

# Uživatelská příručka pro izolační soupravy SaMag

Pro použití s automatickými extrakčními systémy **SaMag-12** a **SaMag-24** od společnosti Sacace Biotechnologies

- **SaMag TB DNA Extraction Kit (SM008)**



*Sacace Biotechnologies Srl*  
*via Scalabrini, 44 – 22100 – Como – Italy Tel +390314892927 Fax +390314492493*  
*mail: [info@sacace.com](mailto:info@sacace.com) web: [www.sacace.com](http://www.sacace.com)*

# SaMag TB DNA Extraction Kit

## NÁZEV

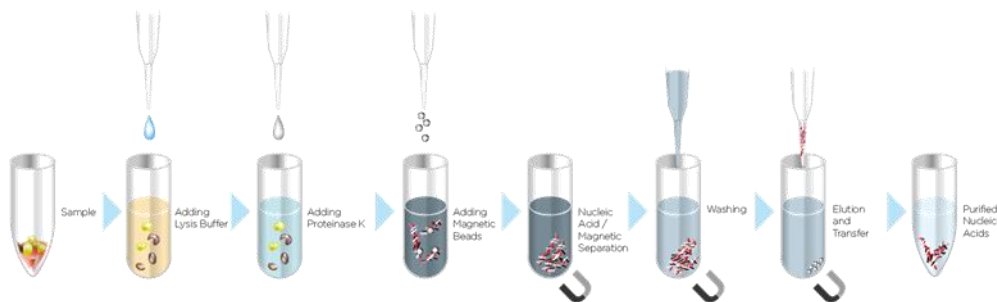
SaMag TB DNA Extraction Kit

## POUŽITÍ

Souprava SaMag TB DNA Extraction Kit je navržena pro použití s přístrojem automatický extrakční automat nukleových kyselin SaMag-12/24 pro extrakci genomové DNA *Mycobacteria* spp. (např. *Mycobacterium tuberculosis*) z různých biologických vzorků.

## PRINCIP TESTU

Proces extrakce se skládá z kroků lyze, navázání nukleové kyseliny, omytí a eluce jak je znázorněno na obrázku níže.



Připravené nukleové kyseliny jsou vhodné pro aplikace, jako je qPCR, sekvenování (NGS), microarray, RFLP, Southern blot nebo jakékoliv enzymatické manipulace.

## MATERIÁL POSKYTNUTÝ SE SOUPRAVOU

- Reagenční kazeta (Reagent cartridge), 48 ks (6x8);
- Reakční nádobka (Reagent chamber), 48 ks (2x 6x4);
- Držák na špičku (Tip holder), 48 ks (2x 6x4);
- Špička s filtrem (Filtered tip), 50 ks (50x1);
- Propichovací kolík (Piercing pin), 50 ks (50x1);
- Zkumavka na vzorek (Sample tube; 2 ml), 50 ks (50x1);
- Eluční zkumavka (Elute tube; 1,5 ml), 50 ks (50x1);
- Pufr BL3 (1x25 ml);
- List s čárovými kódy, 1 list;

Obsahuje reagentie pro provedení 48 testů.

## POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ SOUPRAVY

- Izolátor SaMag-12/24 Automatic Nucleic Acids Extraction System (Sacace Biotechnologies, Itálie)
- Jednorázové vyšetřovací rukavice, bezpudrové
- Mikropipety
- Biohazardní box

## OMEZENÍ POUŽITÍ PRODUKTU

Všechna činidla mohou být používána výlučně v diagnostice in vitro. Použití tohoto přípravku by mělo být omezeno na personál vyškolený v technikách amplifikace DNA. Pro dosažení optimálních výsledků je třeba přísně dodržovat pokyny v uživatelské příručce. Pozornost by měla být věnována datům expirace uvedených na balení a označování všech komponent. Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby použitelnosti.

## OBSAH REAGENČNÍ KAZETY



well-1	Roztok proteinázy K	40 µl
well-2	Lyzační pufr 2	720 µl
well-3	Vazebný pufr 1	720 µl
well-4	Roztok s magnetickými kuličkami	800 µl
well-5	Promývací pufr 1	1000 µl
well-6	Promývací pufr 2	1000 µl
well-7	Promývací pufr 3	1000 µl
well-8	Eluční pufr 1	1000 µl
well-9	Eluční pufr 2	1000 µl
well-10	Pufr N1	300 µl

## SKLADOVÁNÍ

Souprava SaMag TB DNA Extraction Kit by měla být skladována při pokojové teplotě (15-25 °C). Reagenční kazety chraňte před mrazem. Za dodržení těchto podmínek vydrží tyto soupravy být stabilní po dobu 12 měsíců.

Před provedením navazujících analýz skladujte vyizolovanou DNA při teplotě 4°C (krátkodobě), nebo v alikvótách a skladujte při teplotě -70 °C (dlouhodobě).

## UPOZORNĚNÍ A OPATŘENÍ

- Při manipulaci se vzorky a činidly používejte rukavice na jedno použití, pracovní oděv a ochranu očí. Po práci si důkladně umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy.
- Nejezte, nepijte, nekuřte, nepoužívejte kosmetiku, nebo nemanipulujte s kontaktními čočkami v laboratorních prostorách.
- Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby použitelnosti.
- Zlikvidujte všechny vzorky a nevyužitá činidla v souladu s místními předpisy.
- Vzorky by měly být považovány za potenciálně infekční a mělo by s nimi být pracováno v biohazard boxu v souladu s biologickou bezpečností úrovně 2 nebo podle jiných vhodných bezpečnostních postupů.
- Všechny vylité části vzorků nebo činidel ihned vyčistěte za použití dezinfekčního prostředku, jako je např. 0,5% chlornan sodný, nebo jiným vhodným dezinfekčním prostředkem.
- Vyhněte se kontaktu vzorků a činidel s pokožkou, očima a sliznicemi. Pokud tyto roztoky přijdou do kontaktu s těmito částmi těla, okamžitě vypláchněte vodou a ihned vyhledejte lékařskou pomoc.
- Bezpečnostní listy (MSDS) jsou k dispozici na vyžádání.
- Použití tohoto výrobku by mělo být omezeno na pracovníky vyškolené v technikách amplifikace DNA.
- Workflow v laboratoři musí postupovat jednosměrným způsobem, začátek je v prostoru extrakce a pohybuje se ve směru amplifikace a detekce. Nevracejte vzorky, zařízení a chemikálie do oblasti, kde jste provedli předchozí krok.

## VSTUPNÍ MATERIÁL

Klinické vzorky: Sputum, bronchoalveolární laváže (BAL), hnis (absces), krev, bezbuněčné tělní tekutiny, moč a jiné vzorky z respiračního traktu.

Bakteriální kultury na pevných a v tekutých médiích. Protože MTB patří k vysoce infekčním agens, připravte vzorky v biohazardním boxu.

## PŘÍPRAVA VZORKU

### Sputum/BAL nebo jiné vzorky z respiračního traktu:

#### Metoda 1

- Zkapalněte vzorek\*;
- Centrifugujte vzorek po dobu 15 min při 12,500 × g k zakoncentrování bakteriálních buněk v peletě;
- Resuspendujte bakteriální pelet v 200 µl příslušného roztoku enzymu\*;
- Odstraňte supernatant a resuspendujte pelet v 200 µl pufru BL3. Vortexujte cca 5s;
- Odeberte 200 µl supenze do zkumavky pro vzorky.

#### Metoda 2 – bez centrifugace

- Zkapalněte vzorek\*;
- Přeneste 200 µl vzorku do zkumavky pro vzorky;
- Přidejte 200 µl pufru BL3 ke vzorku (1:1).

\* Zkapalnění může být provedeno s použitím zkapalňovacích látek, jako např. NALC (N-Acetyl-L-Cystein) -NaOH a 0,75% DTT (5x zásobní roztok), které umožní naštěpení mukózních materiálů.

### Viskózní tělní tekutiny (např. hnis):

- Viz postup “**Sputum/BAL nebo jiné vzorky z respiračního traktu**”

### Bezbuněčné tělní tekutiny (např. CSF, moč):

- Centrifugujte vzorek po dobu 15 min při 14,000 × g k zakoncentrování bakteriálních buněk v peletě;
- Odstraňte supernatant a resuspendujte pelet v 200 µl pufru BL3. Vortexujte cca 5s;
- Odeberte 200 µl supenze do zkumavky pro vzorky.

### Ztekucené, dekontaminované vzorky:

- Viz postup “**Bezbuněčné tělní tekutiny**”

### Krev a vzorky kontaminované krví:

- Přidejte chladnou sterilní vodu ke vzorku v poměru voda/krev cca 3:1
- Zamíchejte otáčením zkumavky
- Inkubujte při 4 °C alespoň 10 min
- Centrifugujte při 14000 x g po dobu 15 min
- Odstraňte supernatant, přidejte 200 µl pufru BL3, vortexujte cca 5-10 s
- Odeberte 200 µl vzorku do zkumavky pro vzorek.

### Kolonie z pevné kultury:

- Vypíchněte 1-3 kolonií, zamíchejte s 200 µl pufru BL3, vortexujte cca 5-10 s;
- Odeberte 200 µl vzorku do zkumavky pro vzorek.

### Tekuté kultury

#### Metoda 1

- Odeberte 1 ml kultury (>McFarland 0.5), přeneste do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky;
- Centrifugujte vzorek po dobu 5 min při 12,500 × g k zakoncentrování bakteriálních buněk v peletě;
- Odstraňte supernatant, resuspendujte bakteriální pelet v 200 µl pufru BL3, vortexujte cca 5-10 sec;
- Odeberte 200 µl vzorku do zkumavky pro vzorek.

#### Metoda 2 – bez centrifugace

- Přidejte pufr BL3 k tekuté kultuře (1:1);
- Vortexujte cca 5-10 sec;
- Odeberte směs vzorku do zkumavky pro vzorek.

## PROTOKOL

Pro provedení extrakce v přístroji SaMag-12/24, otevřete dvířka a postupujte podle kroků uvedených v uživatelském manuálu v kapitole 2.3 "Extrakce".

1. Vložte Kazetu(y)
  2. **Vložte Reakční nádobku (y) \***
  3. Vložte Držák špiček
  4. Vložte Propichovací kolík(y)
  5. Vložte Špičku(y) s filtrem
  6. Vložte Zkumavku(y) se vzorkem do stojánku pro vzorky
  7. Vložte 1,5 ml Eluční zkumavku(y) do stojánku pro vzorky s otevřeným víčkem
  8. V biohazardním boxu přeneste vzorky do zkumavek pro vzorky
  9. Pokud je součástí amplifikačního kitu Interní kontrola, přidejte ji.
  10. Přeneste stojánek se vzorky do přístroje SaMag
  11. Zavřete dvířka SaMag-12/24
  12. Použijte čárový kód pro výběr protokolu soupravy TB DNA Extraction kit, požadovaný počáteční objem, eluční objem (navrhovanými hodnotami jsou 400 µl pro vstupní objem vzorku, 50 µl pro eluční objem).
- 12 b. V případě použití SaMag-12 ver. 3.x EVO vyberte pomocí dotykového rozhraní sadu pro extrakci DNA TB (kód 2008).**

**POZNÁMKA: V případě použití SaMag-12 ver. 3.x EVO vyberte v rozhraní dotykové obrazovky typ stojanu 2 ml.**

DNA extrahovaná pomocí soupravy SaMag TB DNA Extraction Kit je stabilní po dobu až jednoho roku při skladování při teplotě -20°C, skladujte při teplotě -70°C nebo nižší při dlouhodobém skladování.

**\* NIKDY NEZAPOMEŇTE VLOŽIT REAKČNÍ NÁDOBKU PRO VŠECHNY VZORKY, JINAK MŮŽE DOJÍT K VYLITÍ PUFRŮ A POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE, V TAKOVÉM PŘÍPADĚ SACACE BIOTECHNOLOGIES NENESE ŽÁDNOU ZODPOVĚDNOST.**



*Sacace Biotechnologies Srl*  
via Scalabrini, 44 – 22100 – Como – Italy Tel +390314892927 Fax +390314492493  
mail: [info@sacace.com](mailto:info@sacace.com) web: [www.sacace.com](http://www.sacace.com)