panel přístroje. Jemně zatlačte 4-jamkové kazety směrem dolů, aby se zajistilo, že jsou ve správné poloze a dobře sedí v nakládacím panelu.

(9) Zatlačte nakládací panel dovnitř, až uslyšíte cvaknutí. Zavřete dvířka přístroje jejich zatažením dolů.

(10) EXTRACTION → vyberte oblý typ stripu → SELECT PROTOCOL → vyberte protokol BD → Stisknutím tlačítka ON/OFF zapnete/vypnete ohřev pro levý a pravý blok → Stisknutím tlačítka Set potvrdíte nastavení → Start

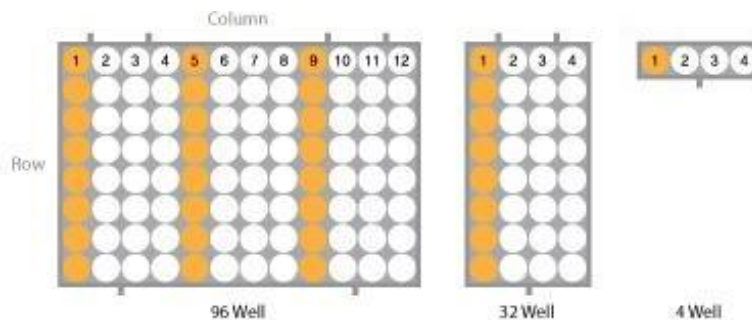
\*Bílé pozadí indikuje, že je ohřev pro bloky zapnutý.



## 7.2 DNA Extrakce z vaginálních/cervikálních/genitálních/uretrálních výtěrů, semene a vředů (BD146, BD156, BD166)

### Proces

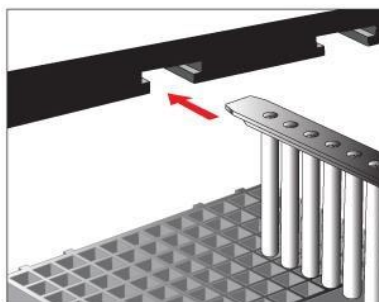
- (1) Určete si přesný počet vzorků, který bude testován a opatrně sundejte těsnící fólii.
- (2) Vortexujte vzorek po dobu 10 sekund. Přeneste 200 µL vzorku do jamek pro vzorky do destičky. Při přidávání vzorků dávejte pozor, abyste nezaměnili vzorky.



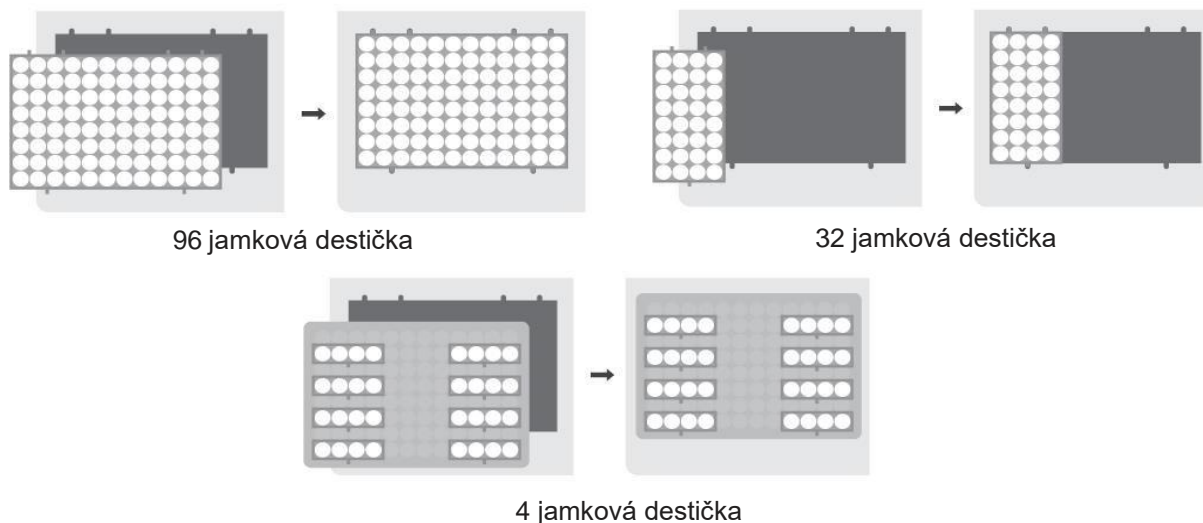
Jamky pro vzorky jsou zvýrazněny oranžově.

96 jamková destička: 1., 5., a 9. sloupec; 32 jamková destička: 1. sloupec; 4 jamková destička: 1. sloupec

- (3) Otevřete přední skleněná dvířka Nextractor® NX-48S a vytáhněte nakládací panel.
- (4) Vložte stripy do daných pozic držáku a plně je zatlačte dozadu.  
\* Ujistěte se, že jsou stripy dotlačeny úplně dovnitř.



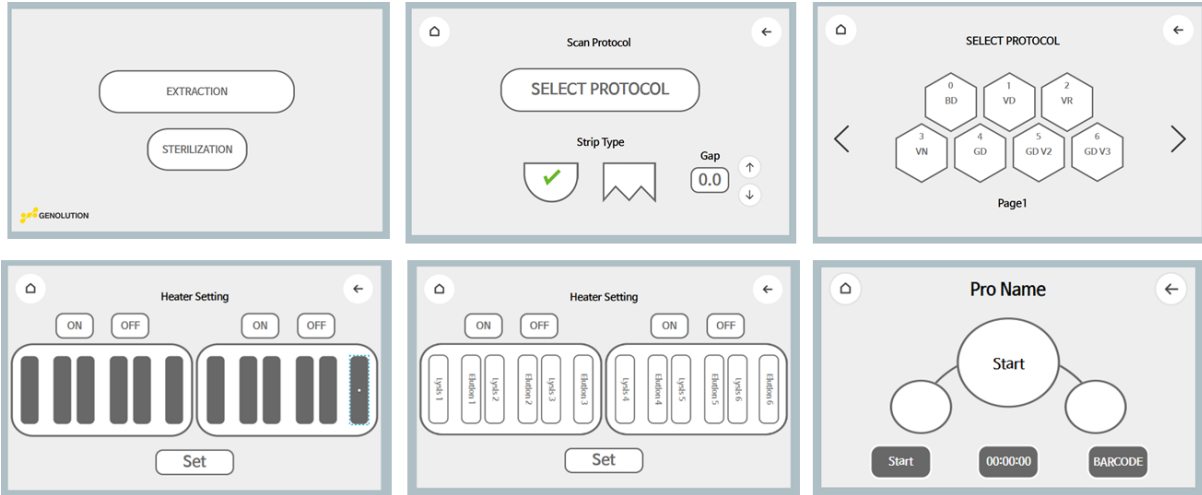
- (5) Umístěte izolační kazety na nakládací panel.



\* Umístěte 4-jamkovou kazetu na dodaný adaptér a položte jej na nakládací panel přístroje. Jemně zatlačte 4-jamkové kazety směrem dolů, aby se zajistilo, že jsou ve správné poloze a dobře sedí v nakládacím panelu.



- (6) Zatlačte nakládací panel dovnitř, až uslyšíte cvaknutí. Zavřete dvířka přístroje jejich zatažením dolů.
- (7) EXTRACTION → vyberte oblý typ stripu → SELECT PROTOCOL → vyberte protokol BD → Stisknutím tlačítka ON/OFF zapnete/vypnete ohřev pro levý a pravý blok → Stisknutím tlačítka Set potvrdíte nastavení → Start



\* Bílé pozadí indikuje, že je ohřev pro bloky zapnutý.

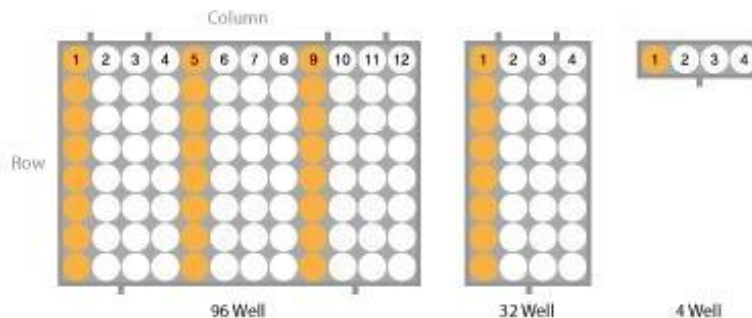
## 7.3 DNA Extrakce z čerstvého (viskózního) Sputa (BD143, BD153, BD163)

### Proces

#### *\*Důležitá poznámka*

Jelikož inkubace vzorku s roztokem **BD Lysis Solution** rychle inaktivuje infekčnost *Mycobacteria*, všechny extrakční kroky by měly být provedeny až po tepelné inaktivaci, jak je popsáno v následném protokolu.

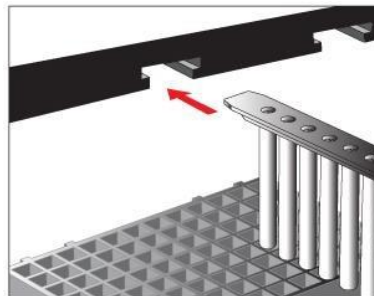
- (1) Přidejte 2–3x takové množství roztoku **BD Lysis Solution** k nezpracovanému vzorku sputa do zkumavky a vortexujte 10 sekund. Vzorek ponechte při pokojové teplotě 15~35°C po dobu 1 minuty.
- (2) Napipetujte 1 mL roztoku Solution Mixture do 1.5 mL zkumavky. Sputum by mělo přidáním roztoku zkapalnit pro snadnější manipulaci.
- (3) Inkubujte ve 100°C po dobu 5 minut v termálním bloku. Zahřívání vzorku kompletně inaktivuje všechny bakterie z bezpečnostních důvodů. Ujistěte, že jsou zkumavky řádně uzavřeny pomocí zámku (cap-lock) kvůli vysoké teplotě.
- (4) Určete si přesný počet vzorků, který bude testován a opatrně sundejte těsnící fólii.
- (5) Dávkujte každý vzorek do jamek pro vzorky na destičce. Dejte si pozor, abyste nezaměnili vzorky.



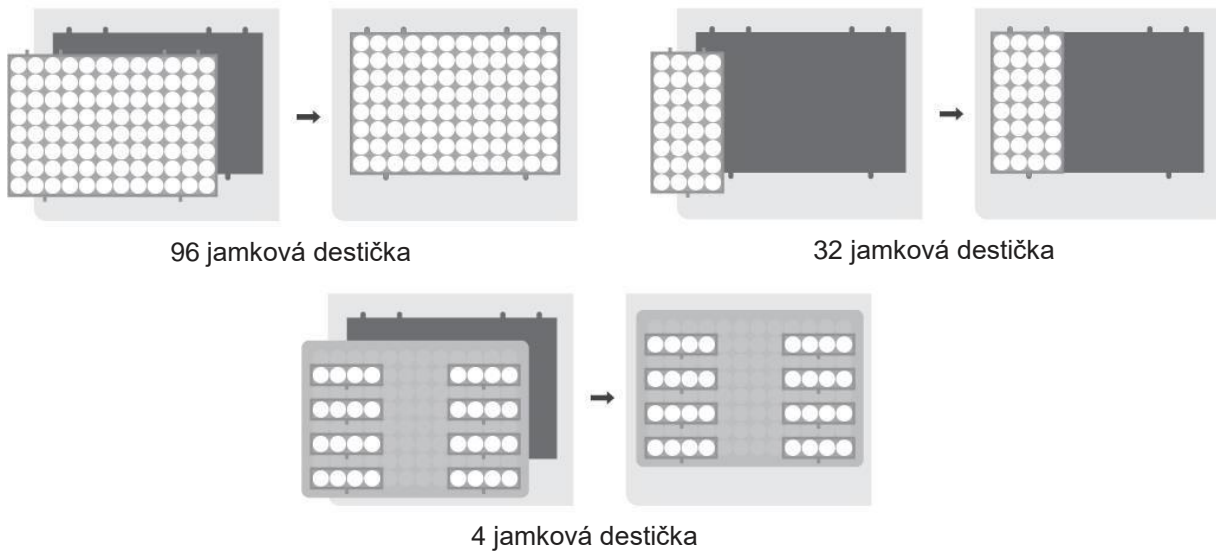
Jamky pro vzorky jsou zvýrazněny oranžově.

96 jamková destička: 1., 5., a 9. sloupec; 32 jamková destička: 1. sloupec; 4 jamková destička: 1. sloupec

- (6) Otevřete přední skleněná dvířka Nextractor® NX-48S a vytáhněte nakládací panel.
- (7) Vložte stripy do daných pozic držáku a plně je zatlačte dozadu.  
\* Ujistěte se, že jsou stripy dotlačeny úplně dovnitř.



(8) Umístěte izolační kazety na nakládací panel.

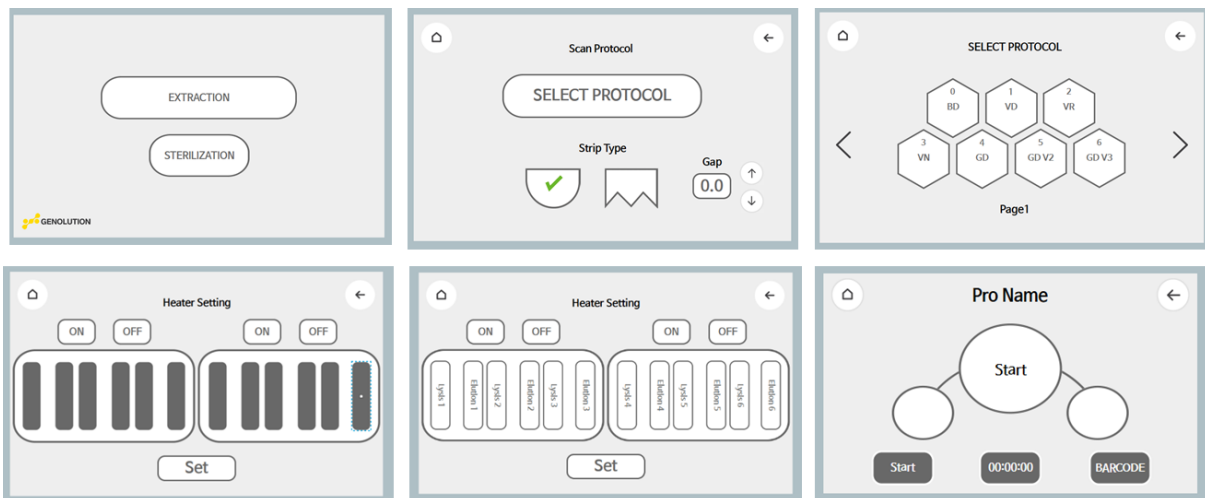


\*Umístěte 4-jamkovou kazetu na dodaný adaptér a položte jej na nakládací panel přístroje. Jemně zatlačte 4-jamkové kazety směrem dolů, aby se zajistilo, že jsou ve správné poloze a dobře sedí v nakládacím panelu

(9) Zatlačte nakládací panel dovnitř, až uslyšíte cvaknutí. Zavřete dvířka přístroje jejich zatažením dolů.

(10) EXTRACTION → vyberte oblý typ stripu → SELECT PROTOCOL → vyberte protokol BD → Stisknutím tlačítka ON/OFF zapnete/vypnete ohřev pro levý a pravý blok → Stisknutím tlačítka Set potvrdíte nastavení → Start

\* Bílé pozadí indikuje, že je ohřev pro bloky zapnutý.



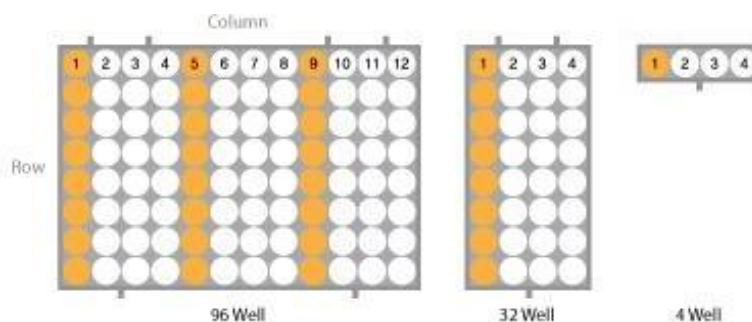
## 7.4 DNA Extrakce ze sputa přidáním NaOH nebo NaOH/NALC (BD143, BD153, BD163)

### Proces

#### *\*Důležitá poznámka*

Jelikož inkubace vzorku sputa s roztokem **BD Lysis Solution** rychle inaktivuje infekčnost *Mycobacteria*, všechny extrakční kroky by měly být provedeny až po tepelné inaktivaci, jak je popsáno v následném protokolu.

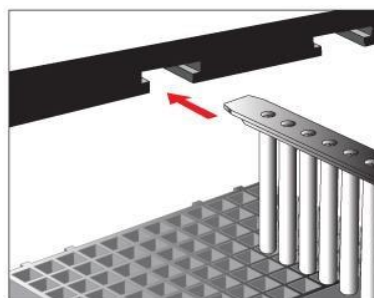
- (1) Přeneste 1 mL NaOH, NaOH/NALC předem ošetřeného sputa do 1.5 mL centrifugační zkumavky a centrifugujte po dobu 1 minuty při 13,000 rpm (11,400 Xg).
- (2) Odstraňte nadbytečný supernatant a ponechte pouze 250 µL vzorku.
- (3) Přidejte 800 µL **BD Lysis Solution** a vortexujte dokud se pelet kompletně nerozpustí.
- (4) Inkubujte při 100°C po dobu 5 minut v termálním bloku. Zahřívání vzorku kompletně inaktivuje všechny bakterie z bezpečnostních důvodů. Ujistěte, že jsou zkumavky řádně uzavřeny pomocí zámku (cap-lock) kvůli vysoké teplotě.
- (5) Určete si přesný počet vzorků, který bude testován a opatrně sundejte těsnící fólii.
- (6) Dávkujte každý vzorek do jamek pro vzorky na destičce. Dejte si pozor, abyste nezaměnili vzorky.



Jamky pro vzorky jsou zvýrazněny oranžově.

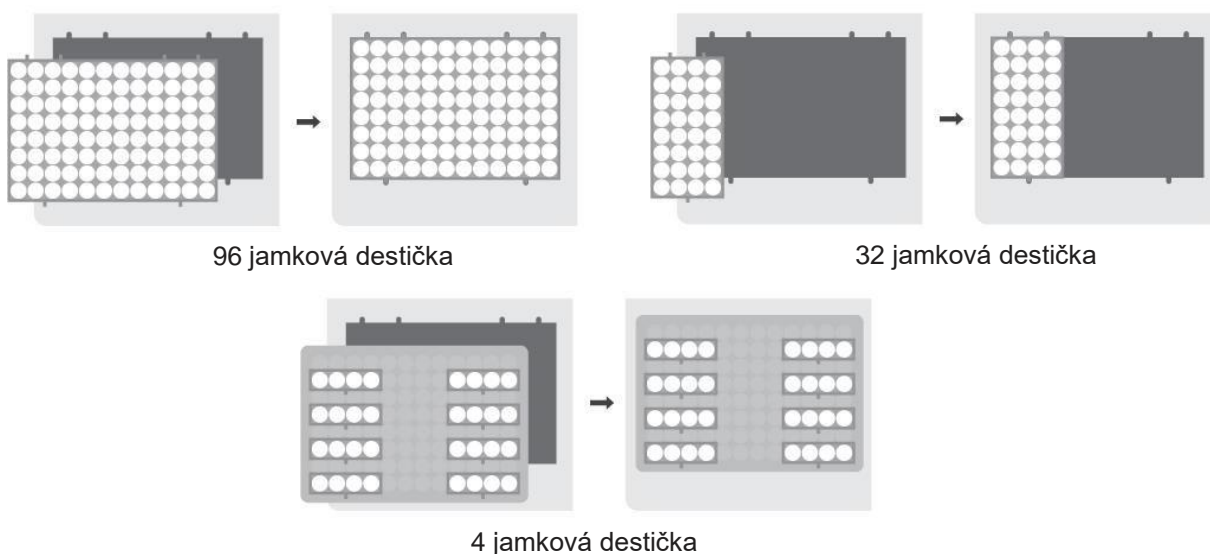
96 jamková destička: 1., 5., a 9. sloupec; 32 jamková destička: 1. sloupec; 4 jamková destička: 1. sloupec

- (7) Otevřete přední skleněná dvířka Nextractor® NX-48S a vytáhněte nakládací panel.
- (8) Vložte stripy do daných pozic držáku a plně je zatlačte dozadu.



\* Ujistěte se, že jsou stripy dotlačeny úplně dovnitř.

Umístěte izolační kazety na nakládací panel.

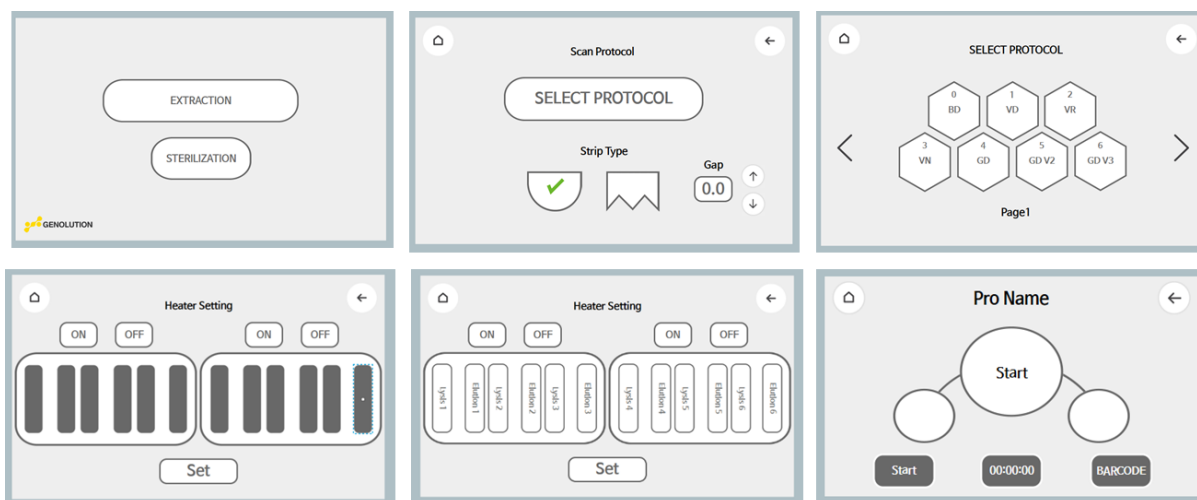


\*Umístěte 4-jamkovou kazetu na dodaný adaptér a položte jej na nakládací panel přístroje. Jemně zatlačte 4-jamkové kazety směrem dolů, aby se zajistilo, že jsou ve správné poloze a dobře sedí v nakládacím panelu.

(9) Zatlačte nakládací panel dovnitř, až uslyšíte cvaknutí. Zavřete dvířka přístroje jejich zatažením dolů.

(10) EXTRACTION → vyberte oblý typ stripu → SELECT PROTOCOL → vyberte protokol BD → Stisknutím tlačítka ON/OFF zapnete/vypnete ohřev pro levý a pravý blok → Stisknutím tlačítka Set potvrdíte nastavení → Start

\* Bílé pozadí indikuje, že je ohřev pro bloky zapnutý.



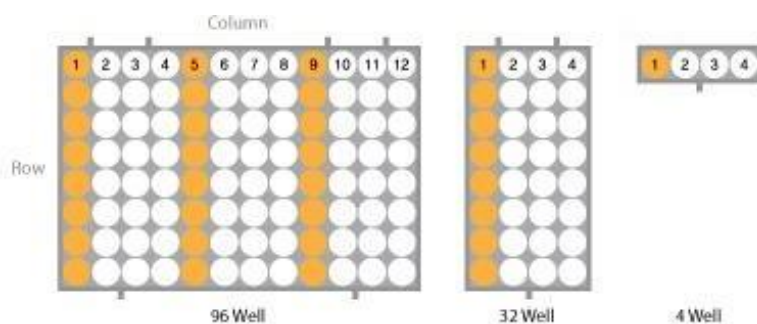
## 7.5 DNA extrakce z/ze bronchoalveolární laváže (BAL), pleurální tekutiny, ascitické tekutiny, synoviální tekutiny, tělních tekutin, likvoru, bronchiálního výplachu a brushing, stěrů z rány (hnisu) a vzorků moče (BD143, BD153, BD163)

### Proces

#### *\*Důležitá poznámka*

Jelikož inkubace vzorku sputa s roztokem **BD Lysis Solution** rychle inaktivuje infekčnost *Mycobacteria*, všechny extrakční kroky by měly být provedeny až po tepelné inaktivaci, jak je popsáno v následném protokolu.

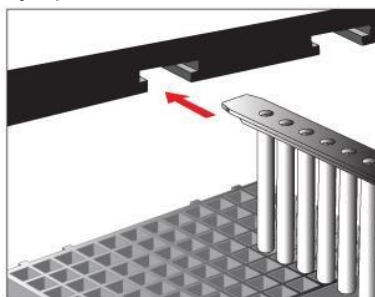
- (1) Vzorek vortexujte po dobu 10 vteřin. Přeneste 1 mL vzorku do 1.5 mL centrifugační zkumavky. Centrifugujte po dobu 1 minuty při 13,000 rpm (11,400 x g).  
\*Pokud vzorek obsahuje velké množství krve, použijte pouze 250 µL vzorku.  
\*Pokud je vzorek příliš lepkavý či viskózní, použijte protokol pro „DNA extrakce z čerstvého (lepkavého/viskózního) sputa“.
- (2) Odstraňte nadbytečný supernatant a ponechte pouze 250 µL vzorku.
- (3) Přidejte 800 µL **BD Lysis Solution** a vortexujte dokud se pelet úplně nerozpustí.
- (4) Inkubujte při 100°C po dobu 5 minut v termálním bloku. Zahřívání vzorku úplně inaktivuje všechny bakterie z bezpečnostních důvodů. Ujistěte, že jsou zkumavky řádně uzavřeny pomocí zámku (cap-lock) kvůli vysoké teplotě.
- (5) Určete si přesný počet vzorků, který bude testován a opatrně sundejte těsnící fólii.
- (6) Dávkujte každý vzorek do jamek pro vzorky na destičce. Dejte si pozor, abyste nezaměnili vzorky.



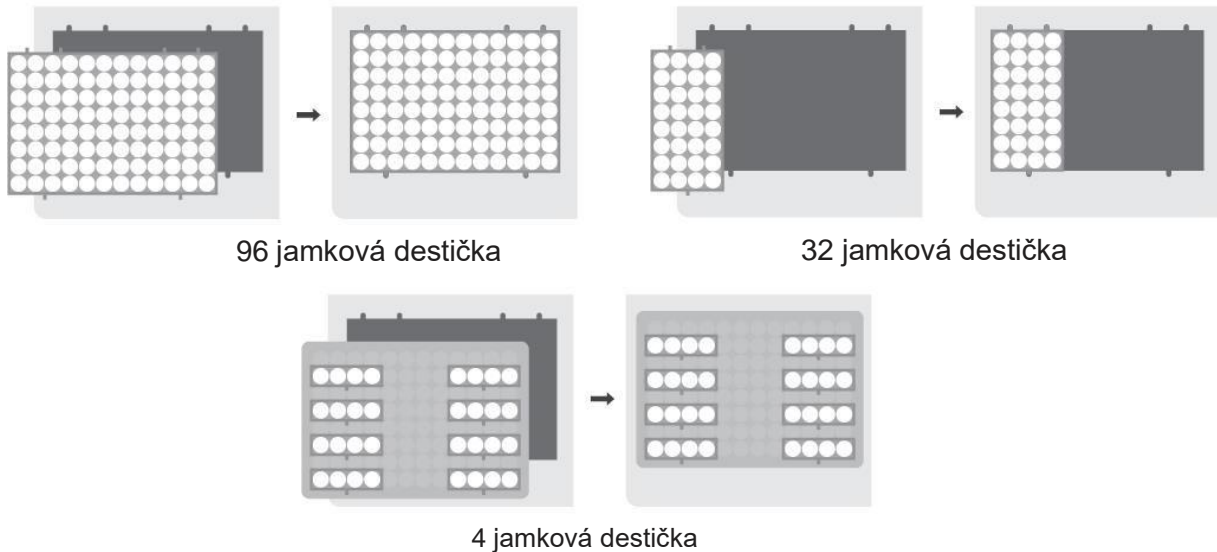
Jamky pro vzorky jsou zvýrazněny oranžově.

96 jamková destička: 1., 5., a 9. sloupec; 32 jamková destička: 1. sloupec; 4 jamková destička: 1. sloupec

- (7) Otevřete přední skleněná dvířka Nextractor® NX-48S a vytáhněte nakládací panel.
- (8) Vložte stripy do daných pozic držáku a plně je zatlačte dozadu.  
\* Ujistěte se, že jsou stripy dotlačeny úplně dovnitř.



Umístěte izolační kazety na nakládací panel.

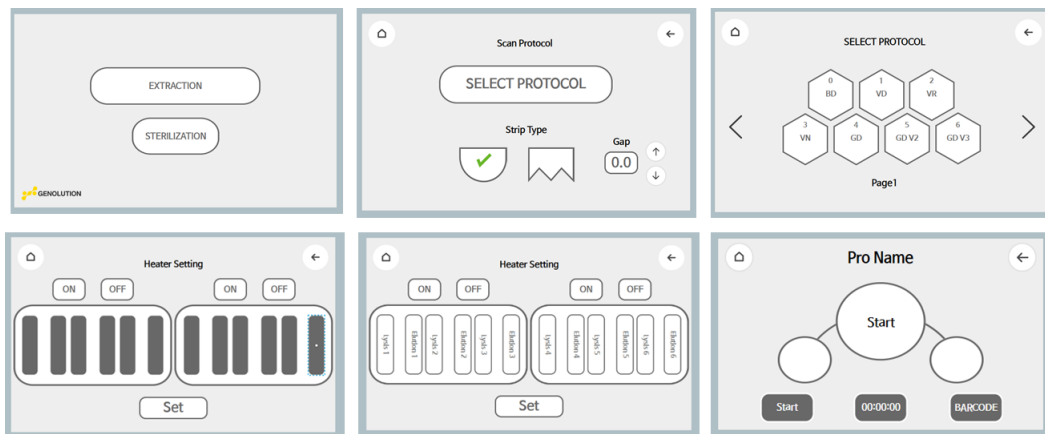


Umístěte 4-jamkovou kazetu na dodaný adaptér a položte jej na nakládací panel přístroje. Jemně zatlačte 4-jamkové kazety směrem dolů, aby se zajistilo, že jsou ve správné poloze a dobře sedí v nakládacím panelu

(9) Zatlačte nakládací panel dovnitř, až uslyšíte cvaknutí. Zavřete dvířka přístroje jejich zatažením dolů.

(10) EXTRACTION → vyberte oblý typ stripu → SELECT PROTOCOL → vyberte protokol BD → Stisknutím tlačítka ON/OFF zapnete/vypnete ohřev pro levý a pravý blok → Stisknutím tlačítka Set potvrdíte nastavení → Start

\* Bílé pozadí indikuje, že je ohřev pro bloky zapnutý.





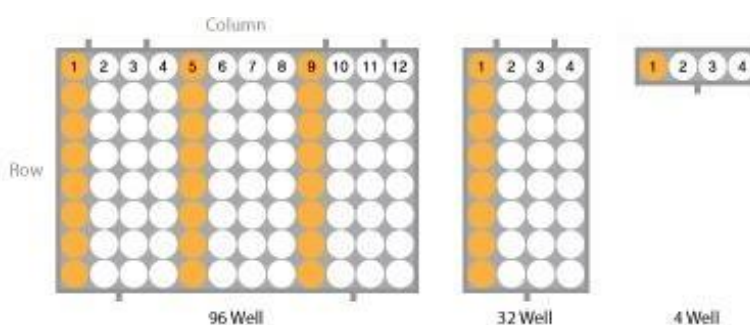
## 7.6 DNA Extrakce ze vzorků kolonií a media (BD143, BD153, BD163)

### Proces

#### *\*Důležitá poznámka*

Jelikož inkubace vzorku sputa s roztokem **BD Lysis Solution** rychle inaktivuje infekčnost *Mycobacteria*, všechny extrakční kroky by měly být provedeny až po tepelné inaktivaci, jak je popsáno v následném protokolu

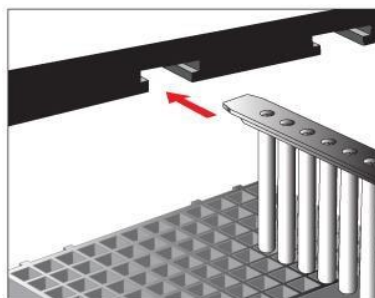
- (1) (1-1) Rozsuspendujte vzorek kolonií v 1X PBS nebo sterilní destilované vodě (250 µL).  
(1-2) Po promíchání vzorku media pomocí vortexu, přidejte 250 µL vzorku do 1.5 mL centrifugační zkumavky.
- (2) Přidejte 800 µL **BD Lysis Solution** ke vzorku bakterií nebo media a vortexujte 10 sekund.
- (3) Inkubujte při 100°C po dobu 5 minut v termálním bloku. Zahřívání vzorku kompletně inaktivuje všechny bakterie z bezpečnostních důvodů. Ujistěte, že jsou zkumavky řádně uzavřeny pomocí zámku (cap-lock) kvůli vysoké teplotě
- (4) Určete si přesný počet vzorků, který bude testován a opatrně sundejte těsnící fólii.
- (5) Dávkujte každý vzorek do jamek pro vzorky na destičce. Dejte si pozor, abyste nezaměnili vzorky.



Jamky pro vzorky jsou zvýrazněny oranžově.

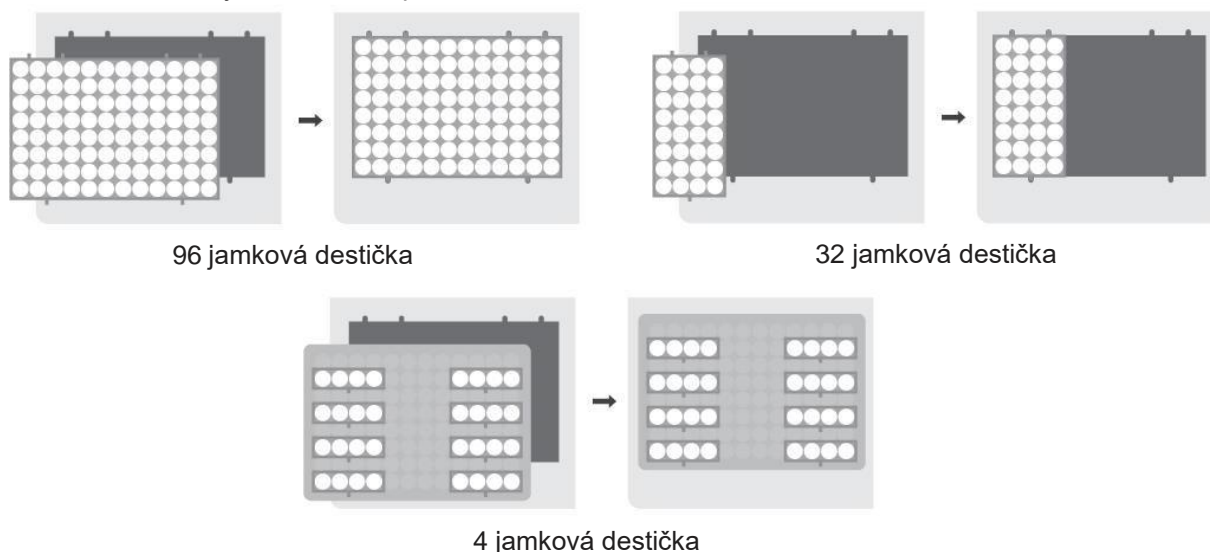
96 jamková destička: 1., 5., a 9. sloupec; 32 jamková destička: 1. sloupec; 4 jamková destička: 1. sloupec

- (6) Otevřete přední skleněná dvířka Nextractor® NX-48S a vytáhněte nakládací panel.
- (7) Vložte stripy do daných pozic držáku a plně je zatlačte dozadu.  
\* Ujistěte se, že jsou stripy dotlačeny úplně dovnitř.



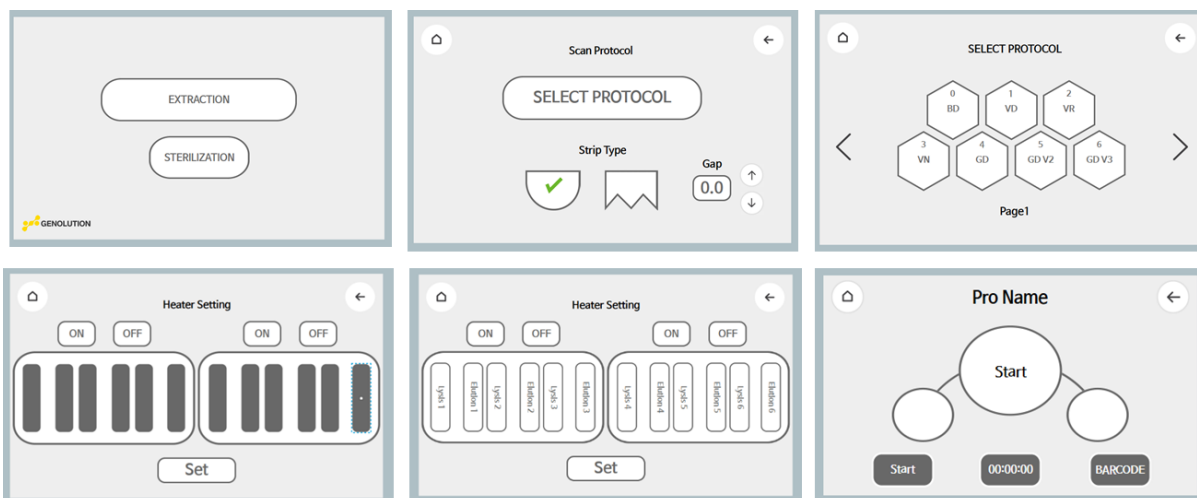


Umístěte izolační kazety na nakládací panel.



\* Umístěte 4-jamkovou kazetu na dodaný adaptér a položte jej na nakládací panel přístroje. Jemně zatlačte 4-jamkové kazety směrem dolů, aby se zajistilo, že jsou ve správné poloze a dobře sedí v nakládacím panelu.

- (8) Zatlačte nakládací panel dovnitř, až uslyšíte cvaknutí. Zavřete dvířka přístroje jejich zatažením dolů.
- (9) EXTRACTION → vyberte oblý typ stripu → SELECT PROTOCOL → vyberte protokol BD → Stisknutím tlačítka ON/OFF zapnete/vypnete ohřev pro levý a pravý blok → Stisknutím tlačítka Set potvrdíte nastavení → Start
- \* Bílé pozadí indikuje, že je ohřev pro bloky zapnutý.




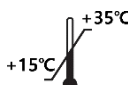









## 8. Řešení potíží

Máte-li jakékoli dotazy týkající se produktu, kontaktujte prosím společnost Genolution nebo místního distributora.

Příznaky	Příčiny a komentáře
Značná ztráta elučního pufu či úplná nepřítomnost roztoku v jamce po dokončení izolace.	Eluant může být viskózní kvůli velmi vysokému výtěžku izolace. Před izolací zmenšete objem vzorku pro izolaci nebo vzorek naředte.
Nadměrné množství mag.kuliček v eluční jamce.	Použitý vzorek obsahuje příměs určitých nečistot. Vložte kazetu do přiloženého fixátoru magnetických kuliček a využijte supernatant z eluční jamky.
Špatná amplifikace	Přebytečné magnetické kuličky mohou ovlivňovat následné aplikace s izolátem. Zbytky magnetických kuliček odstraňte pomocí dodaného fixátoru magnetických kuliček a využijte supernatant z eluční jamky.
Zkřížená kontaminace	Pro každý vzorek použijte sterilizované jednorázové laboratorní prostředky, abyste zabránili kontaminaci vzorku.
	Při nanesení vzorku do jamky zabraňte rozstříknutí vzorku, abyste minimalizovali kontaminaci sousedních jamek.

## 9. Vysvětlení symbolů

Symboly	Vysvětlení	Symboly	Vysvětlení
	Jednorázové použití		Číslo šarže
	Použití do		Teplotní rozmezí optimální pro skladování
	Datum výroby		Výrobce
	Kód výrobku		Obsah
	Počet testů		CE-IVD značka
	Autorizovaný evropský zástupce		

### Head Office

Address: Rm 506, Rm 804, Bldg.A, 11, Beobwon-ro 11-gil, Songpa-gu, Seoul 05836, Republic of Korea

Tel: +82-2-449-8670 Fax: +82-2-449-8671