

Manual do EZ1[®] DSP DNA Blood Kit



Versão 3

IVD

Para utilização em diagnóstico *in vitro*



REF

62124

HB

1054989PT



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANHA

R5

MAT

1054989PT



Tecnologias de amostras e testes da QIAGEN

A QIAGEN é o principal fornecedor de tecnologias inovadoras de amostras e testes, permitindo de isolar e de detectar o conteúdo de qualquer amostra biológica. Os avançados produtos e serviços de elevada qualidade da nossa empresa garantem o sucesso desde a amostra ao resultado.

A QIAGEN é uma empresa de referência em matéria de:

- Purificação de DNA, RNA e proteínas
- Testes de ácidos nucleicos e proteínas
- Investigação em microRNA e RNAi
- Automatização de tecnologias de amostras e testes

A nossa missão permitir-lhe-á alcançar o sucesso, bem como resultados notáveis. Para obter mais informações, visite www.qiagen.com.

Índice

Conteúdo do kit	5
Símbolos	5
Armazenamento	6
Utilização prevista	7
Limitações de utilização do produto	7
Assistência Técnica	7
Avisos e precauções	8
Controlo de qualidade	9
Introdução	10
Princípio e procedimento	10
Características de desempenho do sistema EZ1 DSP DNA Blood	10
Equipamento e reagentes a serem fornecidos pelo utilizador	27
Notas importantes	29
Armazenamento de amostras de sangue	29
Precipitado no cartucho de reagentes (RCB)	29
Trabalhar com instrumentos EZ1	29
Protocolo: Purificação do DNA genómico a partir de sangue total utilizando o EZ1 Advanced XL	36
Protocolo: Purificação do DNA genómico a partir de sangue total utilizando o EZ1 Advanced (com cartão V2.0)	39
Protocolo: Purificação do DNA genómico a partir de sangue total utilizando o EZ1 Advanced (com cartão V1.0)	43
Este protocolo destina-se a ser utilizado com o cartão EZ1 Advanced DSP DNA Blood V1.0 original. Quando utilizar o cartão V2.0 siga "Protocolo: Purificação do DNA genómico a partir de sangue total utilizando o EZ1 Advanced (com cartão V2.0)", página 39.	43
Protocolo: Purificação do DNA genómico a partir de sangue total utilizando o BioRobot EZ1 DSP	46
Guia de resolução de problemas	49
Apêndice A: Mensagens Apresentadas	51
Apêndice B: Armazenamento, quantificação e determinação da pureza do DNA	80

Apêndice C: Folha de amostra para utilizar com o sistema EZ1 DSP DNA Blood	82
Apêndice D: Exemplo de um ficheiro de relatório do EZ1 Advanced	83
Informações para encomenda	86









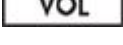
Conteúdo do kit

EZ1 DSP DNA Blood Kit			(48)
Referência			62124
Número de preparações			48
RCB	Cartucho de reagentes, Sangue 350 µl*	REAG CART BLOOD	48
DTH	Porta-pontas descartáveis	DISP TIP HOLD	50
DFT	Pontas com filtro descartáveis	DISP FILT TIP	50
ST	Tubos de amostras (2 ml)	SAMP TUBE	50
ET	Tubos de eluição (1,5 ml)	ELU TUBE	50
	Cartão Q [†]		1
	Manual	H B	1

* Contém azida de sódio como conservante. Contém sal de guanidina. Não compatível com desinfetantes contendo lixívia. Para obter mais informações, consulte a página 5.

† As informações codificadas no código de barras do Cartão Q são necessárias para a detecção de dados dos reagentes através da utilização do instrumento EZ1 Advanced ou EZ1 Advanced XL.

Símbolos

 48	Contém reagentes para 48 preparações de amostras
	Prazo de validade
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Referência
	Número de lote
	Número do material
	Componentes
	Número
	Volume



Limitação de temperatura



Fabricante legal



Nota importante



Utilizar apenas com



Contém



Isotiocianato de guanidina



Cloridrato de guanidina



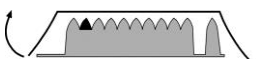
Etanol



Número do item de comércio mundial



Abrir no acto da entrega; armazenar os cartuchos de reagentes (RCB) a 2–8 °C



Este lado para baixo ao abrir

Armazenamento

Armazene os cartuchos de reagentes (RCB) arrefecidos a uma temperatura de 2–8 °C. As partículas magnéticas nos cartuchos de reagentes (RCB) mantêm-se activas quando armazenadas a esta temperatura. Não congele os cartuchos de reagentes (RCB). Quando armazenados a 2–8 °C, os cartuchos de reagentes (RCB) mantêm-se estáveis até ao prazo de validade impresso no rótulo e na caixa do kit. Ao serem retirados do armazenamento arrefecido, os cartuchos de reagentes (RCB) podem ser guardados, uma vez, a uma temperatura de 15–25 °C, mas têm de ser utilizados durante um período máximo de 4 semanas ou até ao prazo de validade impresso no rótulo, Cartão Q e na caixa do kit, aquele que ocorrer primeiro.

Os tampões no cartucho de reagentes (RCB) (poço 1) podem formar um precipitado após o armazenamento. O cartucho de reagente deve ser estabilizado à temperatura ambiente (15–25 °C) e verifique antes de utilizar. Volte a dissolver os precipitados tal como descrito em “Precipitado no cartucho de reagentes (RCB)”, página 29.

Utilização prevista

O EZ1 DSP DNA Blood Kit utiliza tecnologia de partículas magnéticas para o isolamento e purificação automatizada de DNA humano de amostras biológicas.

O produto destina-se a utilizadores profissionais, tais como técnicos e médicos com formação em técnicas de biologia molecular.

O EZ1 DSP DNA Blood system foi concebido para aplicações de diagnóstico *in vitro*.

Limitações de utilização do produto

É da responsabilidade do utilizador validar o desempenho do sistema para quaisquer procedimentos utilizados no seu laboratório que não estejam abrangidos pelos estudos de avaliação de desempenho da QIAGEN.

O desempenho do sistema foi estabelecido em estudos de avaliação de desempenho utilizando sangue total humano para o isolamento de ADN genómico.

Para minimizar o risco de um impacto negativo nos resultados do diagnóstico, devem ser utilizados os controlos adequados para aplicações a jusante. Para uma avaliação mais aprofundada, são recomendadas as directrizes da International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (ICH) descritas em *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology* (Validação de Procedimentos Analíticos: Texto e Metodologia).

Quaisquer resultados de diagnóstico gerados têm de ser interpretados juntamente com outros resultados clínicos ou laboratoriais.

Assistência Técnica

Na QIAGEN, orgulhamo-nos da qualidade e da disponibilidade do nosso suporte técnico. Os nossos departamentos de assistência técnica são compostos por cientistas experientes com conhecimentos práticos e teóricos abrangentes em tecnologias de amostragem e ensaio e utilização dos produtos QIAGEN. Se tiver alguma dúvida ou tenha dificuldades em relação ao EZ1 DSP DNA Blood Kit ou aos produtos QIAGEN® de um modo geral, não hesite em contactar-nos.

Os clientes da QIAGEN são a principal fonte de informação no que diz respeito às utilizações avançadas ou especializadas dos nossos produtos. Estas informações são úteis a outros cientistas, bem como aos investigadores da QIAGEN. Por conseguinte, incentivamo-lo a contactar-nos caso tenha alguma sugestão acerca do desempenho dos produtos ou de novas aplicações e técnicas.

Para obter assistência técnica e mais informações, consulte o nosso Centro de Suporte Técnico em www.qiagen.com/Support ou contacte um dos Departamentos da Assistência Técnica ou distribuidores locais da QIAGEN (consulte o verso do manual ou visite www.qiagen.com).

Avisos e precauções

Quando trabalhar com substâncias químicas, use sempre um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para mais informações, por favor consulte as folhas de dados de segurança do material (SDSs) adequadas. Estas estão disponíveis online no formato PDF, prático e compacto, no endereço www.qiagen.com/safety onde poderá encontrar, visualizar e imprimir as SDSs para cada kit da QIAGEN® e respectivos componentes.



PRECAUÇÃO: NÃO adicione lixívia nem soluções ácidas directamente aos resíduos provenientes da preparação de amostras.

Os tampões nos cartuchos de reagentes (RCB) contêm cloridrato de guanidina/isotiocianato de guanidina, que podem formar compostos altamente reactivos quando combinados com lixívia.

Se for derramado líquido destes tampões, limpe com detergente laboratorial adequado e água. Se nos instrumentos EZ1 for derramado líquido que contenha agentes potencialmente infecciosos, desinfecte o instrumento, utilizando os reagentes descritos no manual do utilizador fornecido com o instrumento EZ1 em questão.

Os cartuchos de reagentes (RCB) danificados ou com fugas têm de ser manuseados e eliminados de acordo com os regulamentos de segurança locais. Não utilize cartuchos de reagentes (RCB) ou outros componentes do kit danificados, uma vez que a sua utilização poderá resultar num fraco desempenho do kit.

A QIAGEN não testou os resíduos líquidos gerados pelo procedimento do EZ1 DSP DNA Blood para materiais infecciosos residuais. A contaminação dos resíduos líquidos com materiais infecciosos residuais é altamente improvável, mas não pode ser completamente excluída. Por conseguinte, os resíduos líquidos têm de ser considerados infecciosos e têm de ser manuseados e eliminados de acordo com as regras de segurança locais.

As seguintes advertências de precaução e de perigo aplicam-se aos componentes do EZ1 DSP DNA Blood Kit:

Reagent Cartridge Blood



Contém: ethanol; guanidine hydrochloride; guanidine thiocyanate. Perigo! Pode ser perigoso por ingestão. Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Líquido e vapor facilmente inflamáveis. Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. Eliminar o conteúdo/ recipiente em instalação aprovada de destruição de resíduos. **SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS:** enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. **SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo):** despir/ retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/ tomar um duche. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Manter afastado do calor/faísca/chama aberta/superfícies quentes. - Não fumar. Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco. Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/ protecção facial.

Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de Gestão da Qualidade Total certificado por norma ISO da QIAGEN, todos os lotes do EZ1 DSP DNA Blood Kit são testados face a especificações predeterminadas para garantir uma qualidade constante do produto.

Introdução

O EZ1 DSP DNA Blood Kit destina-se à purificação do DNA genómico de amostras de sangue total. A tecnologia de partículas magnéticas fornece DNA de elevada qualidade, adequado para utilização directa em aplicações a jusante, tais como a amplificação ou outras reacções enzimáticas. O instrumento EZ1 efectua todos os passos do procedimento de preparação de, no máximo, 6 amostras (utilizando o EZ1 Advanced ou o BioRobot® EZ1 DSP) ou no máximo 14 amostras (utilizando o EZ1 Advanced XL) numa única execução.

Utilizando o BioRobot EZ1 DSP ou o EZ1 Advanced com o cartão do protocolo V1.0, o volume de entrada da amostra é de 350 μl e a eluição do DNA ocorre em 200 μl de tampão de eluição. Utilizando o EZ1 Advanced XL ou o EZ1 Advanced com o cartão do protocolo V2.0, o volume de entrada da amostra pode ser seleccionado entre 200 μl ou 350 μl e o volume de eluição do ADN pode ser seleccionado entre 50 μl , 100 μl ou 200 μl .

Princípio e procedimento

A tecnologia de partículas magnéticas combina a velocidade e a eficiência da purificação do DNA baseada em sílica com o prático manuseamento das partículas magnéticas (consulte fluxograma, página 11). O DNA é isolado a partir de lisados num único passo até à respectiva ligação à superfície de sílica das partículas, na presença de um sal caotrópico. As partículas são separadas dos lisados através da utilização de um íman. O DNA é depois eficazmente lavado e eluído no tampão de eluição.

Características de desempenho do sistema EZ1 DSP DNA Blood

Robustez do sistema

Podem ser utilizados vários tubos primários e anticoagulantes diferentes para realizar a colheita de amostras de sangue para o procedimento do EZ1 DSP DNA Blood. Tabela 1 (página 12) fornece uma visão geral dos tubos de colheita de amostras que foram utilizados para a avaliação do sistema. Estes tubos foram seleccionados com o intuito de abranger uma gama de diferentes anticoagulantes e fabricantes de tubos de colheita de sangue. Podem ser igualmente utilizados tubos de outros fabricantes.

Os rendimentos médios relativos de DNA de amostras de sangue utilizando diferentes tubos primários são apresentados na página 13.

Procedimento do EZ1 DSP DNA Blood

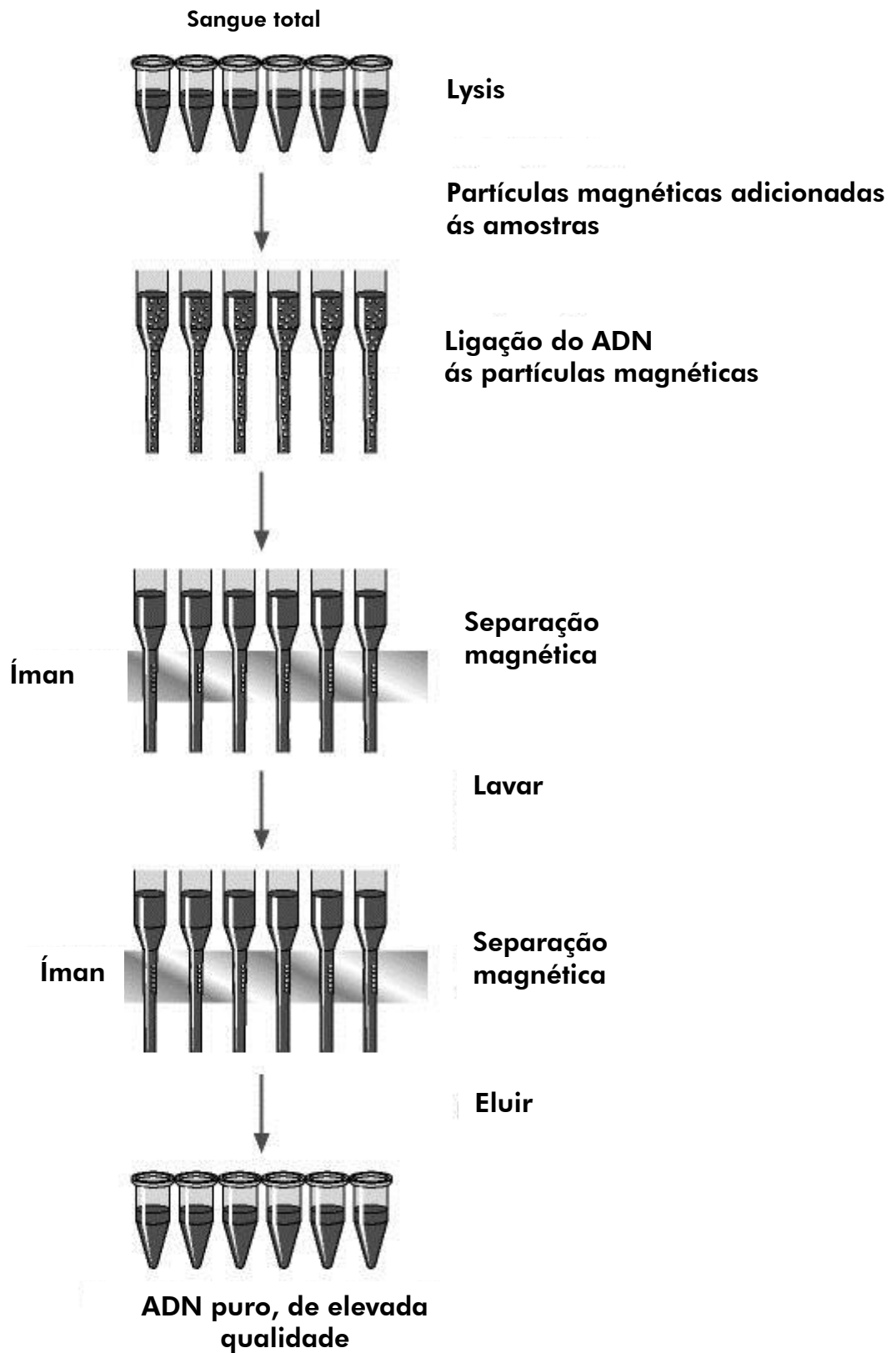


Tabela 1. Tubos de colheita de sangue testados com o sistema EZ1 DSP DNA Blood

Tubo	Abreviatura	Fabricante	Referência.*	Volume nominal colhido (ml)
BD Vacutainer® 9NC	BD 9NC	Becton Dickinson	366007	9
BD Vacutainer K3E	BD K3E	Becton Dickinson	368457	10
BD Vacutainer K2E	BD K2E	Becton Dickinson	367864	6
Monovette® EDTA	EDTA	Sarstedt	21.066.001	9
Monovette LH	LH	Sarstedt	21.065.001	9
Monovette CDPA1	CPDA1	Sarstedt	11.610.001	8,5
Vacurette® K3E	K3E	Greiner Bio-One	455036	9
Vacurette 9NC	V 9NC	Greiner Bio-One	454382	9

* As referências estão sujeitas a alterações; confirme com o fabricante ou fornecedor.

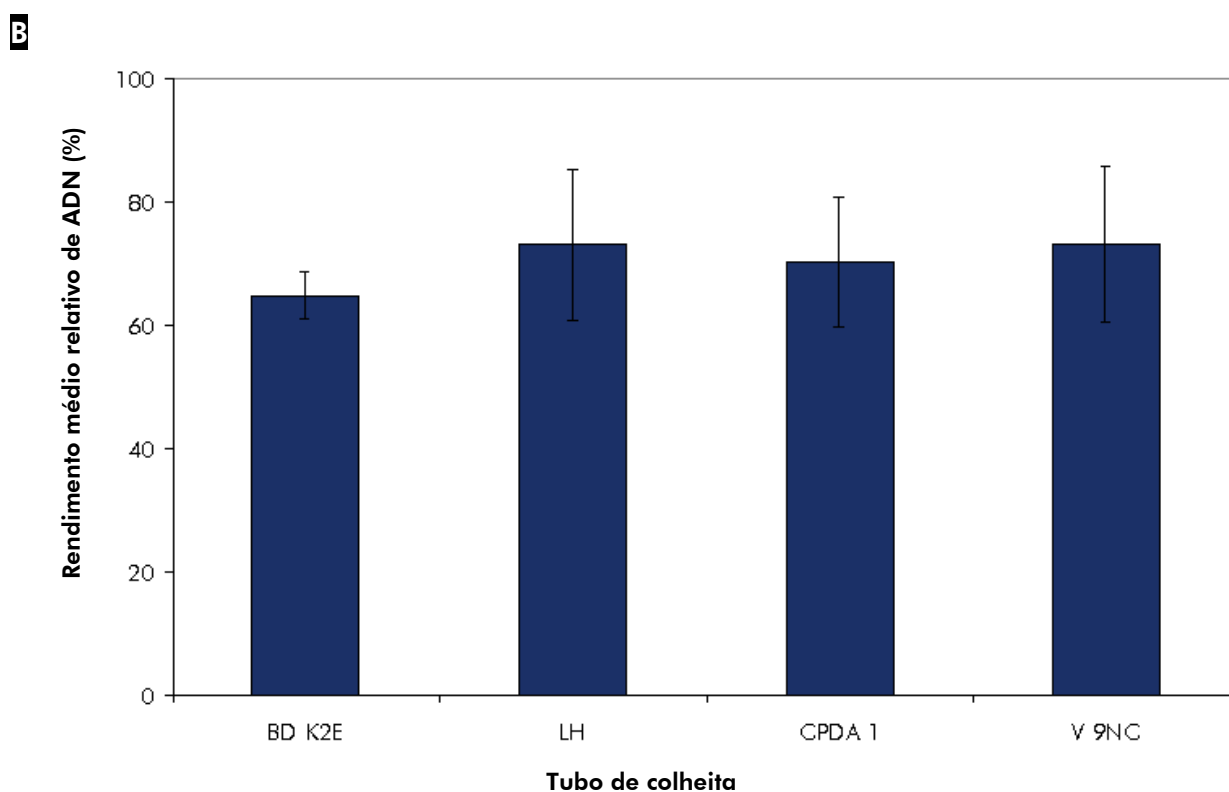
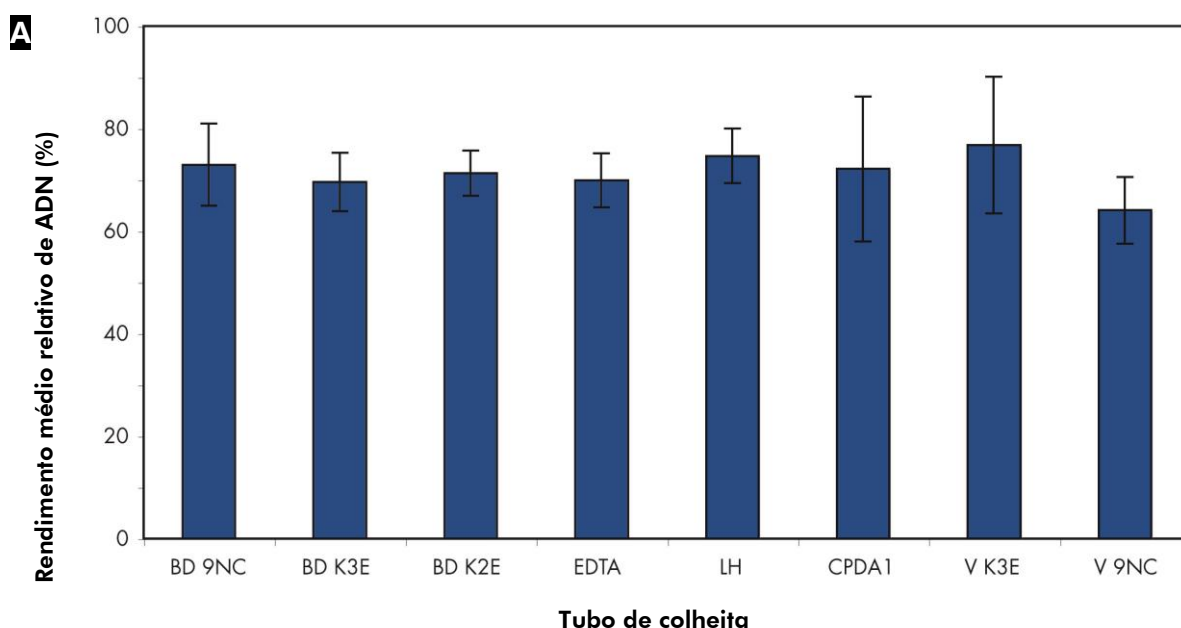


Figura 1. Robustez do sistema utilizando tubos de colheita e anticoagulantes diferentes. Procedeu-se à colheita de sangue total de 6 dadores saudáveis em 8 tipos de tubo diferentes com replicados de 3 por dador e tubo. Os tubos utilizados são apresentados na Tabela 1 (página 12). **A** O sangue foi colhido de 6 dadores em 8 tipos de tubo diferentes. O DNA genómico foi purificado a partir de amostras de 350 com eluição em 200 μ l. **B** O sangue foi colhido de 4 dadores em 4 tipos de tubo diferentes. O DNA genómico foi purificado a partir de amostras de 200 μ l utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood no EZ1 Advanced XL, com eluição em 200 μ l. Foi determinado o rendimento teórico de DNA de cada dador e tubo com base no número de glóbulos brancos. As barras mostram o rendimento médio relativo de DNA (em comparação com o rendimento teórico) com o desvio padrão.

Congelação-descongelamento de amostras

Podem ser utilizadas amostras de sangue total recém-colhido ou congelado (consulte “Armazenamento de amostras de sangue”, página 29). Foram determinados os efeitos da congelação e descongelamento de amostras de sangue na purificação do DNA, utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood (Figura 2).

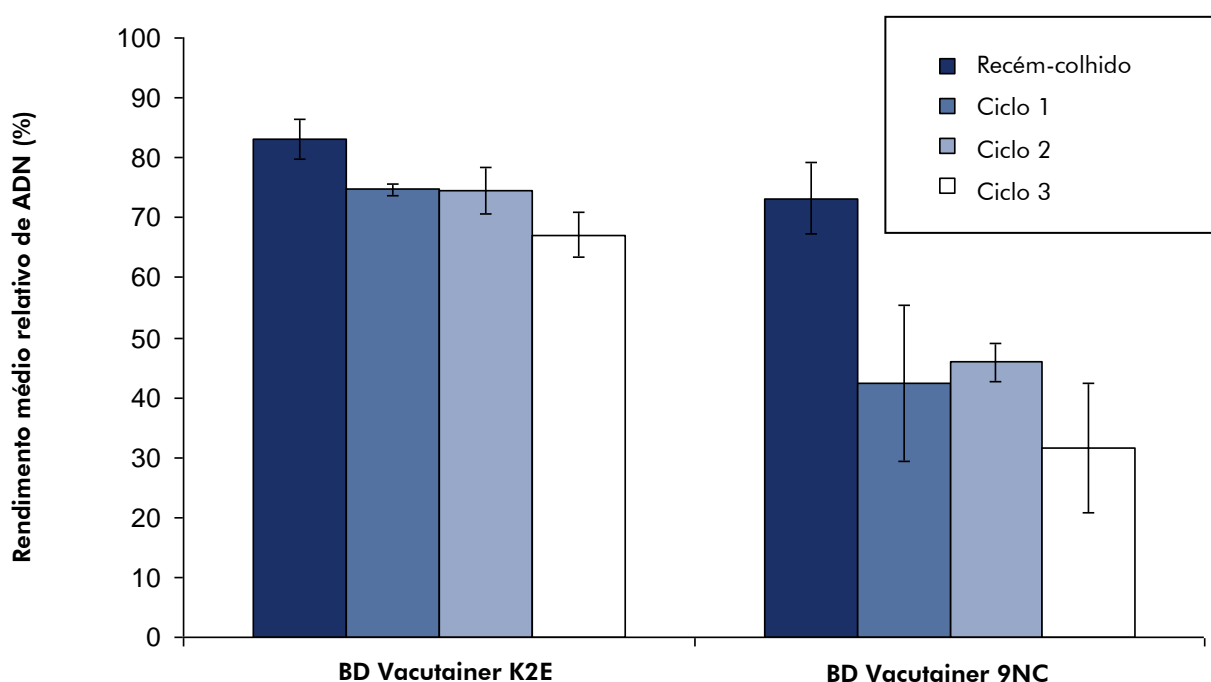


Figura 2. Influência dos ciclos de congelação-descongelamento nos rendimentos de DNA. Procedeu-se à colheita de sangue total de 3 dadores saudáveis nos tubos indicados com 6 replicados cada. Os tubos utilizados são apresentados na Tabela 1. O DNA genómico foi purificado a partir de 350 μ l de cada amostra utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood e foram calculados os valores médios do rendimento relativo de DNA (**Recém-colhido**) para cada dador e tubo. Os tubos com sangue foram congelados e descongelados 3 vezes. O DNA genómico foi purificado após cada ciclo de congelação-descongelamento (**Ciclo 1 – Ciclo 3**) utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood e foi determinado o rendimento relativo do DNA. Para a congelação-descongelamento, são recomendados tubos com EDTA como anticoagulante.

Rendimento do DNA purificado

O DNA genómico foi purificado a partir de amostras de 350 μ l de sangue de dadores saudáveis. A quantidade de DNA purificado utilizando o procedimento do EZ1 DSP DNA Blood depende do teor de glóbulos brancos de cada amostra de sangue e os rendimentos podem variar de dador para dador (Figura 3).

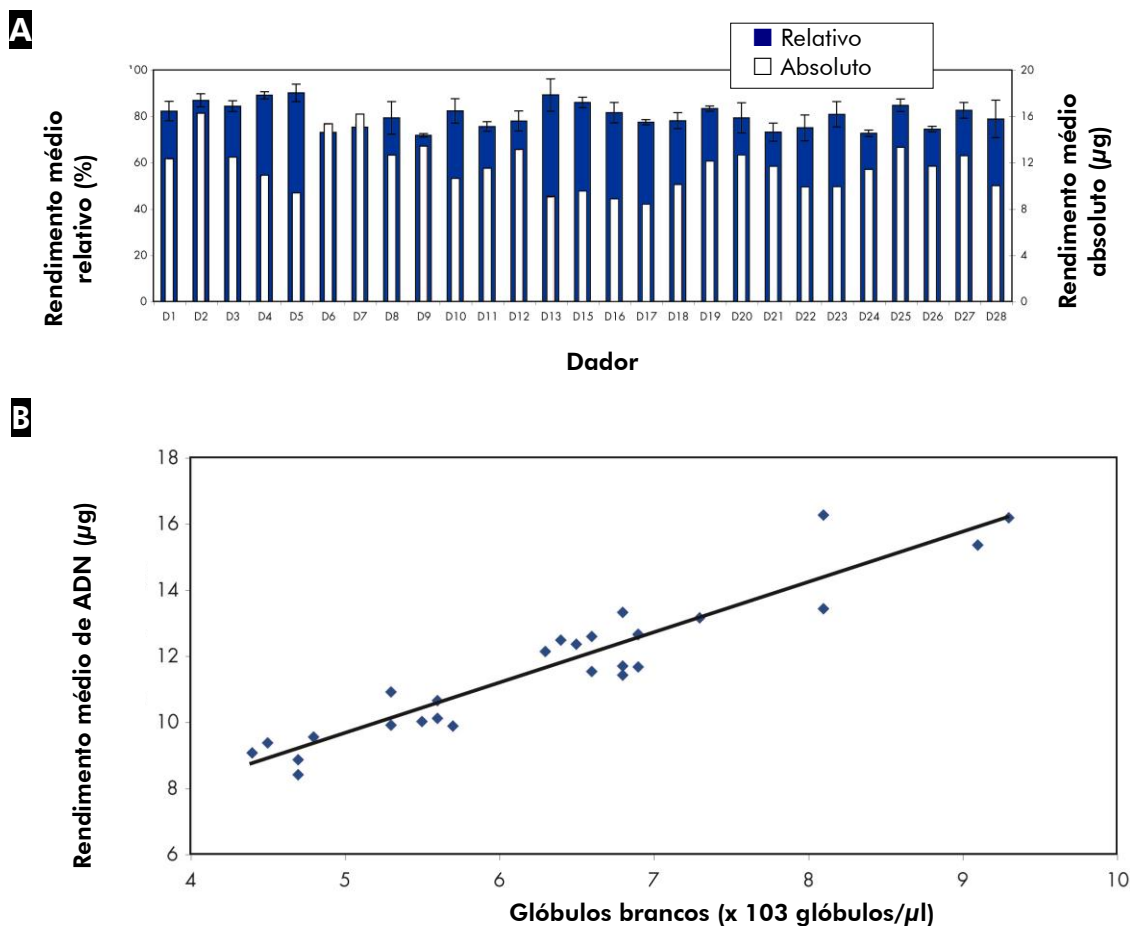


Figura 3. Rendimentos médios absolutos e relativos de DNA de diferentes dadores. Procedeu-se à colheita de sangue total de 27 dadores em triplicado. O DNA genómico foi purificado a partir de 350 µl de cada amostra utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood. **A** Foi determinado o rendimento teórico de DNA com base no número de glóbulos brancos. É apresentado o rendimento médio absoluto (**Absoluto**) e relativo (**Relativo**) (em comparação com o rendimento teórico calculado) de DNA para cada dador. **B** São apresentados os rendimentos médios absolutos para cada dador em relação ao número de glóbulos brancos.

Concentração de DNA purificado utilizando diferentes volumes de eluição

O DNA genómico foi purificado a partir de amostras de 250 µl e 350 µl de dadores saudáveis utilizando o procedimento EZ1 DSP DNA Blood no EZ1 Advanced XL, com três volumes de eluição diferentes (Figura 4).

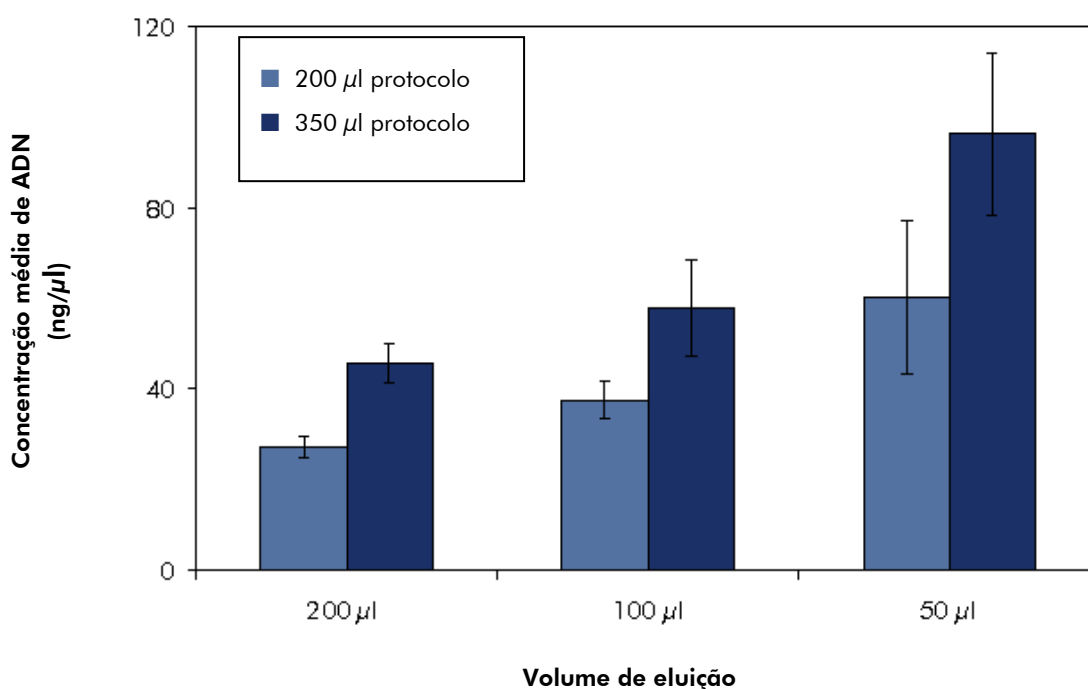


Figura 4. Concentração média de DNA obtida com diferentes volumes de eluição.

Procedeu-se à colheita de sangue total de 3 doadores. O DNA genómico foi purificado a partir de cada amostra de 200 μl e 350 μl e eluído em 200 μl, 100 μl e 50 μl, cada uma em triplicado, utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood no EZ1 Advanced XL. A concentração média de DNA é indicada para cada protocolo e volume de eluição.

i Devido ao baixo volume de tampão de eluição e aquecimento do tampão de eluição durante o processo, a eluição com 50 μl pode levar a volumes de eluição finais inferiores a 50 μl.

Eluição de DNA genómico puro

O DNA genómico é eluído num tampão de eluição com baixo teor de sal. O DNA eluído está pronto para ser utilizado em testes de diagnóstico *in vitro* a jusante, tais como *artus*[®] PCR Kits com a marca CE-IVD.

Procedeu-se à colheita de sangue total de 30 doadores de sangue escolhidos aleatoriamente e o DNA foi purificado a partir de amostras de 350 μl e eluídas em 200 μl utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood. O *artus* MTHFR LC PCR Kit e o *artus* TPMT LC PCR Kit foram utilizados para determinar as variantes genéticas clinicamente relevantes nos genes da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) e tiopurina s-metiltransferase (TPMT). As amostras foram analisadas num Instrumento LightCycler[®]. Os dados são apresentados nas Tabelas 2 e 3 (início nas páginas 17 e 20), com análise da curva de fusão e distribuição das percentagens para as variantes do gene da MTHFR ilustradas nas Figuras 5 e 6 (páginas 19 e 20).

Tabela 2. Detecção de polimorfismos no nucleótido 667 e nucleótido 1298 do gene da MTHFR utilizando o *artus* MTHFR LC PCR Kit

N.º de amostra	Nucleótido 677	Nucleótido 1298	Genótipo
1	heterozigoto var	homozigoto wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
2	homozigoto wt	homozigoto wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
3	homozigoto wt	heterozigoto var	wt677/wt677 wt1298/var1298
4	homozigoto var	homozigoto wt	var677/var677 wt1298/wt1298
5	homozigoto wt	heterozigoto var	wt677/wt677 wt1298/var1298
6	homozigoto wt	heterozigoto var	wt677/wt677 wt1298/var1298
7	heterozigoto var	homozigoto wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
8	homozigoto wt	homozigoto wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
9	homozigoto wt	heterozigoto var	wt677/wt677 wt1298/var1298
10	heterozigoto var	heterozigoto var	wt677/var677 wt1298/var1298
11	homozigoto wt	heterozigoto var	wt677/wt677 wt1298/var1298
12	homozigoto wt	homozigoto wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298
13	homozigoto wt	homozigoto wt	wt677/wt677 wt1298/wt1298

var: Alelo variante na posição indicada do gene da MTHFR.

wt: Alelo do tipo selvagem na posição indicada do gene da MTHFR.

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 2. Continuação

N.º de amostra	Nucleótido 677	Nucleótido 1298	Genótipo
14	heterozigoto var	homozigoto wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
15	heterozigoto var	homozigoto wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
16	homozigoto wt	heterozigoto var	wt677/wt677 wt1298/var1298
17	homozigoto var	homozigoto wt	var677/var677 wt1298/wt1298
18	heterozigoto var	homozigoto wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
19	homozigoto wt	heterozigoto var	wt677/wt677 wt1298/var1298
20	homozigoto wt	heterozigoto var	wt677/wt677 wt1298/var1298
21	homozigoto wt	homozigoto var	wt677/wt677 var1298/var1298
22	heterozigoto var	homozigoto wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
23	heterozigoto var	heterozigoto var	wt677/var677 wt1298/var1298
24	heterozigoto var	homozigoto wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
25	homozigoto wt	heterozigoto var	wt677/wt677 wt1298/var1298
26	homozigoto wt	homozigoto var	wt677/wt677 var1298/var1298
27	homozigoto wt	heterozigoto var	wt677/wt677 wt1298/var1298

var: Alelo variante na posição indicada do gene da MTHFR.

wt: Alelo do tipo selvagem na posição indicada do gene da MTHFR.

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 2. Continuação

N.º de amostra	Nucleótido 677	Nucleótido 1298	Genótipo
28	heterozigoto var	heterozigoto var	wt677/var677 wt1298/var1298
29	heterozigoto var	homozigoto wt	wt677/var677 wt1298/wt1298
30	homozigoto var	homozigoto wt	var677/var677 wt1298/wt1298

var: Alelo variante na posição indicada do gene da MTHFR.

wt: Alelo do tipo selvagem na posição indicada do gene da MTHFR.

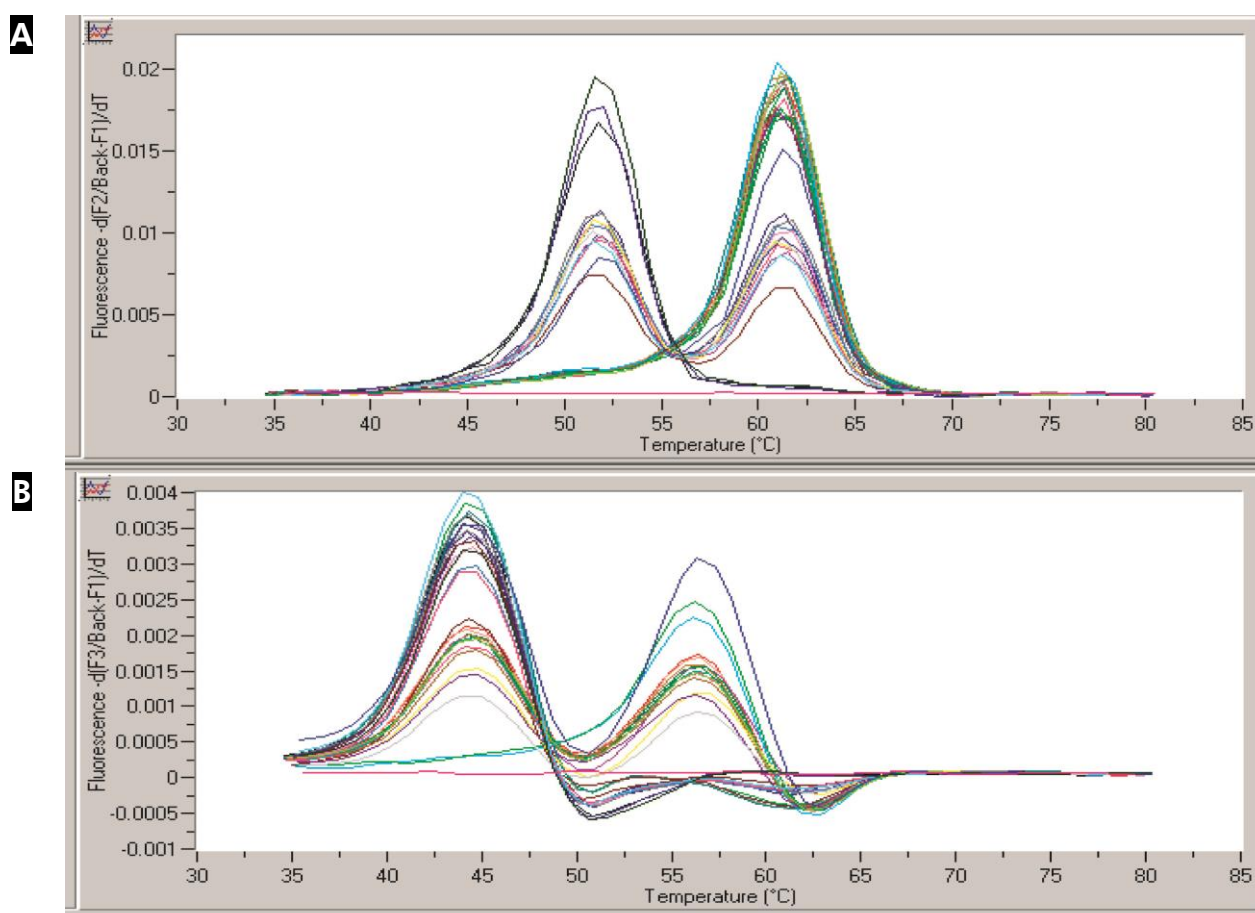


Figura 5. Análise da curva de fusão dos produtos de amplificação nos nucleótidos 677 e 1298 do gene da MTHFR. O DNA foi purificado a partir de sangue total de 30 doadores utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood. Os eluatos foram analisados utilizando o *artus* MTHFR LC PCR Kit com a marca CE-IVD com análise da curva de fusão no Instrumento LightCycler. **A** Análise no nucleótido 677. **B** Análise no nucleótido 1298.

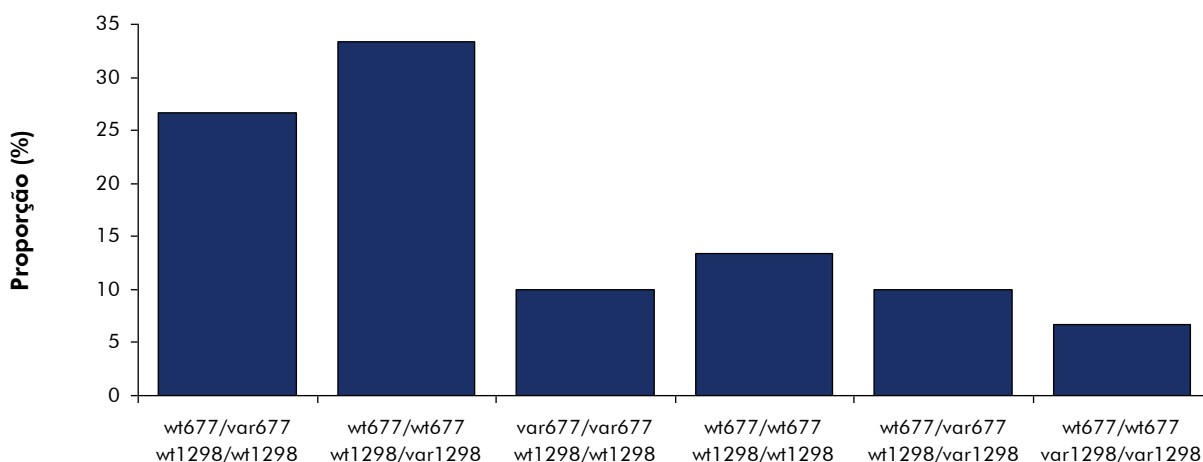


Figura 6. Distribuição de genótipos detectados para o gene da MTHFR. Os dados de Tabela 2 e Figura 5 estão resumidos graficamente pela proporção de cada genótipo detectado.

Tabela 3. Detecção de polimorfismos no gene TPMT utilizando o *artus* TPMT LC PCR Kit

N.º de amostra	Genótipo da TPMT
1	TPMT*1/*1
2	TPMT*1/*1
3	TPMT*1/*1
4	TPMT*1/*1
5	TPMT*1/*1
6	TPMT*1/*3A ou TPMT*3C/*3B
7	TPMT*1/*1
8	TPMT*1/*3A ou TPMT*3C/*3B
9	TPMT*1/*1
10	TPMT*1/*3A ou TPMT*3C/*3B
11	TPMT*1/*1
12	TPMT*1/*1
13	TPMT*1/*1

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 3. Continuação

N.º de amostra	Genótipo da TPMT
14	TPMT*1/*1
15	TPMT*1/*1
16	TPMT*1/*1
17	TPMT*1/*3A ou TPMT*3C/*3B
18	TPMT*1/*1
19	TPMT*1/*1
20	TPMT*1/*1
21	TPMT*1/*1
22	TPMT*1/*1
23	TPMT*1/*1
24	TPMT*1/*1
25	TPMT*1/*1
26	TPMT*1/*1
27	TPMT*1/*1
28	TPMT*1/*1
29	TPMT*1/*1
30	TPMT*1/*1

Teste de inibição

Foram determinados os efeitos no desempenho da PCR de um aumento das quantidades de eluato utilizado em PCR (Figura 7).

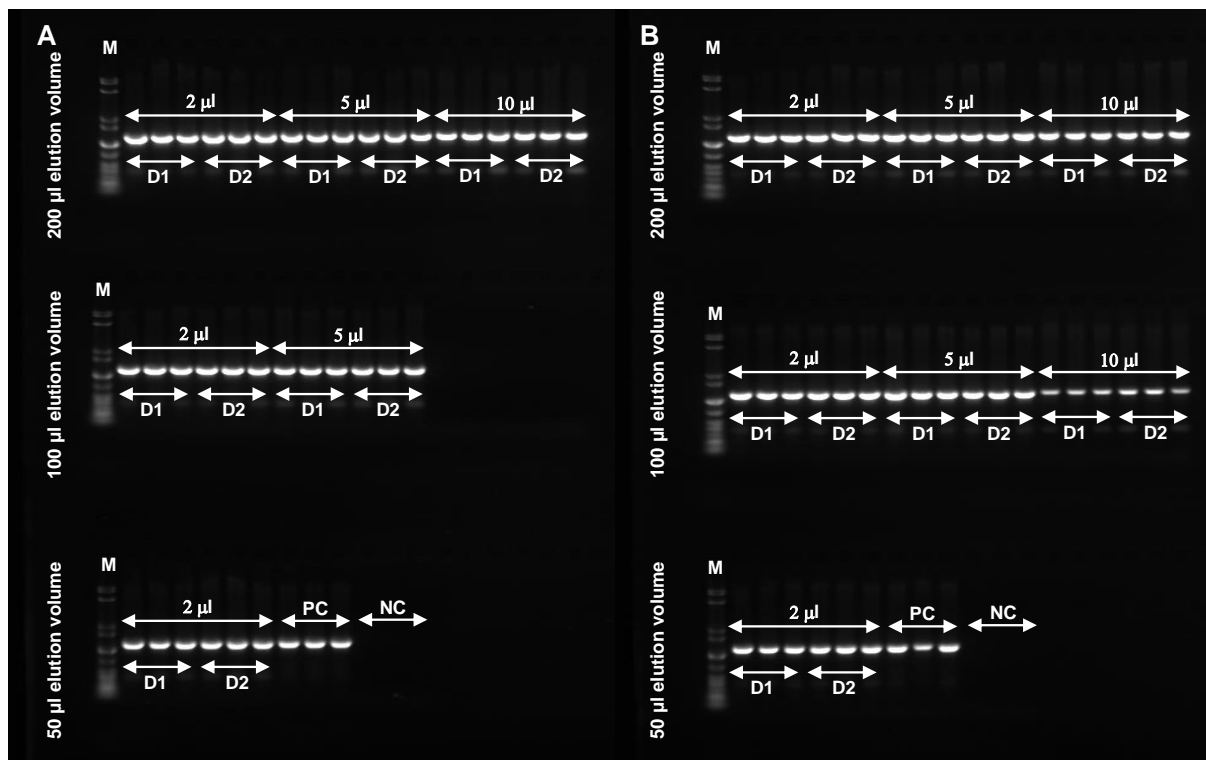


Figura 7. Efeitos no desempenho da PCR do volume de eluato utilizado em PCR.

Procedeu-se à colheita de sangue de dois doadores saudáveis (**D1**, **D2**) em tubos BD K2E. O DNA genómico foi purificado a partir de 350 µl (**A**) e 200 µl (**B**) de cada alíquota em triplicado utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood. O DNA foi eluído em 200 µl, 100 µl ou 50 µl (**volume de eluição**). A quantidade de eluato indicada foi utilizada num processo de PCR de 50 µl com iniciadores (primers) para um fragmento de gene humano de cópia única de 1100 bp. **PC**: Controlo positivo. **NC**: Controlo negativo. **M**: Low DNA Mass Ladder.

(Tenha em consideração que a utilização de grandes quantidades de altas concentrações de DNA pode causar uma sobrecarga do PCR, tal como ilustrado, por exemplo, nas bandas mais fracas utilizando 10 µl de uma eluição de 100 µl no PCR.)

Análise de precisão

Foram comparados os rendimentos de DNA de 350 μ l de sangue total humano para diferentes execuções utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood no EZ1 Advanced e no EZ1 Advanced XL. Os dados de precisão inter-execuções são apresentados como desvios padrão dos rendimentos de DNA (Figura 8).

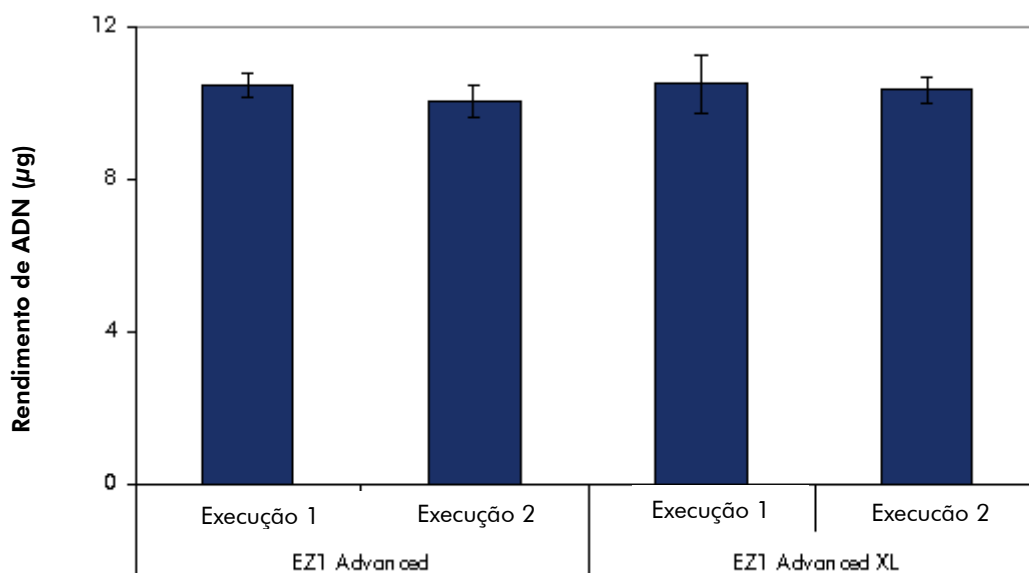


Figura 8. Precisão intra e inter-execuções utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood.

Procedeu-se à colheita de sangue de um dador saudável em tubos BD K2E e o mesmo sangue foi agrupado (pool) antes da utilização. O DNA genómico foi purificado a partir de doze alíquotas de 350 μ l em 2 execuções (**Execução 1**, **Execução 2**) de 6 replicados cada no EZ1 Advanced, e de vinte e oito de alíquotas de 350 μ l aliquots em 2 execuções (**Execução 1**, **Execução 2**) de 14 replicados cada no EZ1 Advanced XL utilizando o sistema EZ1 DSP DNA Blood. São apresentados o rendimento de DNA médio total e o desvio padrão para cada execução. Os valores de precisão intra-execuções foram de 2,90% (Execução 1, EZ1 Advanced), 3,80% (Execução 2, EZ1 Advanced), 7,17% (Execução 1, EZ1 Advanced XL) e 3,45% (Execução 2, EZ1 Advanced XL) e a precisão total foi de 5,17%.

Estabilidade do eluato

A estabilidade do DNA genómico em eluatos do EZ1 foi demonstrada para 24 meses quando armazenados a 5 °C, até 36 meses quando armazenados a -20 ou -80 °C.

Exclusão de "carry-over" de amostras

Foram realizadas doze execuções utilizando o EZ1 Advanced (com o cartão do protocolo V2.0; 350 µl de entrada, 200 µl eluição) e nove execuções utilizando o EZ1 Advanced XL (200 µl entrada, 200 µl eluição) com o sistema EZ1 DSP DNA Blood para avaliar os eventuais riscos de contaminação cruzada durante e entre procedimentos do EZ1 DSP DNA Blood. Para detectar os efeitos de "carry-over" de amostra-para-amostra, as execuções foram realizadas com amostras de sangue masculinas (positivas) e femininas (negativas) em posições alternativas, tal como apresentado na Tabela 4 e Tabela 5. As terceiras execuções foram realizadas utilizando apenas amostras de sangue femininas. Todos os eluatos foram testados quanto à amplificação de um fragmento do cromossoma Y de um gene de cópia única SRY de 78 bp utilizando o QIAGEN QuantiTect® Probe PCR Kit.

Tabela 4. Configuração do teste de contaminação cruzada EZ1 Advanced e valores C_T para amostras positivas (masculinas)

Execução	Posição					
	1	2	3	4	5	6
1	23,37	F	23,14	F	23,22	F
2	F	23,41	F	23,15	F	23,44
3	F	F	F	F	F	F
4	23,53	F	23,27	F	23,39	F
5	F	23,28	F	23,39	F	23,46
6	F	F	F	F	F	F
7	23,14	F	23,50	F	23,17	F
8	F	23,21	F	23,46	F	23,44
9	F	F	F	F	F	F
10	23,29	F	23,45	F	23,47	F
11	F	23,53	F	23,39	F	23,42
12	F	F	F	F	F	F

F: Amostras femininas (negativas).

Números: Valores C_T de amostras masculinas (positivas).

Tabela 5. Configuração do teste de contaminação cruzada EZ1 Advanced XL e valores C_T para amostras positivas (masculinas)

Execução	Posição						
	1	2	3	4	5	6	7
1	24,27	F	24,13	F	24,12	F	24,22
2	F	23,92	F	24,12	F	23,85	F
3	F	F	F	F	F	F	F
4	24,02	F	23,98	F	24,31	F	24,35
5	F	24,74	F	24,56	F	24,62	F
6	F	F	F	F	F	F	F
7	24,48	F	24,64	F	24,49	F	24,52
8	F	24,55	F	24,40	F	24,52	F
9	F	24,80	F	24,70	F	24,68	F
Posição							
	8	9	10	11	12	13	14
1	F	23,99	F	24,16	F	24,18	F
2	24,06	F	24,11	F	23,94	F	24,02
3	F	F	F	F	F	F	F
4	F	24,22	F	24,30	F	24,10	F
5	24,64	F	24,28	F	24,59	F	24,53
6	F	F	F	F	F	F	F
7	F	24,62	F	24,41	F	24,66	F
8	24,37	F	24,46	F	24,58	F	24,46
9	24,74	F	24,52	F	24,80	F	24,67

F: Amostras femininas (negativas).

Números: Valores C_T de amostras masculinas (positivas).

Todas as amostras de sangue masculinas testadas como positivas em PCR (os valores C_T são apresentados na Tabela 4 e Tabela 5), e todas as amostras de sangue femininas testadas como negativas. Estas experiências demonstram que

o procedimento do EZ1 DSP DNA Blood não proporciona o "carry-over" de amostras nestas condições.

Equipamento e reagentes a serem fornecidos pelo utilizador

Quando trabalhar com substâncias químicas, use sempre um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (SDS) adequadas, disponíveis junto do fornecedor do produto.

Todos os protocolos

- Pipetas* e pontas de pipeta estéreis isentas de RNase
- Lenço de papel suave
- Água
- Etanol a 70%
- Opcional: agitador-incubador* (se os cartuchos de reagentes [RCB] contiverem precipitados no fundo dos poços)
- Opcional: microcentrífuga* (se for necessário remover as partículas magnéticas dos eluatos)

Para utilizadores do BioRobot EZ1

- Instrumento BioRobot EZ1 DSP* (interrompido)
- Cartão EZ1 DSP DNA Blood (referência 9017713)

Para utilizadores do EZ1 Advanced

- Instrumento EZ1 Advanced* (interrompido)
- Cartão EZ1 Advanced DSP DNA Blood (referência 9018305)

Para utilizadores do EZ1 Advanced XL

- Instrumento EZ1 Advanced XL* (referência 9001492)
- Cartão EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood (referência 9018702)

* Assegure-se de que os instrumentos foram verificados, mantidos e calibrados regularmente de acordo com as recomendações do fabricante.

Para utilizadores do EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL

- Para o controlo das amostras, é necessário utilizar um dos seguintes componentes:
 - PC (incluindo monitor; QIAGEN PC, referência 9016310, e monitor, referência 9016308, ou o seu próprio PC e monitor) com EZ1 Advanced Communicator Software (software fornecido juntamente com os instrumentos EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL)
 - Impressora (referência 9018464) e pacote de acessórios para impressora (referência 9018465)
- Opcional: Etanol a 80%* e tubos de 2 ml com tampa de rosca (se realizar os passos de lavagem opcionais com etanol a 80% no EZ1 Advanced utilizando o cartão do protocolo V2.0 ou no EZ1 Advanced XL, consulte “Aspectos importantes antes do início do procedimento”, páginas 36 e 39).

* Não utilizar álcool desnaturalado, o qual contém outras substâncias tais como metanol ou metiletilcetona.

Notas importantes

Armazenamento de amostras de sangue

Podem ser utilizadas amostras de sangue total tratadas com EDTA, ACD ou heparina* , podendo ser amostras recém-colhidas ou congeladas. As amostras congeladas devem ser descongeladas à temperatura ambiente (15–25 °C) com agitação suave antes de iniciar o procedimento. O rendimento e a qualidade do DNA purificado dependem das condições de armazenamento do sangue. As amostras de sangue mais recentes podem apresentar melhores resultados.

- Para o armazenamento a curto prazo (até 10 dias), realize a colheita de sangue em tubos contendo EDTA como anticoagulante e armazene os tubos a 2–8 °C. No entanto, para aplicações que requeiram um tamanho de fragmento máximo, como "Southern blotting", recomendamos o armazenamento a 2–8 °C até, no máximo, 3 dias apenas, uma vez que ocorrerão níveis baixos de degradação do DNA depois de decorrido este tempo.
- Para o armazenamento a longo prazo, realize a colheita de sangue em tubos que contenham um anticoagulante padrão (de preferência EDTA, caso seja se trate de DNA de elevado peso molecular) e armazene os tubos a –70 °C.
- Não utilize sangue que apresente sinais de coagulação.

Precipitado no cartucho de reagentes (RCB)

O tampão no poço 1 do cartucho de reagentes (RCB) (o poço mais próximo da parte da frente do instrumento EZ1 quando o cartucho de reagentes [RCB] está carregado) pode formar um precipitado após o armazenamento. O cartucho de reagente deve ser estabilizado à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de ser utilizado. Se necessário, volte a dissolver através de agitação suave a 30–40 °C.

Trabalhar com instrumentos EZ1

As principais características dos instrumentos EZ1 incluem:

- Purificação de ácidos nucleicos de elevada qualidade de 1–6 ou 1–14 amostras por execução
- Equipamento de pequena dimensão para poupar espaço no laboratório

* Quando trabalhar com substâncias químicas, use sempre um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (SDS) adequadas, disponíveis junto do fornecedor do produto.

- Cartões EZ1 DSP pré-programados com protocolos prontos a utilizar
- Cartuchos de reagentes selados e enchidos previamente para a configuração fácil, rápida e segura
- Automatização completa da purificação de ácidos nucleicos

As características adicionais do EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL incluem:

- Leitura do código de barras e controlo de amostras
- Detecção de dados do kit com o Cartão Q fornecido no kit
- Lâmpada UV para ajudar a eliminar o "carry-over" de amostras e para permitir a descontaminação

i A descontaminação por UV ajuda a reduzir a possível contaminação por agentes patogénicos nas superfícies da mesa de trabalho do EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL. A eficiência da inactivação deverá ser determinada para cada organismo específico e depende, por exemplo, da espessura da camada e do tipo de amostra. A QIAGEN não pode garantir a erradicação completa de agentes patogénicos específicos.

Cartões EZ1

O protocolo EZ1 DSP DNA Blood encontra-se armazenado em cartões EZ1 pré-programados (cartões com circuito integrado). Basta o utilizador inserir o cartão EZ1 no instrumento EZ1 apropriado, e o instrumento está pronto para executar um protocolo (Figuras 9 e 10).



Figura 9. Facilidade de configuração do protocolo utilizando os cartões EZ1 DSP. Inserção de um cartão EZ1, contendo um protocolo, no instrumento EZ1.

i O instrumento só deve ser ligado depois de inserido um cartão EZ1. Certifique-se de que o cartão EZ1 se encontra totalmente inserido! Caso contrário, os dados essenciais do instrumento podem perder-se, dando origem

a um erro na memória. Os cartões EZ1 não devem ser trocados enquanto o instrumento estiver ligado.



Figura 10. Cartão EZ1 totalmente inserido na ranhura do cartão EZ1.

Cartuchos de reagentes (RCB)

Os reagentes para a purificação de ácidos nucleicos de uma única amostra estão contidos num único cartucho de reagentes (RCB) (Figura 11, página 32). Cada poço do cartucho (RCB) contém um reagente específico, como por exemplo partículas magnéticas, tampão de lise, tampão de lavagem ou tampão de eluição (AVE). Dado que cada poço contém apenas a quantidade de reagente necessária, evita-se a geração de resíduos adicionais provenientes dos restos de reagentes no fim do procedimento de purificação.

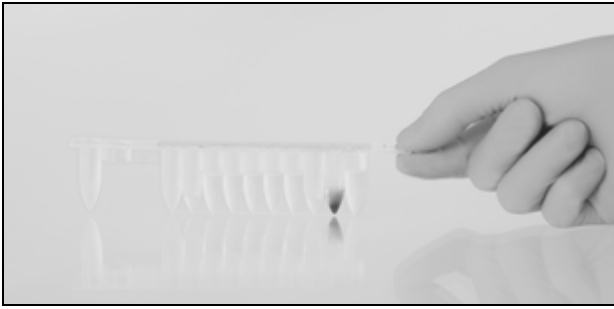
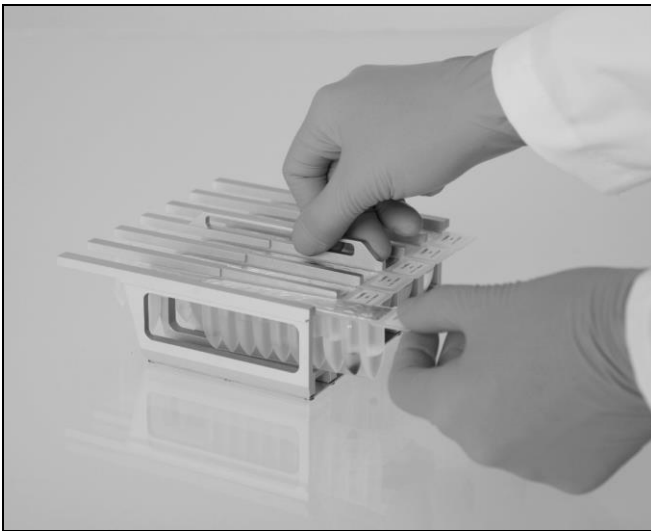
A**B**

Figura 11. Facilidade na configuração do instrumento utilizando cartuchos de reagentes (RCB). **A** Um cartucho de reagentes selado e enchido previamente (RCB). **B** Carregamento dos cartuchos de reagentes (RCB) no suporte de cartuchos. O próprio suporte de cartuchos está identificado com uma seta para indicar a direcção na qual se devem carregar os cartuchos de reagentes (RCB).

Mesa de trabalho

A mesa de trabalho do instrumento EZ1 é o local onde o utilizador carrega as amostras e os componentes do EZ1 DSP DNA Blood Kit (Figura 12, página 33).

Os detalhes sobre a configuração da mesa de trabalho são apresentados no visor de vácuo fluorescente (VFD) do EZ1 Advanced ou do EZ1 Advanced XL ou no visor de cristais líquidos (LCD) do painel de controlo do BioRobot EZ1 DSP quando o utilizador inicia a configuração da mesa de trabalho.

O visor do instrumento apresenta também o estado do protocolo durante o procedimento de purificação automatizado.

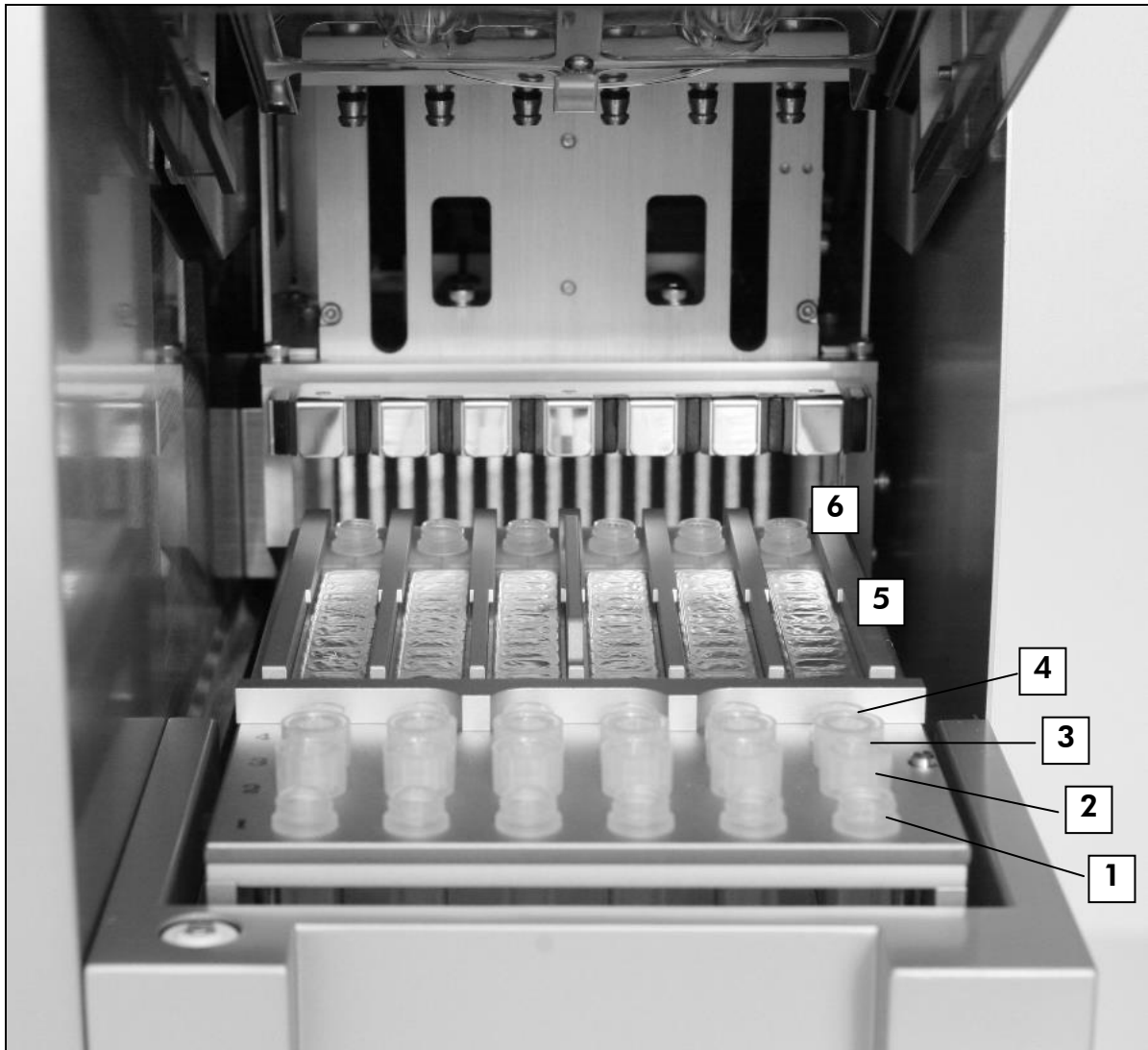


Figura 12. Mesa de trabalho de um instrumento EZ1.

1. Tubos de eluição (ET) (1,5 ml) carregados na primeira fila.
2. Porta-pontas descartáveis (DTH) contendo pontas com filtro descartáveis (DFT) carregados na segunda fila.
3. A terceira fila está vazia para o protocolo EZ1 DSP DNA Blood. (Opcional: Se executar os passos de lavagem opcionais com etanol a 80% , os tubos de 2 ml contendo 1800 μ l cada um de etanol a 80% são carregados nesta linha.)
4. Tubos de amostras (ST) (2 ml) carregados na quarta fila.
5. Cartuchos de reagentes (RCB) carregados no suporte de cartuchos.
6. O bloco de aquecimento está vazio para o protocolo EZ1 DSP DNA Blood.


Deteção de dados com o EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL

O EZ1 Advanced e o EZ1 Advanced XL permitem a deteção total de uma grande variedade de dados para um melhor controlo e fiabilidade do processo. O número do lote do Kit EZ1 e os prazos de validade são introduzidos no início do protocolo utilizando o código de barras do cartão Q.

A ID de um utilizador e o código de barras do cartão Q podem ser introduzidos manualmente através do teclado ou através da leitura dos códigos de barras utilizando o leitor de código de barras portátil. As informações da amostra e do ensaio podem também ser opcionalmente introduzidos no início do protocolo. No final de cada execução de um protocolo, é gerado automaticamente um ficheiro de relatório. O EZ1 Advanced e o EZ1 Advanced XL podem armazenar até 10 ficheiros de resultados e os dados podem ser transferidos para um PC ou impressos directamente numa impressora (para informações de encomenda, consulte “Equipamento e reagentes a serem fornecidos pelo utilizador” na página 27).

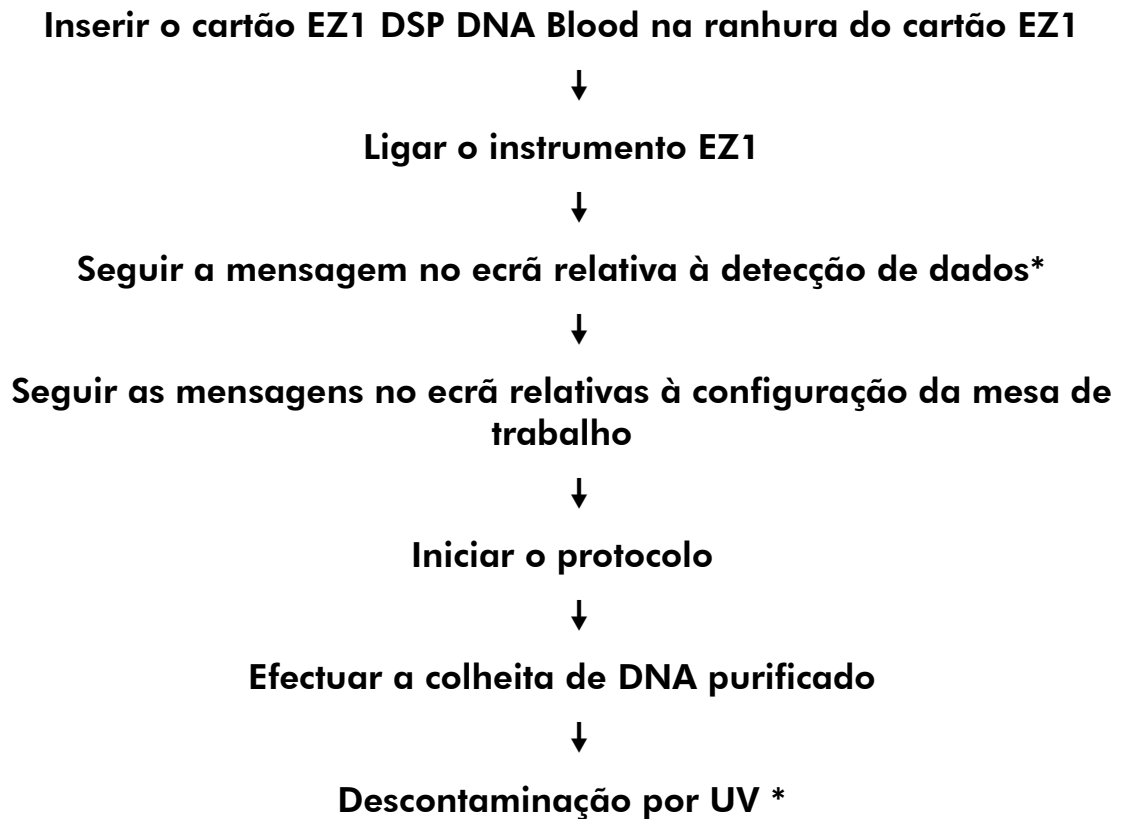
Para receber ficheiros de relatório num PC, é necessário instalar o software EZ1 Advanced Communicator. O software recebe um ficheiro de relatório e armazena-o numa pasta definida pelo utilizador. Quando o PC recebe o ficheiro de relatório, é possível utilizá-lo e processá-lo com um sistema de gestão de informação laboratorial (LIMS) ou outros programas. Na página seguinte é apresentado um exemplo de um ficheiro de relatório no Apêndice D (página 83). Em ficheiros de relatório, os 6 canais de pipetagem do EZ1 Advanced são nomeados da esquerda para a direita, Canais A a F, ou os 14 canais de pipetagem do EZ1 Advanced XL são nomeados, da esquerda para a direita, canais 1–14.

Ao pesquisar uma ID de utilizador ou código de barras do Cartão Q com o leitor de código de barras, um sinal sonoro confirma a entrada de dados. Depois de as informações serem apresentadas durante 2 segundos, são automaticamente armazenadas, e é apresentada a mensagem seguinte no visor. Ao pesquisar a ID de uma amostra, ID de um kit de teste ou notas, um sinal sonoro confirma a entrada de dados, as informações são apresentadas e aparece uma mensagem a solicitar-lhe que introduza o item ou informação seguinte. Depois de pesquisar a ID da amostra, ID do kit de ensaio e notas, prima “ENT” uma vez para confirmar que as informações introduzidas estão correctas. Se, por exemplo, tiver sido pesquisado um código de barras incorrecto para uma das amostras, prima “ESC” e em seguida volte a pesquisar todos os códigos de barras das amostras de acordo com as instruções no ecrã. Para as ID de utilizador e notas, pode introduzir os números utilizando o teclado ou pode facilmente gerar os seus próprios códigos de barras para codificar estes números.

 Para a detecção de dados, comece sempre por carregar as amostras na posição A no EZ1 Advanced e na posição 1 no EZ1 Advanced XL. Coloque as amostras restantes consecutivamente na posições abertas seguintes da mesa de trabalho.

Para obter mais informações sobre a detecção de dados utilizando o EZ1 Advanced Communicator software, consulte o *Manual do Utilizador do EZ1 Advanced* ou o *Manual do Utilizador do EZ1 Advanced XL*.

Fluxo de trabalho do funcionamento do EZ1 DSP DNA Blood



* Apenas para EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL.

Protocolo: Purificação do DNA genómico a partir de sangue total utilizando o EZ1 Advanced XL

i Aspectos importantes antes do início do procedimento

- Se estiver a utilizar o EZ1 DSP DNA Blood Kit pela primeira vez, leia as “Notas importantes” na página 29.
- Os cartuchos de reagentes (RCB) contêm sais de guanidina e, por conseguinte, não são compatíveis com reagentes desinfectantes que contenham lixívia. Tome medidas de segurança adequadas e use luvas durante o manuseamento. Consultar a página 8.
- Efectue todos os passos do protocolo à temperatura ambiente (15–25 °C). Durante o procedimento de configuração, trabalhe rapidamente.
- Depois de receber o kit, verifique se os componentes do mesmo apresentam danos. Se os cartuchos de reagentes (RCB) ou outros componentes do kit estiverem danificados, contacte a Assistência Técnica ou o distribuidor local da QIAGEN. Em caso de derrame de líquido, consulte (página 8). Não utilize cartuchos de reagentes (RCB) ou outros componentes do kit danificados, uma vez que a sua utilização poderá resultar num fraco desempenho do kit.
- O rendimento do DNA genómico depende do número de glóbulos brancos existentes na amostra.

Outros aspectos importantes antes de iniciar o procedimento

- O tampão de lise no cartucho de reagentes (RCB) pode formar um precipitado após o armazenamento. O cartucho de reagente deve ser estabilizado à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de ser utilizado. Se necessário, volte a dissolver, aquecendo a 30–40 °C e depois colocando à temperatura ambiente.
- O protocolo inclui uma opção para realizar lavagens com etanol a 80% em vez de com o tampão fornecido no cartucho de reagentes. Isto poderá ser vantajoso para algumas aplicações a jusante. Se esta opção for seleccionada, deverão ser colocados tubos de 2 ml contendo 1800 µl cada um de etanol a 80% na linha 3 da mesa de trabalho (consulte a Figura 12, página 33). Para a preparação de etanol a 80% suficiente para 14 amostras, adicionar 6 ml de água isenta de nucleases a 24 ml de etanol a 100%.* Siga as instruções das mensagens apresentadas no ecrã.

* Não utilizar álcool desnaturado, o qual contém outras substâncias tais como metanol ou metiletilcetona.

Procedimento

1. Estabilize até 14 amostras de sangue total à temperatura ambiente.

i Certifique-se de que as amostras que foram congeladas são completamente descongeladas e estabilizadas à temperatura ambiente durante um período de tempo suficiente. Se as amostras tiverem sido armazenadas a 2–8 °C, têm igualmente de ser estabilizadas à temperatura ambiente. A temperatura de todas as amostras deve situar-se entre 15 e 25 °C antes do início do procedimento para assegurar o rendimento ideal e a pureza do DNA.

2. Insira o cartão EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood completamente na ranhura do cartão EZ do EZ1 Advanced XL.

3. Ligar o instrumento EZ1.

○ interruptor de alimentação está localizado na parte posterior do instrumento.

4. Prima "START" para iniciar o protocolo e a configuração da mesa de trabalho do protocolo EZ1 DSP DNA Blood.

5. Siga as instruções no ecrã relativas à configuração da mesa de trabalho, selecção da variável do protocolo e detecção de dados.

6. Prima "1" ou "2" para iniciar a configuração da mesa de trabalho para o protocolo DSP de 200 µl ou o protocolo de 350 µl, respectivamente.

7. Escolha o volume de eluição. prima "1" para eluir em 50 µl; "2" para eluir em 100 µl; "3" para eluir em 200 µl.

8. Escolha se deseja realizar as lavagens opcionais com etanol a 80%.

○ texto resume os passos seguintes, que descrevem o carregamento da mesa de trabalho.

9. Abra a porta do instrumento.

10. Inverta 1 a 14 cartuchos de reagentes (RCB) 4 vezes para misturar as partículas magnéticas. Em seguida, bata ligeiramente nos cartuchos (RCB) para depositar os reagentes no fundo dos respectivos poços.

11. Carregue os cartuchos de reagentes no suporte de cartuchos.

i Depois de fazer deslizar um cartucho de reagentes (RCB) para o suporte de cartuchos, pressione o cartucho para baixo até ficar devidamente encaixado.

i Para a detecção de dados, comece sempre por carregar as amostras na posição 1 no EZ1 Advanced XL. Coloque as amostras restantes consecutivamente na posições abertas seguintes da mesa de trabalho.

Quando utilizar a opção de detecção de dados, certifique-se de que a ID da amostra segue a mesma ordem das amostras na mesa de trabalho para evitar a mistura de dados.

12. Seguir as instruções no ecrã relativas para mais configurações da mesa de trabalho.

13. Feche a porta do instrumento.

14. Prima "START" para iniciar o protocolo.

15. Quando o protocolo terminar, o ecrã apresenta a indicação "Protocol finished". Prima "ENT" para gerar o ficheiro de relatório.

O EZ1 Advanced XL pode armazenar até 10 ficheiros de relatório. Pode imprimir os ficheiros de relatório directamente numa impressora ligada ou transferi-los para um computador.

16. Abra a porta do instrumento.

17. Retire os tubos de eluição com o DNA purificado da primeira fila. Elimine os resíduos da preparação das amostras.*

18. Opcional: Siga as instruções no ecrã para executar a descontaminação por UV das superfícies da mesa de trabalho.

19. Efectue o procedimento de manutenção regular, tal como descrito no manual do utilizador fornecido com o instrumento EZ1.

A manutenção regular tem de ser efectuada no fim de cada execução de protocolo. A mesma consiste na limpeza da unidade de perfuração e das superfícies da mesa de trabalho.

 A unidade de perfuração é afiada! É recomendada a utilização de luvas duplas.

20. Para executar outro protocolo, prima "START", efectue os passos 1 e 2 do protocolo e, em seguida, siga o protocolo a partir do passo 5. Caso contrário, prima "STOP" duas vezes para regressar ao primeiro ecrã, feche a porta do instrumento e desligue o instrumento EZ1.

Não é necessário efectuar os passos 3–4 quando executar outro protocolo. Ignore estes passos.

*Os resíduos das amostras contêm sais de guanidina e, por conseguinte, não são compatíveis com lixívia. Consultar a página 8.

Protocolo: Purificação do DNA genómico a partir de sangue total utilizando o EZ1 Advanced (com cartão V2.0)

Este protocolo destina-se a ser utilizado com o cartão EZ1 Advanced DSP DNA Blood V2.0, uma versão actualizada do cartão original V1.0. Quando utilizar o cartão V1.0 siga “Protocolo: Purificação do DNA genómico a partir de sangue total utilizando o EZ1 Advanced (com cartão V1.0)”, na página 43.

O protocolo no cartão V2.0 inclui opções de protocolo adicionais que permitem a utilização de entrada de amostras e de volumes de eluição diferentes bem como de passos de lavagem com etanol a 80%. O protocolo no cartão V2.0 é equivalente ao cartão V1.0 original quando são utilizados a entrada, volumes de eluição originais e passos de lavagem originais.

Aspectos importantes antes do início do procedimento

- Se estiver a utilizar o EZ1 DSP DNA Blood Kit pela primeira vez, leia as “Notas importantes” na página 29.
- Os cartuchos de reagentes (RCB) contêm sais de guanidina e, por conseguinte, não são compatíveis com reagentes desinfectantes que contenham lixívia. Tome medidas de segurança adequadas e use luvas durante o manuseamento. Consultar a página 5.
- Efectue todos os passos do protocolo à temperatura ambiente (15–25 °C). Durante o procedimento de configuração, trabalhe rapidamente.
- Quando receber o kit, verifique os componentes do kit quanto à existência de danos. Se os cartuchos de reagentes (RCB) ou outros componentes do kit estiverem danificados, contacte a Assistência Técnica ou o distribuidor local da QIAGEN. Em caso de derrame de líquido, consulte página 8. Não utilize cartuchos de reagentes (RCB) ou outros componentes do kit danificados, uma vez que a sua utilização poderá resultar num fraco desempenho do kit.
- O rendimento do DNA genómico depende do número de glóbulos brancos existentes na amostra.

Outros aspectos importantes antes de iniciar o procedimento

- O tampão de lise no cartucho de reagentes (RCB) pode formar um precipitado após o armazenamento. O cartucho de reagente deve ser estabilizado à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de ser utilizado. Se necessário, volte a dissolver, aquecendo a 30–40 °C e depois colocando à temperatura ambiente.

- O protocolo inclui uma opção para realizar lavagens com etanol a 80% em vez de com o tampão fornecido no cartucho de reagentes. Isto poderá ser vantajoso para algumas aplicações a jusante. Se esta opção for seleccionada, deverão ser colocados tubos de 2 ml contendo 1800 μ l cada um de etanol a 80% na linha 3 da mesa de trabalho (consulte a Figura 12, página 33). Para a preparação de etanol a 80% suficiente para 6 amostras, adicionar 3 ml de água isenta de nucleases a 12 ml de etanol a 100%.* Siga as instruções das mensagens apresentadas no ecrã.

Procedimento

1. Estabilize até 6 amostras de sangue total à temperatura ambiente.

i Certifique-se de que as amostras que foram congeladas são completamente descongeladas e estabilizadas à temperatura ambiente durante um período de tempo suficiente. Se as amostras tiverem sido armazenadas a 2–8 °C, têm igualmente de ser estabilizadas à temperatura ambiente. A temperatura de todas as amostras deve situar-se entre 15 e 25 °C antes do início do procedimento para assegurar o rendimento ideal e a pureza do DNA.

2. Insira o cartão EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V2.0) completamente na ranhura do cartão EZ do EZ1 Advanced.

3. Ligar o instrumento EZ1.

O interruptor de alimentação está localizado na parte posterior do instrumento.

4. Prima "START" para iniciar o protocolo e a configuração da mesa de trabalho do protocolo EZ1 DSP DNA Blood.

5. Siga as instruções no ecrã relativas à configuração da mesa de trabalho, selecção da variável do protocolo e detecção de dados.

6. Prima "1" ou "2" para iniciar a configuração da mesa de trabalho para o protocolo DSP de 200 μ l ou o protocolo de 350 μ l, respectivamente.

7. Escolha o volume de eluição: prima "1" para eluir em 50 μ l; "2" para eluir em 100 μ l; "3" para eluir em 200 μ l.

8. Escolha se deseja realizar as lavagens opcionais com etanol a 80%.


O texto resume os passos seguintes, que descrevem o carregamento da mesa de trabalho.


9. Abra a porta do instrumento.

* Não utilizar álcool desnaturado, o qual contém outras substâncias tais como metanol ou metiletilcetona.

10. Inverta 1 a 6 cartuchos de reagentes (RCB) 4 vezes para misturar as partículas magnéticas. Em seguida, bata ligeiramente nos cartuchos (RCB) para depositar os reagentes no fundo dos respectivos poços.

11. Carregue os cartuchos de reagentes no suporte de cartuchos.

 Depois de fazer deslizar um cartucho de reagentes (RCB) para o suporte de cartuchos, pressione o cartucho para baixo até ficar devidamente encaixado.

 Para a detecção de dados, comece sempre por carregar as amostras na posição A no EZ1 Advanced. Coloque as amostras restantes consecutivamente nas posições abertas seguintes da mesa de trabalho.

Quando utilizar a opção de detecção de dados, certifique-se de que a ID da amostra segue a mesma ordem das amostras na mesa de trabalho para evitar a mistura de dados.

12. Seguir as instruções no ecrã relativas para mais configurações da mesa de trabalho.

13. Feche a porta do instrumento.

14. Prima "START" para iniciar o protocolo.

15. Quando o protocolo terminar, o ecrã apresenta a indicação "Protocol finished". Prima "ENT" para gerar o ficheiro de relatório.

○ EZ1 Advanced pode armazenar até 10 ficheiros de relatório. Pode imprimir os ficheiros de relatório directamente numa impressora ligada ou transferi-los para um computador.

16. Abra a porta do instrumento.

17. Retire os tubos de eluição com o DNA purificado da primeira fila. Elimine os resíduos da preparação das amostras.*

18. Opcional: Siga as instruções no ecrã para executar a descontaminação por UV das superfícies da mesa de trabalho.

19. Efectue o procedimento de manutenção regular, tal como descrito no manual do utilizador fornecido com o instrumento EZ1.

A manutenção regular tem de ser efectuada no fim de cada execução de protocolo. A mesma consiste na limpeza da unidade de perfuração e das superfícies da mesa de trabalho.

 A unidade de perfuração é afiada! É recomendada a utilização de luvas duplas.

20. Para executar outro protocolo, prima "START", efectue os passos 1 e 2 do protocolo e, em seguida, siga o protocolo a partir do passo 5.

* Os resíduos das amostras contêm sais de guanidina e, por conseguinte, não são compatíveis com lixívia. Consultar a página 8 para informações de segurança.

Caso contrário, prima “STOP” duas vezes para regressar ao primeiro ecrã, feche a porta do instrumento e desligue o instrumento EZ1.

Não é necessário efectuar os passos 3–4 quando executar outro protocolo. Ignore estes passos.

Protocolo: Purificação do DNA genómico a partir de sangue total utilizando o EZ1 Advanced (com cartão V1.0)

Este protocolo destina-se a ser utilizado com o cartão EZ1 Advanced DSP DNA Blood V1.0 original. Quando utilizar o cartão V2.0 siga "Protocolo: Purificação do DNA genómico a partir de sangue total utilizando o EZ1 Advanced (com cartão V2.0)", página 39.

O protocolo no cartão V2.0 inclui opções de protocolo adicionais que permitem a utilização de entrada de amostras e de volumes de eluição diferentes bem como de passos de lavagem com etanol a 80%. O protocolo no cartão V2.0 é equivalente ao cartão V1.0 original quando são utilizados a entrada, volumes de eluição originais e passos de lavagem originais.

Aspectos importantes antes do início do procedimento

- Se estiver a utilizar o EZ1 DSP DNA Blood Kit pela primeira vez, leia as "Notas importantes" na página 29.
- Os cartuchos de reagentes (RCB) contêm sais de guanidina e, por conseguinte, não são compatíveis com reagentes desinfetantes que contenham lixívia. Tome medidas de segurança adequadas e use luvas durante o manuseamento. Consultar a página 8.
- Efectue todos os passos do protocolo à temperatura ambiente (15–25 °C). Durante o procedimento de configuração, trabalhe rapidamente.
- Depois de receber o kit, verifique se os componentes do mesmo apresentam danos. Se os cartuchos de reagentes (RCB) ou outros componentes do kit estiverem danificados, contacte a Assistência Técnica ou o distribuidor local da QIAGEN. Em caso de derrame de líquido, consulte página 8. Não utilize cartuchos de reagentes (RCB) ou outros componentes do kit danificados, uma vez que a sua utilização poderá resultar num fraco desempenho do kit.
- O rendimento do DNA genómico depende do número de glóbulos brancos existentes na amostra.

Outros aspectos importantes antes de iniciar o procedimento

- O tampão de lise no cartucho de reagentes (RCB) pode formar um precipitado após o armazenamento. O cartucho de reagente deve ser estabilizado à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de ser utilizado. Se necessário, volte a dissolver, aquecendo a 30–40 °C e depois colocando à temperatura ambiente.

Procedimento

1. Estabilize até 6 amostras de sangue total à temperatura ambiente.

ⓘ Certifique-se de que as amostras que foram congeladas são completamente descongeladas e estabilizadas à temperatura ambiente durante um período de tempo suficiente. Se as amostras tiverem sido armazenadas a 2–8 °C, têm igualmente de ser estabilizadas à temperatura ambiente. A temperatura de todas as amostras deve situar-se entre 15 e 25 °C antes do início do procedimento para assegurar o rendimento ideal e a pureza do ADN.

2. Insira o cartão EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V1.0) completamente na ranhura do cartão EZ do EZ1 Advanced.

3. Ligar o instrumento EZ1.

○ interruptor de alimentação está localizado na parte posterior do instrumento.

4. Prima "START" para iniciar a configuração da mesa de trabalho do protocolo EZ1 DSP DNA Blood.

5. Abra a porta do instrumento.

6. Inverta 1 a 6 cartuchos de reagentes (RCB) 4 vezes para misturar as partículas magnéticas. Em seguida, bata ligeiramente nos cartuchos (RCB) para depositar os reagentes no fundo dos respectivos poços.

7. Siga as instruções no ecrã relativas à configuração da mesa de trabalho, selecção da variável do protocolo e detecção de dados.

ⓘ Depois de fazer deslizar um cartucho de reagentes (RCB) para o suporte de cartuchos, pressione o cartucho para baixo até ficar devidamente encaixado.

ⓘ Para a detecção de dados, comece sempre por carregar as amostras na posição A no EZ1 Advanced. Coloque as amostras restantes consecutivamente na posições abertas seguintes da mesa de trabalho.

Quando utilizar a opção de detecção de dados, certifique-se de que a ID da amostra segue a mesma ordem das amostras na mesa de trabalho para evitar a mistura de dados.

8. Feche a porta do instrumento.

9. Prima "START" para iniciar o protocolo.

10. Quando o protocolo terminar, o ecrã apresenta a indicação "Protocol finished". Prima "ENT" para gerar o ficheiro de relatório.

○ EZ1 Advanced pode armazenar até 10 ficheiros de relatório. Pode imprimir os ficheiros de relatório directamente numa impressora ligada ou transferi-los para um computador.

- 11. Abra a porta do instrumento.**
- 12. Retire os tubos de eluição com o DNA purificado da primeira fila. Elimine os resíduos da preparação das amostras.***
- 13. Opcional: Siga as instruções no ecrã para executar a descontaminação por UV das superfícies da mesa de trabalho.**
- 14. Efectue o procedimento de manutenção regular, tal como descrito no manual do utilizador fornecido com o instrumento EZ1.**

A manutenção regular tem de ser efectuada no fim de cada execução de protocolo. A mesma consiste na limpeza da unidade de perfuração e das superfícies da mesa de trabalho.

 A unidade de perfuração é afiada! É recomendada a utilização de luvas duplas.

- 15. Para executar outro protocolo, prima "START", efectue os passos 1 e 2 do protocolo e, em seguida, siga o protocolo a partir do passo 5. Caso contrário, prima "STOP" duas vezes para regressar ao primeiro ecrã, feche a porta do instrumento e desligue o instrumento EZ1.**

Não é necessário efectuar os passos 3–4 quando executar outro protocolo. Ignore estes passos.

* Os resíduos das amostras contêm sais de guanidina e, por conseguinte, não são compatíveis com lixívia. Consultar a página 8 para informações de segurança.

Protocolo: Purificação do DNA genómico a partir de sangue total utilizando o BioRobot EZ1 DSP

Aspectos importantes antes do início do procedimento


- Se estiver a utilizar o EZ1 DSP DNA Blood Kit pela primeira vez, leia as “Notas importantes” na página 29.
- Os cartuchos de reagentes (RCB) contêm sais de guanidina e, por conseguinte, não são compatíveis com reagentes desinfetantes que contenham lixívia. Tome medidas de segurança adequadas e use luvas durante o manuseamento. Consultar a página 8.
- Efectue todos os passos do protocolo à temperatura ambiente (15–25 °C). Durante o procedimento de configuração, trabalhe rapidamente.
- Depois de receber o kit, verifique se os componentes do mesmo apresentam danos. Se os cartuchos de reagentes (RCB) ou outros componentes do kit estiverem danificados, contacte a Assistência Técnica ou o distribuidor local da QIAGEN. Em caso de derrame de líquido, consulte a página 8. Não utilize cartuchos de reagentes (RCB) ou outros componentes do kit danificados, uma vez que a sua utilização poderá resultar num fraco desempenho do kit.
- O rendimento do DNA genómico depende do número de glóbulos brancos existentes na amostra.

Outros aspectos importantes antes de iniciar o procedimento

- O tampão de lise no cartucho de reagentes (RCB) pode formar um precipitado após o armazenamento. O cartucho de reagente deve ser estabilizado à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de ser utilizado. Se necessário, volte a dissolver, aquecendo a 30–40 °C e depois colocando à temperatura ambiente.


Procedimento


1. Estabilize até 6 amostras de sangue total à temperatura ambiente.

 Certifique-se de que as amostras que foram congeladas são completamente descongeladas e estabilizadas à temperatura ambiente durante um período de tempo suficiente. Se as amostras tiverem sido armazenadas a 2–8 °C, têm igualmente de ser estabilizadas à temperatura ambiente. A temperatura de todas as amostras deve situar-se entre 15 e 25 °C antes do início do procedimento para assegurar o rendimento ideal e a pureza do DNA.

- 2. Insira o cartão EZ1 Advanced DSP DNA Blood completamente na ranhura do cartão EZ do BioRobot EZ1 DSP.**
- 3. Ligar o instrumento EZ1.**

O interruptor de alimentação está localizado na parte posterior do instrumento.
- 4. Prima "START" para iniciar a configuração da mesa de trabalho do protocolo EZ1 DSP DNA Blood.**
- 5. Abra a porta do instrumento.**
- 6. Inverta 1 a 6 cartuchos de reagentes (RCB) 4 vezes para misturar as partículas magnéticas. Em seguida, bata ligeiramente nos cartuchos (RCB) para depositar os reagentes no fundo dos respectivos poços.**
- 7. Siga as instruções no ecrã relativas à configuração da mesa de trabalho e a selecção da variável do protocolo.**

 Depois de fazer deslizar um cartucho de reagentes (RCB) para o suporte de cartuchos, pressione o cartucho para baixo até ficar devidamente encaixado.

 Se existirem menos de 6 cartuchos de reagentes (RCB), podem ser carregados por qualquer ordem no suporte. Contudo, quando carregar os outros materiais de laboratório, certifique-se de que também seguem a mesma ordem.

- 8. Feche a porta do instrumento.**
- 9. Prima "START" para iniciar o protocolo.**

Quando o protocolo terminar, o ecrã apresenta a indicação "Protocol finished".

- 10. Abra a porta do instrumento.**
- 11. Retire os tubos de eluição com o DNA purificado da primeira fila. Elimine os resíduos da preparação das amostras.***
- 12. Efectue o procedimento de manutenção regular, tal como descrito no manual do utilizador fornecido com o instrumento EZ1.**

A manutenção regular tem de ser efectuada no fim de cada execução de protocolo. A mesma consiste na limpeza da unidade de perfuração e das superfícies da mesa de trabalho.

 A unidade de perfuração é afiada! É recomendada a utilização de luvas duplas.

- 13. Para executar outro protocolo, prima "START", efectue os passos 1 e 2 do protocolo e, em seguida, siga o protocolo a partir do passo 5.**

* Os resíduos das amostras contêm sais de guanidina e, por conseguinte, não são compatíveis com lixívia. Consultar a página 8 para informações de segurança.

Caso contrário, prima “STOP” duas vezes para regressar ao primeiro ecrã, feche a porta do instrumento e desligue o instrumento EZ1.

Não é necessário efectuar os passos 3–4 quando executar outro protocolo. Ignore estes passos.

Guia de resolução de problemas

Este guia de resolução de problemas pode ser útil para resolver qualquer problema que possa surgir. Para obter mais informações, consulte também a página de perguntas frequentes no nosso Centro de Suporte Técnico: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Os cientistas da Assistência Técnica da QIAGEN estão sempre prontos a responder a qualquer questão que possa ter sobre as informações e protocolos constantes neste manual ou sobre as tecnologias de amostragem e ensaio (para informações de contacto, consulte o verso do manual ou visite www.qiagen.com).

Comentários e sugestões

Manuseamento geral

Mensagem de erro no ecrã do instrumento

❗ Consulte o manual do utilizador fornecido com o instrumento EZ1.

Rendimento de ADN baixo

a) Ressuspensão incompleta das partículas magnéticas

❗ Certifique-se de que ressuspende as partículas magnéticas cuidadosamente antes de carregar os cartuchos de reagentes (RCB) no suporte.

b) Aspirado reagente insuficiente

❗ Depois de inverter os cartuchos de reagentes (RCB) para ressuspender as partículas magnéticas, certifique-se de que bate ligeiramente nos cartuchos (RCB) para depositar os reagentes no fundo dos poços.

c) Amostras de sangue congeladas não devidamente misturadas depois da descongelação

❗ Descongele as amostras de sangue congeladas num incubador* ou em banho-maria* a 30–40 °C com agitação suave para garantir uma mistura uniforme.

d) Precipitados visíveis no fundo dos poços dos cartuchos de reagentes (RCB)

❗ Coloque os cartuchos de reagentes (RCB) num agitador-incubador e incube a 30–40 °C com agitação suave durante, no máximo, 2 horas. Não utilize os cartuchos de reagentes (RCB) se os precipitados não voltarem a dissolver-se.

* Assegure-se de que os instrumentos foram verificados, mantidos e calibrados regularmente de acordo com as recomendações do fabricante.

Comentários e sugestões

O DNA não actua favoravelmente em aplicações a jusante

- a) DNA insuficiente utilizado em aplicação a jusante ⓘ Quantifique o DNA purificado por medição espectrofotométrica da absorvância a 260 nm (consulte “Quantificação do DNA”, página 80).
- b) DNA em excesso utilizado em aplicação a jusante ⓘ O DNA em excesso pode inibir algumas reacções enzimáticas. Quantifique o DNA purificado por medição espectrofotométrica da absorvância a 260 nm (consulte “Quantificação do DNA”, página 80).
- c) Inibição de aplicação a jusante ⓘ Algumas aplicações a jusante podem apresentar desempenhos mais elevados se forem realizadas lavagens com etanol a 80% em vez de lavagens utilizando os tampões dos cartuchos de reagentes. Esta opção está disponível quando se utiliza o cartão EZ1 Advanced DSP DNA Blood V2.0 (consulte a página 39) ou o cartão EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood (consulte a página 36).

Razão baixa A_{260}/A_{280} para ácidos nucleicos purificados

- Leitura da absorvância a 320 nm não subtraída às leituras da absorvância obtidas a 260 nm e 280 nm ⓘ Para corrigir a presença de partículas magnéticas no eluato, deve ser efectuada e subtraída uma leitura da absorvância a 320 nm às leituras de absorvância obtidas a 260 nm e 280 nm

Apêndice A: Mensagens Apresentadas

As mensagens apresentadas pelo protocolo do software durante a configuração da mesa de trabalho, durante a execução do protocolo e após a execução do protocolo são apresentadas nas Tabelas 6-9. Os números das mensagens apresentadas nas tabelas correspondem aos números das mensagens apresentadas pelo software.

Para obter informações sobre as mensagens de erro gerais apresentadas no visor do instrumento EZ1 consulte o manual do utilizador fornecido com o instrumento EZ1 em questão.

Tabela 6. Mensagens apresentadas no protocolo do EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL	Tradução
Nenhum	Orientação	Date/time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup	Data/hora INICIAR: Execução 1: UV 3: Teste 4: Configuração
1	Orientação	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Version 1.0	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Versão 1.0
2	Detecção de dados	Enter user ID ENT: Next	Introduzir ID do utilizador ENT: Seguinte
3	Detecção de dados	Enter Q-Card bar code ENT: Next	Introduzir código de barras do cartão Q ENT: Seguinte
4	Orientação	Wrong kit! Please load DSP DNA Blood kit ENT: Back	Kit incorrecto! Carregue-o DSP DNA Blood kit ENT: Recuar

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 6. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL	Tradução
5	Orientação	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: stop protocol	Prazo de validade do kit expirado MMAA ENT: Utilize um kit novo ESC: Parar protocolo
6	Detecção de dados	Use Q-Card data with sample 1 to xx Enter 1 to 14 ENT: Next	Utilize os dados do cartão Q com a amostra 1 a xx Introduza 1 a 14 ENT: Seguinte
7	Detecção de dados	Do you want to process more samples with another kit lot ENT:Yes, ESC: No	Pretende processar mais amostras com um kit de outro lote ENT: Sim, ESC: Não
8	Detecção de dados	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No	Pretende adicionar a ID da amostra? ENT: Sim ESC: Não
9	Detecção de dados	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next	Introduza a ID da amostra para a amostra n.º [x] ENT: Seguinte
10	Detecção de dados	Do you want to check sample IDs ENT: Yes ESC: No	Pretende verificar as IDs das amostras? ENT: Sim ESC: Não

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 6. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL	Tradução
11	Detecção de dados	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next	ID 1: ID 2: ID 3: PARA BAIXO: Seguinte
12	Detecção de dados	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back	ID 4: ID 5: ID 6: PARA BAIXO: Seguinte, PARA CIMA: Recuar
13	Detecção de dados	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back	ID 7: ID 8: ID 9: PARA BAIXO: Seguinte, PARA CIMA: Recuar
14	Detecção de dados	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back	ID 10: ID 11: ID 12: PARA BAIXO: Seguinte, PARA CIMA: Recuar
15	Detecção de dados	ID 13: ID 14: ESC: Rescan DOWN: Next, UP: Back	ID 13: ID 14: ESC: Voltar a pesquisar PARA BAIXO: Seguinte, PARA CIMA: Recuar
16	Detecção de dados	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	Pretende adicionar informações do ensaio? ENT: Sim, ESC: Não

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 6. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL	Tradução
17	Detecção de dados	Enter assay ID for sample no. [x] ENT: Next	Introduza a ID do ensaio para a amostra n.º [x] ENT: Seguinte
18	Detecção de dados	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No	Pretende verificar as IDs dos ensaios? ENT: Sim ESC: Não
19	Detecção de dados	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No	Pretende adicionar notas? ENT: Sim ESC: Não
20	Detecção de dados	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next	Introduza as notas para a amostra n.º [x] ENT: Seguinte
21	Detecção de dados	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No	Pretende verificar as notas? ENT: Sim ESC: Não
22	Orientação	Select protocol 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2	Selecione protocolo 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Selecione 1 ou 2
23	Orientação	Select elution volume: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul	Selecionar volume de eluição: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 6. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL	Tradução
24	Orientação	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2	Lavagem com etanol puro? 1: Não Seleccione 1 ou 2
25	Orientação	You have chosen: [xxx]ul blood, EtOH [xxx]ul elution ENT: Next, ESC: Back	Seleccionou: [xxx]ul sangue, EtOH [xxx]ul eluição ENT: Seguinte, ESC: Recuar
26	Orientação	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back	Carregar os cartuchos nas mesmas posições que as amostras ENT: Seguinte, ESC: Recuar
27	Orientação	Load elution tubes (ET) (1,5ml) into first row ENT: Next, ESC: Back	Carregar os tubos de eluição (ET) de 1,5 ml na primeira fila ENT: Seguinte, ESC: Recuar
28	Orientação	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back	Carregar os porta-pontas (DTH) e as pontas (DFT) na segunda fila ENT: Seguinte, ESC: Recuar
29	Orientação	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back	Carregar tubos de 2 ml contendo 1800 ul EtOH a 80% na terceira fila ENT: Seguinte, ESC: Recuar

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 6. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL	Tradução
30	Orientação	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back	Carregar os tubos de eluição (ST) de 2 ml na quarta fila ENT: Seguinte, ESC: Recuar
31	Orientação	Loading finished Close door and press START ESC: Back	Carregamento terminado Fechar a porta e primir INICIAR ESC: Recuar
32	Orientação	Please close door! ENT: Next	Feche a porta! ENT: Seguinte
33	Estado	Protocol started	Protocolo iniciado
34	Estado	Piercing foil [x] of [x] min left	Película de perfuração Faltam [x] de [x] min
35	Estado	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left	Colheita do tampão de eluição Faltam [x] de [x] min
36	Estado	Deliver at heat block [x] of [x] min left	Colocar no bloco de aquecimento Faltam [x] de [x] min
37	Estado	Collecting Beads [x] of [x] min left	Colheita de esferas Faltam [x] de [x] min

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 6. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL	Tradução
38	Estado	Resuspension of Beads [x] of [x] min left	Ressuspensão das esferas Faltam [x] de [x] min
39	Estado	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left	Colheita de tampão de lise Faltam [x] de [x] min
40	Estado	Mixing Lysate [x] of [x] min left	Misturar o lisado Faltam [x] de [x] min
41	Estado	Collecting Beads [x] of [x] min left	Colheita de esferas Faltam [x] de [x] min
42	Estado	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left	Ligação de DNA às esferas Separação magnética Faltam [x] de [x] min
43	Estado	Wash 1 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavagem 1 Separação magnética Faltam [x] de [x] min
44	Estado	Wash 2 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavagem 2 Separação magnética Faltam [x] de [x] min

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 6. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL	Tradução
45	Estado	Wash 3 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavagem 3 Separação magnética Faltam [x] de [x] min
46	Estado	Wash 4 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavagem 4 Separação magnética Faltam [x] de [x] min
47	Estado	Rinse [x] of [x] min left	Enxaguamento Faltam [x] de [x] min
48	Estado	Check Temp Set : Cur: [x] of [x] min left	Verificar a temperatura. Set : Cur: Faltam [x] de [x] min
49	Estado	Elution [x] of [x] min left	Eluição Faltam [x] de [x] min
50	Orientação	Protocol finished! ENT: Next	Protocolo concluído! ENT: Seguinte
51	Estado	Transferring report file Attempt no.	Transferência do ficheiro de relatório Tentativa n.º
52	Nenhum		

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 6. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL	Tradução
53	Estado	Report file sent ENT: Next	Ficheiro de relatório enviado ENT: Seguinte
54	Estado	Report file could not be sent ENT: Resend	O ficheiro de relatório não pode ser enviado ENT: Enviar novamente
55	Orientação	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No	Realizar execução UV? ENT: Sim ESC: Não
56	Orientação	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next	Remover eluatos e consumíveis da mesa de trabalho ENT: Seguinte
57	Orientação	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next	A lâmpada de UV expirará brevemente Execuções UV restantes: ENT: Seguinte
58	Orientação	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort	As lâmpadas UV expiraram ENT: Seguinte ESC: Cancelar
59	Orientação	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next	Descontaminação UV. Inserir 20 a 60 ENT: Seguinte

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 6. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL	Tradução
60	Orientação	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back	O tempo de descontaminação UV deve ser configurado entre 20-60 min ESC: Recuar
61	Orientação	UV lamp did not ignite! ESC: Back	A lâmpada UV não acendeu! ESC: Recuar
62	Orientação	Descontaminação UV Total time: min Time left: min	Descontaminação UV Tempo total: min Tempo restante: min
63	Estado	Decontamination UV lamps cooling Please stand by	Arrefecimento das lâmpadas de descontaminação UV Aguarde
64	Orientação	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu	Executar manutenção regular após cada execução ESC: Menu principal

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 7. Mensagens apresentadas no protocolo do EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V2.0)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Tradução
Nenhum	Orientação	Date/time START:Run 1:UV 2:Man 3:Test 4:Setup Key: START,1,2,3,4	Data/hora INICIAR: Execução 1:UV 2:Man 3:Teste 4:Configuração Tecla: INICIAR,1,2,3,4
1	Orientação	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 2.0	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Versão 2.0
2	Detecção de dados	Enter user ID ENT: Next	Introduzir ID do utilizador ENT: Seguinte
3	Detecção de dados	Enter Q-Card bar code ENT: Next	Introduzir código de barras do cartão Q ENT: Seguinte
4	Orientação	Wrong kit! Please load DSP DNA Blood kit ENT: Back	Kit incorrecto! Carregue-o DSP DNA Blood kit ENT: Recuar
5	Orientação	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: Stop protocol	O kit expirou! MMAA: ENT: Utilize um kit novo ESC: Parar protocolo

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 7. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Tradução
6	Detecção de dados	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 6 ENT: Next	Utilize os dados do cartão Q com a amostra 1 a [X] Introduza 1 a 6 ENT: Seguinte
7	Detecção de dados	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No	Pretende processar mais amostras com um kit de outro lote ENT: Sim, ESC: Não
8	Detecção de dados	Do you want to add sample IDs? ENT: Yes ESC: No	Pretende adicionar IDs da amostra? ENT: Sim ESC: Não
9	Detecção de dados	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next	Introduza a ID da amostra para a amostra n.º [x] ENT: Seguinte
10	Detecção de dados	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No	Pretende verificar as IDs das amostras? ENT: Sim ESC: Não
11	Detecção de dados	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next	ID 1: ID 2: ID 3: PARA BAIXO: Seguinte
12	Detecção de dados	ID 4: ID 5: ID 6: ENT:Next; Esc:Rescan	ID 4: ID 5: ID 6: ENT:Seguinte; Esc:Voltar a pesquisar
13	Nenhum		

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 7. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Tradução
14	Nenhum		
15	Nenhum		
16	Detecção de dados	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	Pretende adicionar informações do teste? ENT: Sim, ESC: Não
17	Detecção de dados	Enter assay ID for sample no. [X] ENT: Next	Introduza a ID do teste para a amostra n.º [X] ENT: Seguinte
18	Detecção de dados	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No	Pretende verificar as IDs dos testes? ENT: Sim ESC: Não
19	Detecção de dados	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No	Pretende adicionar notas? ENT: Sim ESC: Não
20	Detecção de dados	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next	Introduza as notas para a amostra n.º [x] ENT: Seguinte
21	Detecção de dados	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No	Pretende verificar as notas? ENT: Sim ESC: Não
22	Orientação	Select protocol 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2	Selecione protocolo 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Selecione 1 ou 2

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 7. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Tradução
23	Orientação	Select elution volume: 1: 50ul 2:100ul 3: 200ul	Seleccionar volume de eluição: 1: 50ul 2:100ul 3: 200ul
24	Orientação	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2	Lavagem com etanol puro? 1: Não 2: Sim Seleccione 1 ou 2
25	Orientação	You have chosen: [xxx]ul blood, EtOH [xxx]ul elution ENT: Next, ESC: Back	Seleccionou: [xxx]ul sangue, EtOH [xxx]ul eluição ENT: Seguinte, ESC: Recuar
26	Orientação	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back	Carregar os cartuchos nas mesmas posições que as amostras ENT: Seguinte, ESC: Recuar
27	Orientação	Load elution tubes (ET) (1,5ml) into first row ENT: Next, ESC: Back	Carregar os tubos de eluição (ET) de 1,5 ml na primeira fila ENT: Seguinte, ESC: Recuar
28	Orientação	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back	Carregar os porta-pontas (DTH) e as pontas (DFT) na segunda fila ENT: Seguinte, ESC: Recuar

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 7. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Tradução
29	Orientação	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back	Carregar tubos de 2 ml contendo 1800 ul EtOH a 80% na terceira fila ENT: Seguinte, ESC: Recuar
30	Orientação	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back	Carregar os tubos de eluição (ST) de 2 ml na quarta fila ENT: Seguinte, ESC: Recuar
31	Orientação	Loading finished Close door and press START ESC: Back	Carregamento terminado Fechar a porta e premir INICIO ESC: Recuar
32	Orientação	Please close door! ENT: Next	Feche a porta! ENT: Seguinte
33	Estado	Protocol started	Protocolo iniciado
34	Estado	Piercing Foil [x] of [x] min left	Película de perfuração Faltam [x] de [x] min
35	Estado	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left	Colheita do tampão de eluição Faltam [x] de [x] min
36	Estado	Deliver at Heat Block [x] of [x] min left	Colocar no bloco de aquecimento Faltam [x] de [x] min

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 7. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Tradução
37	Estado	Collecting Beads [x] of [x] min left	Colheita de esferas Faltam [x] de [x] min
38	Estado	Resuspension of Beads [x] of [x] min left	Ressuspensão das esferas Faltam [x] de [x] min
39	Estado	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left	Colheita de tampão de lise Faltam [x] de [x] min
40	Estado	Mixing Lysate [x] of [x] min left	Misturar o lisado Faltam [x] de [x] min
41	Estado	Collecting Beads [x] of [x] min left	Colheita de esferas Faltam [x] de [x] min
42	Estado	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left	Ligação de DNA às esferas Separação magnética Faltam [x] de [x] min
43	Estado	Wash 1 Separação magnética [x] of [x] min left	Lavagem 1 Separação magnética Faltam [x] de [x] min
44	Estado	Wash 2 Magnetic Separation [x] of [x] min left	Lavagem 2 Separação magnética Faltam [x] de [x] min
45	Estado	Wash 3 Magnetic Separation [x] of [x] min left	Lavagem 3 Separação magnética Faltam [x] de [x] min

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 7. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Tradução
46	Estado	Wash 4 Magnetic Separation [x] of [x] min left	Lavagem 4 Separação magnética Faltam [x] de [x] min
47	Estado	Rinse [x] of [x] min left	Enxaguamento Faltam [x] de [x] min
48	Estado	Check Temp. Set : Cur: [x] of [x] min left	Verificar a temperatura Set : Cur: Faltam [x] de [x] min
49	Estado	Elution [x] of [x] min left	Eluição Faltam [x] de [x] min
50	Orientação	Protocol finished! ENT: Next	Protocolo concluído! ENT: Seguinte
51	Estado	Transferring report file Attempt no.	Transferência do ficheiro de relatório Tentativa n.º
52	Nenhum		
Nenhum	Orientação	SEND REPORT Print out o.k.? 1=o.k 2=not o.k Key: 1, 2, ESC	ENVIAR RELATÓRIO Ficou bem impresso? 1=o.k 2= não o.k. Tecla: 1, 2, ESC
53	Estado	Report file sent ENT: Next	Ficheiro de relatório enviado ENT: Seguinte

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 7. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Tradução
54	Estado	Report file could not be sent ENT: Resend	O ficheiro de relatório não pode ser enviado ENT: Enviar novamente
55	Orientação	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No	Realizar execução UV? ENT: Sim ESC: Não
56	Orientação	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next	Remover eluatos e consumíveis da mesa de trabalho ENT: Seguinte
57	Orientação	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next	A lâmpada de UV expirará brevemente Execuções UV restantes: ENT: Seguinte
58	Orientação	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort	As lâmpadas UV expiraram ENT: Seguinte ESC: Cancelar
59	Orientação	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next	Descontaminação UV. Inserir 20 a 60 ENT: Seguinte
60	Orientação	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back	O tempo de descontaminação UV deve ser configurado entre 20-60 min ESC: Recuar

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 7. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Tradução
61	Orientação	UV lamp did not ignite! ESC: Back	A lâmpada UV não acendeu! ESC: Recuar
62	Orientação	UV decontamination Total time: min Time left: min	Descontaminação UV Tempo total: min Tempo restante: min
63	Estado	Decontamination UV lamps cooling Please stand by	Arrefecimento das lâmpadas de descontaminação UV Aguarde
64	Orientação	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu	Executar manutenção regular após cada execução ESC: Menu principal

Tabela 8. Mensagens apresentadas no protocolo do EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V1.0)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Tradução
Nenhum	Orientação	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4	Data/hora INICIAR: Execução 1: UV 2: Man 3: Teste 4: Configuração Chave de configuração: INICIAR, 1, 2, 3, 4
1	Orientação	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 1.0	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Versão 1.0
2	Detecção de dados	Scan/enter user ID	Pesquisar/introduzir ID do utilizador
3	Detecção de dados	Scan/enter Q-Card bar code	Pesquisar/introduzir código do cartão Q
4	Orientação	Wrong kit! Please load EZ1 DSP DNA Blood ENT: Back	Kit incorrecto! Carregue-o EZ1 DSP DNA Blood ENT: Recuar
5	Orientação	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol	O kit expirou ENT: Utilize um kit novo ESC: Parar protocolo
6	Detecção de dados	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6	Utilize os dados do cartão Q com a amostra n.º 1 para Introduzir 1 a 6

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 8. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Tradução
7	Orientação	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No	Pretende processar mais amostras com um kit de outro lote ENT: Sim, ESC: Não
8	Detecção de dados	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No	Pretende adicionar a ID da amostra? ENT: Sim ESC: Não
9	Detecção de dados	Scan/enter sample ID sample no. [x]	Pesquisar/introduzir ID da amostra amostra n.º [x]
10	Detecção de dados	ID1: ID2: ID3: Next=ENT	ID1: ID2: ID3: Seguinte=ENT
11	Detecção de dados	ID1: ID2: ID3: Next=ENT, ID1-3=Up	ID1: ID2: ID3: Seguinte=ENT, ID1-3=Para cima
12	Detecção de dados	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	Pretende adicionar informações do teste? ENT: Sim, ESC: Não
13	Detecção de dados	Scan/enter assay ID sample no. [x]	Pesquisar/introduzir ID do teste amostra n.º [x]
14	Detecção de dados	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No	Pretende adicionar notas? ENT: Sim ESC: Não

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 8. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Tradução
15	Detecção de dados	Scan/enter notes sample no. [x]	Pesquisar/introduzir notas amostra n.º [x]
16	Orientação	The protocol use Sample Volume: 350ul Elution Volume: 200ul Next=Any	O protocolo utiliza um volume de amostra de: 350ul Volume de eluição: 200ul Seguinte=Qualquer
17	Orientação	Load cartridges at same positions as samples Next=Any, Prev=Esc	Carregar os cartuchos nas mesmas posições que as amostras Seguinte=Qualquer, Anterior=Esc
18	Orientação	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=Esc	Carregar os tubos de eluição de 1,5 ml (ET) na primeira fila Seguinte=Qualquer, Anterior=Esc
19	Orientação	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=Esc	Carregar os porta-pontas (DTH) e as pontas (DFT) na segunda fila Seguinte=Qualquer, Anterior=Esc
20	Orientação	Leave third row empty Next=Any, Prev=Esc	Deixar a terceira linha vazia Seguinte=Qualquer, Anterior=Esc

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 8. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Tradução
21	Orientação	Load 2,0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev =Esc	Carregar os tubos de 2 ml (ST) com amostra na quarta fila Seguinte=Qualquer, Anterior=Esc
22	Orientação	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc	Carregamento terminado. Feche a porta e prima INICIAR Anterior=Esc
23	Orientação	Please close door!	Feche a porta!
24	Estado	Protocol started	Protocolo iniciado
25	Estado	Piercing Foil [x] of 23 min left	Película de perfuração Faltam [x] de 23 min
26	Estado	Collecting Elution Buffer [x] of 23 min left	Colheita do tampão de eluição Faltam [x] de 23 min
27	Estado	Deliver at Heat Block [x] of 23 min left	Colocar no bloco de aquecimento Faltam [x] de 23 min
28	Estado	Collecting Magnetic Beads [x] of 23 min left	Colheita de esferas magnéticas Faltam [x] de 23 min
29	Estado	Resuspension of Magnetic Beads [x] of 23 min left	Ressuspensão das esferas magnéticas Faltam [x] de 23 min
30	Estado	Adding Lysis Buffer [x] of 23 min left	Adicionar tampão de lise Faltam [x] de 23 min

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 8. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Tradução
31	Estado	Mixing Lysate [x] of 23 min left	Misturar o lisado Faltam [x] de 23 min
32	Estado	Adding Magnetic Beads [x] of 23 min left	Adicionar esferas magnéticas Faltam [x] de 23 min
33	Estado	DNA binding to Magnetic Beads [x] of 23 min left	Ligação de ADN às esferas magnéticas Separação magnética Faltam [x] de 23 min
34	Estado	Wash 1 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavagem 1 Separação magnética Faltam [x] de 23 min
35	Estado	Wash 2 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavagem 2 Separação magnética Faltam [x] de 23 min
36	Estado	Wash 3 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavagem 3 Separação magnética Faltam [x] de 23 min
37	Estado	Wash 4 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavagem 4 Separação magnética Faltam [x] de 23 min
38	Estado	Rinse [x] of 23 min left	Enxaguamento Faltam [x] de 23 min

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 8. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Tradução
39	Estado	Checking Temperature Set: Cur:	Verificação da temperatura Set: Cur:
40	Estado	Elution [x] of 23 min left	Eluição Faltam [x] de 23 min
41	Orientação	Protocol finished	Protocolo concluído
42	Detecção de dados	Transfer Report file, attempt no.	Transferência do ficheiro de relatório, tentativa n.º
43	Orientação	Report file sent Next=ENT	Ficheiro de relatório enviado Seguinte=ENT
44	Orientação	Report file could not be sent Resend=ENT	O ficheiro de relatório não pode ser enviado Reenviar=ENT
45	Orientação	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No	Realizar execução UV? ENT: Sim ESC: Não
46	Orientação	UV DECONTAMINATION Set time min Key:0-9, ENT	DESCONTAMINAÇÃO UV Configurar hora min Tecla:0-9, ENT
47	Orientação	UV lamp expires soon UV runs left ENT= continue	A lâmpada de UV expirará brevemente Execuções UV restantes ENT= continuar

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 8. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Tradução
48	Orientação	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort	Fim do prazo de validade da lâmpada UV ENT= continuar ESC=cancelar
49	Orientação	UV DECONTAMINATION Time must be between 20-60 min Key:ESC	DESCONTAMINAÇÃO UV O tempo deve ser configurado entre 20-60 min Tecla:ESC
50	Orientação	UV DECONTAMINATION Total Time: min Time left: min	DESCONTAMINAÇÃO UV Tempo total: min Tempo restante: min
51	Orientação	Decontamination UV lamp cooling Please stand by	Arrefecimento da lâmpada de descontaminação UV Aguarde
52	Orientação	Perform regular maintenance before next run! ESC=Main menu	Efectuar manutenção regular antes da próxima execução! ESC= Menu principal

Tabela 9. Mensagens apresentadas no protocolo do BioRobot EZ1 DSP DNA Blood

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do BioRobot EZ1 DSP	Tradução
Nenhum	Orientação	Choose button: START: Protocols 1: Tools 2: Tests	Seleccione o botão: INICIAR: Protocolos 1: Ferramentas 2: Testes
1	Orientação	EZ1 DSP DNA Blood Version 1.0.0	EZ1 DSP DNA Blood Versão 1.0.0
2	Orientação	The protocol uses Sample Volume: [SampleVolume]ul Elution Volume: [ElutionVolume]ul Next=Any	O protocolo utiliza um Volume de amostra:[Volume de amostra]ul Volume de eluição: [Volume de eluição]ul Seguinte=Qualquer
3	Orientação	Load sufficient cartridges (RCB) for samples Next =Any, Prev=ESC	Carregar cartuchos (RCB) suficientes para amostras) Seguinte=Qualquer, Anterior=ESC
4	Orientação	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=ESC	Carregar os tubos de eluição de 1,5 ml (ET) na primeira fila Seguinte=Qualquer, Anterior=ESC
5	Orientação	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC	Carregar os porta- pontas (DTH) e as pontas (DFT) na segunda fila) Seguinte=Qualquer, Anterior=ESC
6	Orientação	Leave third row Empty Next=Any, Prev=ESC	Deixar a terceira linha vazia Seguinte=Qualquer, Anterior=ESC

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 9. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do BioRobot EZ1 DSP	Tradução
7	Orientação	Load 2.0ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=ESC	Carregar os tubos de 2 ml (ST) com amostra na quarta fila Seguinte=Qualquer, Anterior=ESC
8	Orientação	Start protocol Press START Prev=ESC	Iniciar protocolo Prima INICIAR Anterior=ESC
9	Estado	Protocol started	Protocolo iniciado
10	Estado	Piercing Foil	Película de perfuração
11	Estado	Collecting Elution Buffer	Colheita do tampão de eluição
12	Estado	Deliver at Heat Block	Colocar no bloco de aquecimento
13	Estado	Collecting Magnetic Beads	Colheita de esferas magnéticas
14	Estado	Resuspension of Magnetic Beads	Ressuspensão das esferas magnéticas
15	Estado	Adding Lysis Buffer	Adicionar tampão de lise
16	Estado	Mixing Lysate	Misturar o lisado
17	Estado	Adding Magnetic Beads	Adicionar esferas magnéticas
18	Estado	DNA binding to Magnetic Beads Magnetic Separation	Ligação de ADN às esferas magnéticas Separação magnética
19	Estado	Wash 1 Separação magnética	Lavagem 1 Separação magnética
20	Estado	Wash 2 Magnetic Separation	Lavagem 2 Separação magnética

A tabela continua na página seguinte.

Tabela 9. Continuação

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do BioRobot EZ1 DSP	Tradução
21	Estado	Wash 3 Magnetic Separation	Lavagem 3 Separação magnética
22	Estado	Wash 4 Magnetic Separation	Lavagem 4 Separação magnética
23	Estado	Rinse	Enxaguamento
24	Estado	Checking Temperature Set: 65 [deg] Cur: [deg]	Verificar a temperatura Set: 65 [deg] Cur: [deg]
25	Estado	Elution	Eluição
26	Orientação	Protocol finished! Press ESC to return to menu	Protocolo concluído! Prima ESC para regressar ao menu

Apêndice B: Armazenamento, quantificação e determinação da pureza do DNA

Armazenamento do DNA

O DNA purificado pode ser armazenado entre 2–8 °C ou a –20 °C durante, no máximo até 24 meses. Para conservar durante mais tempo, os eluatos devem ser armazenados a –70 °C.

Quantificação do DNA

A concentração de DNA devem ser determinados medindo a absorção a 260 nm (A_{260}) num espectrofotómetro. As leituras de absorvância a 260 nm devem situar-se entre 0,1 e 1,0 para serem precisas. A absorvância de 1 unidade a 260 nm corresponde a 50 µg de DNA por ml ($A_{260} = 1 \rightarrow 50 \mu\text{g/ml}$). Utilize um tampão com pH neutro (por exemplo, 10 mM Tris·Cl, * pH 7,0) para diluir as amostras e para calibrar o espectrofotómetro.† O “Carry-over” de partículas magnéticas no eluato pode afectar a leitura A_{260} mas não deve afectar o desempenho do DNA em aplicações a jusante. Se o DNA purificado se destinar a ser analisado por sequenciação capilar fluorescente, o tubo que contém o eluato deve ser aplicado primeiro num separador magnético adequado e o eluato transferido para um tubo limpo (consulte abaixo).

Para quantificar o DNA isolado utilizando o sistema EZ1:

- Aplique o tubo que contém o DNA num separador magnético adequado (por exemplo, QIAGEN 12-Tube Magnet, referência 36912) durante 1 minuto. Se não estiver disponível um separador magnético adequado, centrifugue o tubo que contém o DNA durante 1 minuto à velocidade máxima numa microcentrífuga para formar um pellet de todas as partículas magnéticas restantes.
- Assim que a separação estiver concluída, retire cuidadosamente 10-50 µl de DNA isolado e dilua para um volume final de 100 µl no tampão com pH neutro.
- Meça a absorvância a 320 nm e 260 nm. Subtraia a leitura da absorvância obtida a 320 nm à leitura obtida a 260 nm para corrigir a presença de partículas magnéticas.

* Quando trabalhar com substâncias químicas, use sempre um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (SDS) adequadas, disponíveis junto do fornecedor do produto.

† Se as amostras não forem diluídas, utilize água para calibrar o espectrofotómetro.

Concentração da amostra de DNA = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{factor de diluição}$

Quantidade total de DNA isolado = concentração x volume da amostra em mililitros

Pureza do DNA

A pureza é determinada calculando o rácio da absorvância corrigida a 260 nm em relação à absorvância corrigida a 280 nm, ou seja, $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. O DNA puro tem uma razão $A_{260} - A_{280}$ de 1,7–1,9. Utilize um tampão com pH ligeiramente alcalino (por exemplo, 10 mM Tris·Cl, pH 7,5) para diluir as amostras e para calibrar o espectrofotómetro.* Se as amostras não forem diluídas, utilize água para calibrar o espectrofotómetro.

* Quando trabalhar com substâncias químicas, use sempre um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (SDS) adequadas, disponíveis junto do fornecedor do produto.

Apêndice C: Folha de amostra para utilizar com o sistema EZ1 DSP DNA Blood

Este modelo de folha de amostra pode ser útil para guardar os registos quando utilizar o procedimento do EZ1 DSP DNA Blood. Esta folha pode ser fotocopiada e identificada com descrições das amostras e detalhes da execução.

Sistema EZ1 DSP DNA Blood

Data/hora: _____ Número do lote do kit: _____

Operador: _____ ID da execução: _____

Número de série do instrumento: _____

Posição na mesa de trabalho	ID da amostra:	Material da amostra	RCB disponível?	ST disponível?	RT disponível?	DTH com DFT disponível?
1 (esquerda)						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14 (direita)						

Apêndice D: Exemplo de um ficheiro de relatório do EZ1 Advanced

Neste apêndice é apresentado um ficheiro de relatório normal gerado no EZ1 Advanced. Os valores para cada parâmetro irão diferir dos do ficheiro de relatório gerado no seu EZ1 Advanced. Os ficheiros de relatório gerados no EZ1 Advanced XL apresentam informações equivalentes e diferem apenas no número do canal.

Report File EZ1 Advanced:
Serial No. EZ1 Advanced:,"6987"
User ID:,"555"
Firmware version:,"V 1.0.0"
Installation date of instrument:,"Oct 05, 2007"
Weekly maintenance done on:,"Jly 29, 2009"
Yearly maintenance done on:,"Mar 24, 2009"
Date of last UV-run:,"Mar 31, 2009"
Start of last UV-run:,"10:59"
End of last UV-run:,"10:59"
Status of last UV-run:,"o.k."

Protocol name:,"DSP DNA Blood Version 2.0"
,"DSP DNA Blood 350"

Date of run:,"Aug 05, 2009"
Start of run:,"07:58"
End of run:,"08:28"
Status run:,"o.k"
Error Code:,"---"
Sample input Volume [ul]:," 350"
Elution volume [ul]:," 200"

Channel A:
Sample ID:,"1"
Reagent Kit number:,"9900801"
Reagent Lot number:,"0133203571"
Reagent Expiry date:,"1209"
Assay Kit ID:,"1"
Note:,"1"

Channel B:
Sample ID:,"2"
Reagent Kit number:,"9900801"
Reagent Lot number:,"0133203571"
Reagent Expiry date:,"1209"
Assay Kit ID:,"2"
Note:,"2"

Channel C:
Sample ID:,"3"
Reagent Kit number:,"9900801"
Reagent Lot number:,"0133203571"
Reagent Expiry date:,"1209"
Assay Kit ID:,"3"

Note;,"3"

Channel D:

Sample ID;,"4"

Reagent Kit number;,"9900801"

Reagent Lot number;,"0133203571"

Reagent Expiry date;,"1209"

Assay Kit ID;,"4"

Note;,"4"

Channel E:

Sample ID;,"5"

Reagent Kit number;,"9900801"

Reagent Lot number;,"0133203571"

Reagent Expiry date;,"1209"

Assay Kit ID;,"5"

Note;,"5"

Channel F:

Sample ID;,"6"

Reagent Kit number;,"9900801"

Reagent Lot number;,"0133203571"

Reagent Expiry date;,"1209"

Assay Kit ID;,"6"

Note;,"6"

[Checksum A0C47444]

Informações para encomenda

Produto	Índice	Referência
EZ1 DSP DNA Blood Kit (48)	Para 48 preparações de DNA: Cartuchos de reagentes enchidos previamente, porta-pontas descartáveis, pontas com filtros descartáveis, tubos de amostra, tubos de eluição	62124
EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card	Cartão pré-programado para o protocolo EZ1 DSP DNA Blood; para utilizar com o instrumento EZ1 Advanced XL	9018702
EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card	Cartão pré-programado para o protocolo EZ1 DSP DNA Blood; para utilizar com o instrumento EZ1 Advanced	9018305
EZ1 DSP DNA Blood Card	Cartão pré-programado para o protocolo EZ1 DSP DNA Blood; para utilizar com o instrumento BioRobot EZ1 DSP	9017713
EZ1 Advanced XL	Instrumento robótico para a purificação automatizada de ácidos nucleicos de até 14 amostras utilizando os kits EZ1, garantia de 1 ano em peças e mão-de-obra*	9001492

Visite www.qiagen.com/products/assays para obter mais informações sobre as tecnologias de ensaio da QIAGEN!

Para informações de licenciamento actualizadas e declarações específicas de produtos consulte o manual do kit QIAGEN respectivo ou o manual do utilizador. Os manuais dos kits e os manuais do utilizador da QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser pedidos aos serviços de Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Marcas registadas: QIAGEN®, artus®, BioRobot®, EZ1®, QuantiTect® (QIAGEN Group); BD Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); LightCycler® (Roche Group); Monovette® (Sarstedt AG & Co.); Vacuette® (C.A. Greiner & Söhne GmbH).

Acordo de Licença Limitada

A utilização deste produto significa o acordo de qualquer comprador ou utilizador do EZ1 DSP DNA Blood Kit para os seguintes termos:

1. O EZ1 DSP DNA Blood Kit pode ser usado somente de acordo com o *Manual do EZ1 DSP DNA Blood Kit* e apenas para utilização com os componentes contidos no Kit. A QIAGEN não concede nenhuma licença ao abrigo de qualquer da sua propriedade intelectual para usar ou incorporar os componentes englobados neste Kit com qualquer componente não incluído neste Kit, excepto conforme descrito no *Manual do EZ1 DSP DNA Blood Kit* e quaisquer protocolos adicionais disponíveis em www.qiagen.com.
2. À excepção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não emite qualquer garantia de que este Kit e/ou a sua utilização ou utilizações não infrinjam os direitos de terceiros.
3. Este Kit e os seus componentes estão licenciados para uma única utilização e não podem ser reutilizados, renovados ou objecto de revenda.
4. A QIAGEN recusa especificamente qualquer outra licença, expressa ou implícita, à excepção das expressamente declaradas.
5. O comprador e utilizador do Kit concorda em não tomar nem permitir que qualquer outro tome medidas que possam conduzir ou facilitar qualquer dos actos acima proibidos. A QIAGEN pode fazer cumprir as proibições deste Acordo de Licença Limitada em qualquer Tribunal e irá recuperar todos os seus custos legais e de investigação, incluindo honorários de advogados, em qualquer processo destinado a fazer cumprir este Acordo de Licença Limitada ou qualquer dos seus direitos de propriedade intelectual relativos ao Kit e/ou seus componentes.

Para obter os termos de licença actualizados, consulte www.qiagen.com.

QuantiTect Probe PCR Kit: AVISO AO COMPRADOR: LICENÇA LIMITADA

Uma licença para realizar o processo de 5' nuclease para investigação necessita de um kit de 5' Nuclease licenciado (contendo sonda licenciada), ou a combinação de um 5' Nuclease Core Kit autorizado mais uma sonda licenciada, ou direitos de licença que podem ser adquiridos à Applied Biosystems. Este produto é um 5' Nuclease Core Kit autorizado sem sonda licenciada. O seu preço de compra inclui uma imunidade limitada, não-transferível com os Números de patente 5,210,015, 5,487,972, 5,476,774, e 5,219,727, e reclamações de patente correspondents for a dos Estados Unidos, propriedade da Roche Molecular Systems, Inc. ou F. Hoffmann-La Roche Ltd (Roche), para utilização apenas desta quantidade de produto na prática dos processos 5' nuclease apenas investigação própria do comprador quando utilizada em conjunto com a sonda licenciada. Este produto é também um 5' Nuclease Core Kit autorizado para utilização com sub-licenças disponíveis na Applied Biosystems. Este produto não tem direitos sobre os números de patente 5,804,375, 6,214,979, 5,538,848, 5,723,591, 5,876,930, 6,030,787 ou 6,258,569 ou patentes correspondentes a dos Estados Unidos, expressamente, por implicação ou por estoppel. nenhuns direitos sobre quaisquer outras reclamações de patente (tais como aparelhos ou sistemas em Patente N.º 6,814,934 nos Estados Unidos) e nenhum direito a realizar serviços comerciais de qualquer tipo, incluindo sem limitação reportando os resultados das actividades da compra para uma taxa ou outra consideração comercial, está aqui expressamente garantida, por implicação ou por estoppel. Este produto destina-se apenas a actividades de investigação. As utilizações em diagnóstico necessitam de uma licença à parte da Roche. Mais informações sobre a aquisição de licenças pode ser obtida contactando o Director de Licenciamento, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, EUA.

HB-0252-003 © 2009-2015 QIAGEN. Todos os direitos reservados.

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 01-60-920-926 ■ 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)

