

Manual de uso del kit EZ1[®] DSP DNA Blood



Versión 3

IVD

Solo para uso diagnóstico *in vitro*



REF

62124

HB

1054989ES



QIAGEN GmbH, 40724 Hilden, ALEMANIA

R5

MAT

1054989ES



QIAGEN Tecnología de preparación de muestras y ensayos de biología molecular

QIAGEN es el proveedor líder de tecnologías innovadoras para la preparación de muestras y ensayos de biología molecular, que permiten el aislamiento y la detección del contenido de cualquier muestra biológica. Nuestros productos y servicios de vanguardia y máxima calidad garantizan el éxito, desde la muestra hasta el resultado.

QIAGEN sienta las bases de excelencia en los siguientes campos:

- Purificación de ADN, ARN y proteínas
- Ensayos con ácidos nucleicos y proteínas
- Investigación con microARN y ARNi
- Automatización de tecnologías de tratamiento de muestras y ensayos de biología molecular

Nuestra misión es ayudarlo a superar sus retos y a alcanzar el éxito. Para obtener más información, visite www.qiagen.com.

Contenido

Contenido del kit	4
Símbolos	4
Almacenamiento	5
Uso previsto	5
Limitaciones de uso del producto	6
Asistencia técnica	6
Advertencias y precauciones	7
Control de calidad	8
Introducción	9
Principio y procedimiento	9
Características del rendimiento del sistema EZ1 DSP DNA Blood	9
Equipos y reactivos que debe suministrar el usuario	27
Notas importantes	29
Almacenamiento de muestras de sangre	29
Precipitado en el cartucho de reactivos (RCB)	29
Trabajar con instrumentos EZ1	29
Protocolo: Purificación de ADN genómico a partir de sangre total utilizando el EZ1 Advanced XL	36
Protocolo: Purificación de ADN genómico a partir de sangre total utilizando el EZ1 Advanced (con la tarjeta V2.0)	39
Protocolo: Purificación de ADN genómico a partir de sangre total utilizando el EZ1 Advanced (con la tarjeta V1.0)	43
Protocolo: Purificación de ADN genómico a partir de sangre total utilizando el BioRobot EZ1 DSP	46
Guía de resolución de problemas	49
Apéndice A: Mensajes mostrados en pantalla	51
Apéndice B: Almacenamiento, cuantificación y determinación de la pureza del ADN	78
Apéndice C: Hoja de muestras para usar con el sistema EZ1 DSP DNA Blood	80
Appendix D: Ejemplo de un informe del EZ1 Advanced	81

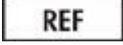
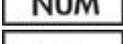
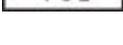
Contenido del kit

Kit EZ1 DSP DNA Blood		(48)
Referencia		62124
Número de preparaciones		48
RCB	Cartucho de reactivo, sangre 350 μ l*	REAG CART BLOOD 48
DTH	Soportes de puntas desechables	DISP TIP HOLD 50
DFT	Puntas con filtro desechables	DISP FILT TIP 50
ST	Tubos de muestra (2 ml)	SAMP TUBE 50
ET	Tubos de elución (1,5 ml)	ELU TUBE 50
	Q-Card [†]	1
	Manual	HB 1

* Contiene azida sódica como conservante. Contiene una sal de guanidina. No es compatible con los desinfectantes que contienen lejía. Consulte la página **Fehler! Textmarke nicht definiert.** para mayor información.

[†] La información codificada en el código de barras de la Q-Card es necesaria para el seguimiento de los datos referentes a reactivos usando el EZ1Advanced o el EZ1 Advanced XL.

Símbolos

 48	Contiene reactivos para 48 preparaciones de muestra
	Fecha de caducidad
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Referencia
	Número de lote
	Número de material
	Componentes
	Número
	Volumen



Limitación de temperatura



Fabricante legal



Nota importante



Solo para uso con



Contiene



Isotiocianato de guanidina



Hidrocloruro de guanidina



Etanol



Número mundial de artículo comercial



Abrir al recibir; almacene los cartuchos de reactivo (RCB) a 2–8 °C



Este lado hacia abajo al abrir

Almacenamiento

Almacene los cartuchos de reactivos (RCB) refrigerados a 2–8 °C. Las partículas magnéticas presentes en los cartuchos de reactivos (RCB) se mantienen activas cuando se encuentran a esta temperatura. No congele los cartuchos de reactivos (RCB). Cuando están almacenados a 2–8 °C, los cartuchos de reactivos (RCB) son estables hasta la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta y en la caja del kit. En caso de no ser refrigerados, los cartuchos de reactivos (RCB) pueden almacenarse inmediatamente a 15–25 °C, pero deben utilizarse en un período de 4 semanas o hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta, en la tarjeta Q-Card y en la caja del kit, la que ocurra primero.

Al almacenarse, los tampones presentes en el cartucho de reactivos (RCB) (pozo 1) pueden formar un precipitado. Equilibre el cartucho de reactivos (RCB) a temperatura ambiente (15–25 °C) y revíselo antes de usarlo. Disuelva los precipitados como se describe en el capítulo “Precipitado en el cartucho de reactivos (RCB)”, página 29.

Uso previsto

El kit EZ1 DSP DNA Blood utiliza tecnología de partículas magnéticas para el aislamiento y la purificación automatizados de ADN humano a partir de muestras biológicas.

El producto está destinado a ser utilizados por usuarios profesionales, como técnicos y médicos que hayan recibido formación en técnicas de biología molecular.

El sistema EZ1 DSP DNA Blood está únicamente indicado para el uso diagnóstico *in vitro*.

Limitaciones de uso del producto

Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento del sistema para cualquier procedimiento utilizado en su laboratorio que no esté cubierto por los estudios de evaluación del rendimiento de QIAGEN.

El rendimiento del sistema se ha establecido en estudios de evaluación del rendimiento en los que se han utilizado sangre humana total para el aislamiento de ADN genómico.

Para minimizar el riesgo de un impacto negativo en los resultados, deben utilizarse controles adecuados para aplicaciones posteriores. Para validaciones adicionales se recomiendan las directrices de la International Conference on Harmonization of Technical Requirements (Conferencia internacional sobre armonización de requisitos técnicos, ICH) detalladas en *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*.

Todo resultado diagnóstico que se genere debe interpretarse en combinación con otros hallazgos clínicos o de laboratorio.

Asistencia técnica

En QIAGEN nos enorgullecemos de la calidad y de la disponibilidad de nuestra asistencia técnica. Nuestros departamentos de Servicio Técnico cuentan con científicos expertos con amplia experiencia en los aspectos prácticos y teóricos de las tecnologías para el tratamiento de muestras y ensayos de biología molecular y en el uso de los productos de QIAGEN. Si desea resolver dudas o si tiene dificultades con los kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini o QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi o con los productos de QIAGEN en general, no dude en ponerse en contacto con nosotros.

Los clientes de QIAGEN son una importante fuente de información sobre los usos avanzados o especializados de nuestros productos. Esta información es de utilidad para otros científicos además de para los investigadores de QIAGEN. Por este motivo, lo animamos a ponerse en contacto con nosotros si tiene cualquier sugerencia sobre el rendimiento de nuestros productos o sobre nuevas aplicaciones y técnicas.

Para recibir asistencia técnica y solicitar más información, visítenos en nuestro Centro de Servicio Técnico (Technical Support Center) en

www.qiagen.com/Support o póngase en contacto telefónico con uno de los departamentos de Servicio Técnico de QIAGEN o con los distribuidores locales (consulte la contraportada o visite www.qiagen.com).

Advertencias y precauciones

Siempre que trabaje con productos químicos utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Si desea obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (SDS) correspondientes. Estas fichas están disponibles online en un formato PDF cómodo y compacto en www.qiagen.com/safety, donde podrá encontrar, visualizar e imprimir la ficha de datos sobre seguridad correspondiente a cada kit y a cada componente del kit de QIAGEN®.



PRECAUCIÓN: NO añada lejía ni soluciones ácidas directamente a los desechos de la preparación de muestras.

Los tampones presentes en los cartuchos de reactivos (RCB) contienen clorhidrato de guanidina/isotiocianato de guanidina, los cuales pueden formar compuestos altamente reactivos al combinarse con lejía.

En caso de derrame de cualquier líquido que contenga estos tampones, limpie con un detergente de laboratorio adecuado y agua. Si se derrama líquido que contenga agentes potencialmente infecciosos sobre los instrumentos EZ1, desinfecte el instrumento usando los reactivos descritos en el manual del usuario suministrado con su equipo EZ1.

Los cartuchos de reactivos (RCB) rotos o que goteen deben ser manejados y desechados acorde con las normativas de seguridad locales. No utilice los cartuchos de reactivos (RCB) u otros componentes del kit que estén dañados, ya que ello puede conducir a un pobre rendimiento del kit.

QIAGEN no ha analizado los desechos líquidos generados durante el funcionamiento del kit EZ1 DSP DNA Blood para descartar la presencia de materiales infecciosos residuales. Es muy poco probable que los materiales infecciosos residuales contaminen los desechos, pero no se puede excluir completamente. Por tanto, los desechos líquidos residuales deberán considerarse infecciosos y ser manipulados y eliminados de acuerdo con la normativa local sobre seguridad.

Las siguientes indicaciones de riesgo y advertencia hacen referencia a los componentes del kit EZ1 DSP DNA Blood.

Reagent Cartridge Blood



Contiene: ethanol; guanidine hydrochloride; guanidine thiocyanate. Peligro! Puede ser nocivo en caso de ingestión. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Líquido y vapores muy inflamables. En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. Eliminar el contenido/ el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico. Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. - No fumar. Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco. Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección.

Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del kit EZ1 DSP DNA Blood se analiza en relación con especificaciones predeterminadas para garantizar la uniformidad de la calidad de los productos.

Introducción

El EZ1 DSP DNA Blood Kit está indicado para la purificación de ADN genómico a partir de muestras de sangre total. La tecnología de partículas magnéticas proporciona ADN de alta calidad que es adecuado para el uso directo en aplicaciones posteriores, tales como la amplificación u otras reacciones enzimáticas. El EZ1 ejecuta todos los pasos del procedimiento de preparación de muestras para un máximo de 6 muestras (con el EZ1 Advanced o el BioRobot® EZ1 DSP) o 14 muestras (con el EZ1 Advanced XL) en una sola ejecución.

Utilizando el BioRobot EZ1 DSP o el EZ1 Advanced con la tarjeta de protocolo V1.0, el volumen de entrada de la muestra es de 350 μ l y la elución del ADN se realiza en 200 μ l de tampón de elución. Utilizando el EZ1 Advanced XL o el EZ1 Advanced con la tarjeta de protocolo V2.0, se puede elegir un volumen de entrada de la muestra de entre 200 μ l o 350 μ l, y el volumen de elución del ADN se puede elegir de entre 50 μ l, 100 μ l o 200 μ l.

Principio y procedimiento

La tecnología de partículas magnéticas combina la velocidad y eficiencia de la purificación de ácidos nucleicos basada en el sílice con la cómoda manipulación de las partículas magnéticas (véase el esquema, página 10). El ADN es purificado a partir de lisados en un paso a través de su unión a la superficie de sílice de las partículas en presencia de una sal caotrópica. Las partículas se separan de los lisados utilizando un imán. El ADN entonces se lava bien y se eluye en un tampón de elución.

Características del rendimiento del sistema EZ1 DSP DNA Blood

Robustez del sistema

Para el uso del kit EZ1 DSP DNA Blood pueden utilizarse diferentes tipos de tubos de recogida y coagulantes para la recogida de muestras de sangre. La Tabla 1 (página 11) proporciona un resumen de los tubos de recogida de muestras que se han utilizado para la evaluación del sistema. Estos tubos se seleccionaron para cubrir un rango de anticoagulantes y fabricantes de tubos de recogida de sangre distintos. También se pueden utilizar tubos de otros fabricantes.

El promedio relativo de obtención de ADN a partir de muestras de sangre utilizando diferentes tubos se muestra en la Figura 1 (página 12).

Procedimiento del EZ1 DSP DNA Blood

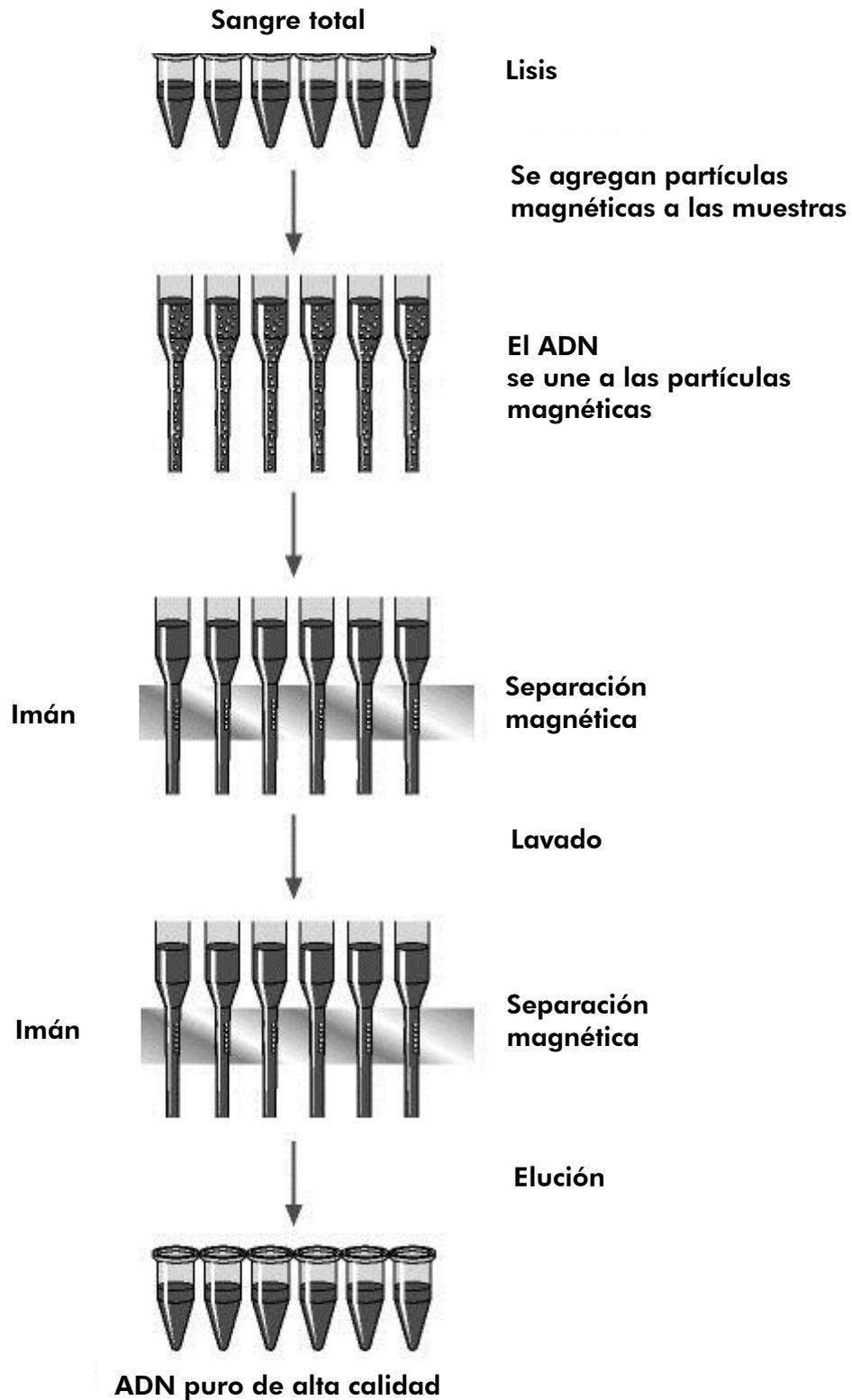


Tabla 1. Tubos de recogida analizados con el sistema EZ1 DSP DNA Blood

Tubo	Abreviatura	Fabricante	Referencia*	Volumen nominal de extracción (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 CPDA1	CDPA1	Sarstedt	11.610.001	8,5
Vacurette® K3E	V K3E	Greiner Bio-One	455036	9
Vacurette 9NC	V 9NC	Greiner Bio-One	454382	9

* Las referencias están sujetas a cambios; verifique con el fabricante o proveedor.

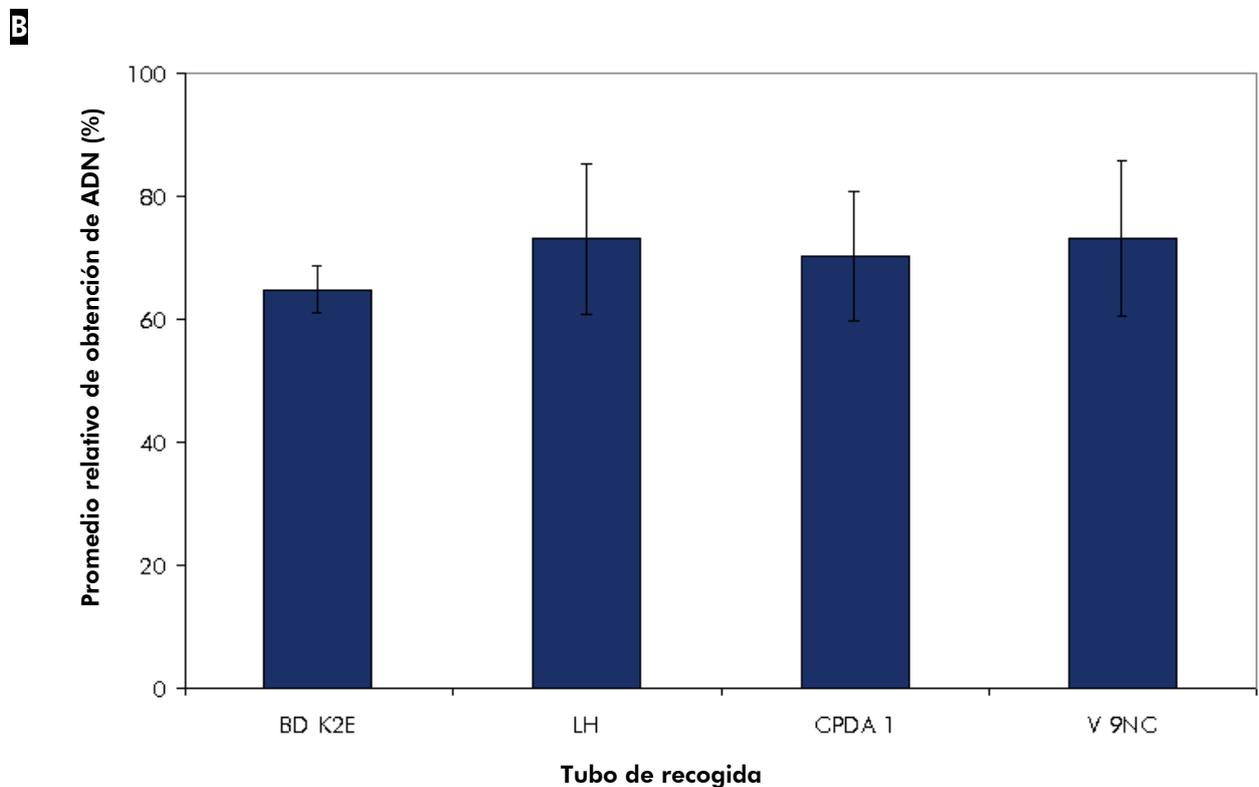
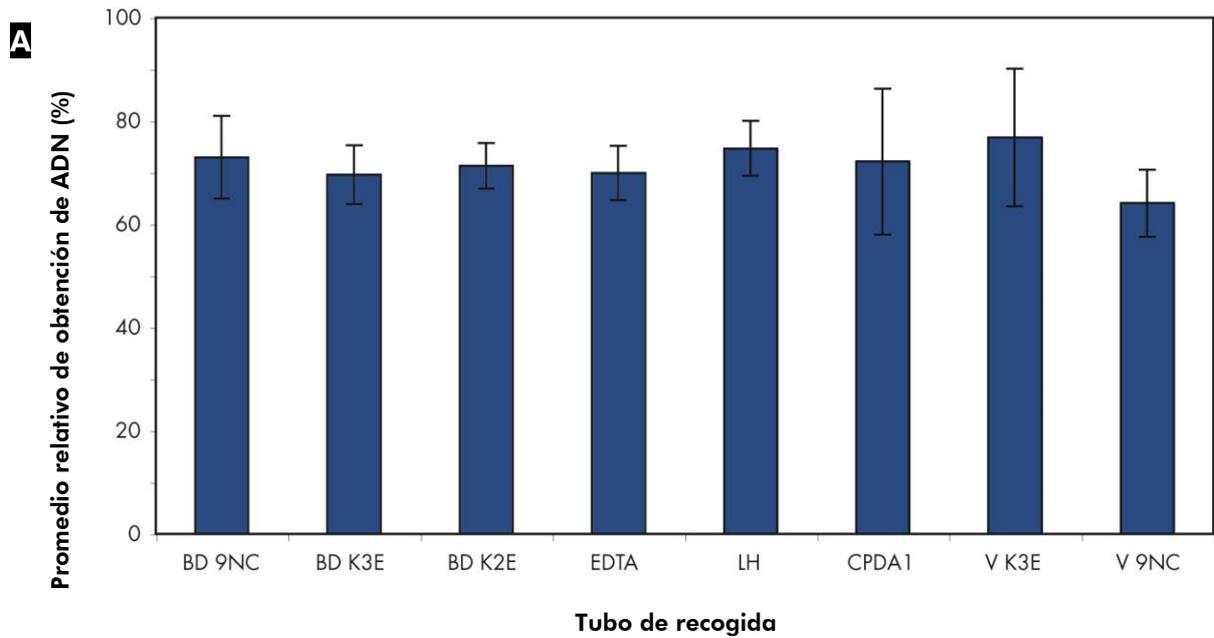


Figura 1. Robustez del sistema utilizando anticoagulantes y tubos de recogida diferentes. La sangre total se extrajo de donantes sanos en distintos tipos de tubo con réplicas de 3 por donante y tubo. Los tubos utilizados se muestran en la Tabla 1 (página 11). **A** La sangre se extrajo de 6 donantes en 8 tipos de tubo diferentes. El ADN genómico se purificó de muestras de un volumen de 350 μl con elución en un volumen de 200 μl . **B** La sangre se extrajo de 4 donantes en 4 tipos de tubo diferentes. El ADN genómico se purificó de muestras de un volumen de 200 μl utilizando el sistema EZ1 DSP DNA Blood en el EZ1 Advanced XL, con elución en un volumen de 200 μl . La obtención de ADN teórica de cada donante y tubo se determinó por recuento de glóbulos blancos. Las barras muestran el

promedio de obtención relativo de ADN (en comparación con la obtención teórica) con desviación estándar.

Descongelación de muestras

Se pueden utilizar muestras de sangre humana total congeladas o recién extraídas (vea “Almacenamiento de muestras de sangre”, página 29). Se han analizado los efectos de la congelación y descongelación de muestras de sangre teniendo en cuenta la purificación del ADN utilizando el sistema EZ1 DSP DNA Blood (Figura 2).

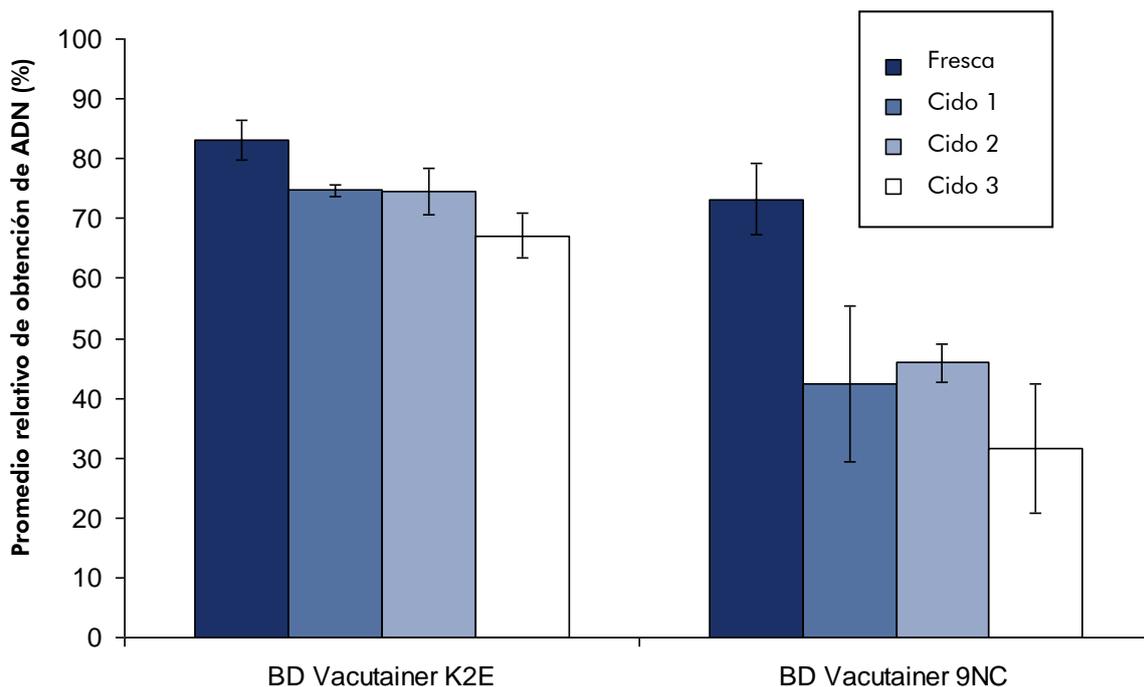


Figura 2. Influencia de ciclos de congelación-descongelación en la obtención de ADN.

La sangre total se extrajo de 3 donantes sanos en los tubos indicados con 6 réplicas cada uno. Los tubos utilizados se muestran en la tabla 1. El ADN genómico se purificó de 350 μ l de cada muestra utilizando el sistema EZ1 DSP DNA Blood, y valores medios de obtención de ADN relativo (**Fresca**) fueron calculados para cada donante y cada tubo. Los tubos que contenían la sangre se congelaron y descongelaron 3 veces. El ADN genómico se purificó después de cada ciclo de congelamiento-descongelamiento (**Ciclo 1 – Ciclo 3**) utilizando el sistema EZ1 DSP DNA Blood y se determinó la obtención relativa de ADN. Para congelación-descongelación, se recomiendan tubos con EDTA como anticoagulante.

Obtención de ADN purificado

El ADN genómico se purificó a partir de 350 μ l muestras de sangre de donantes sanos. La cantidad de ADN purificado utilizando el procedimiento EZ1 DSP DNA Blood depende del contenido de glóbulos blancos de cada muestra de sangre, y lo obtenido puede variar de donante a donante (Figura 3).

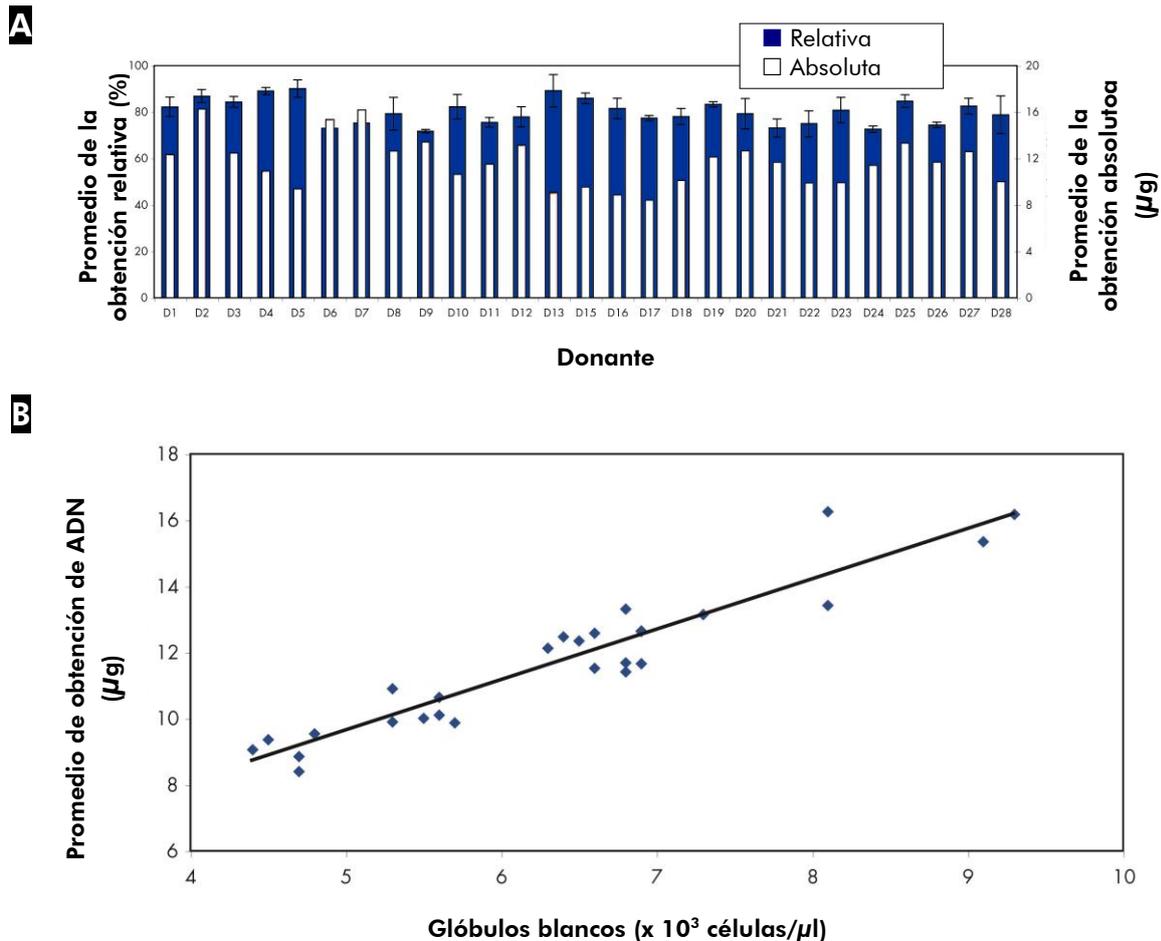


Figura 3. Promedios de obtención de ADN relativos y absolutos a partir de distintos donantes. Se extrajo la sangre total de 27 donantes por triplicado. El ADN genómico se purificó utilizando 350 µl de cada muestra usando el sistema EZ1 DSP DNA Blood. La obtención de ADN teórica se determinó por recuento de glóbulos blancos. **A** Se muestra la obtención de ADN media, absoluta (**Absoluta**) y relativa (**Relativa**) (en comparación con la obtención teórica calculada) para cada donante. **B** Se muestra la obtención absoluta para cada donante con relación al recuento de glóbulos blancos.

Concentración de ADN purificado utilizando distintos volúmenes de elución

El ADN genómico se purificó a partir de 250 µl y 350 µl muestras de sangre de donantes sanos utilizando el procedimiento EZ1 DSP DNA Blood en el EZ1 Advanced XL con tres volúmenes de elución distintos (figura 4).

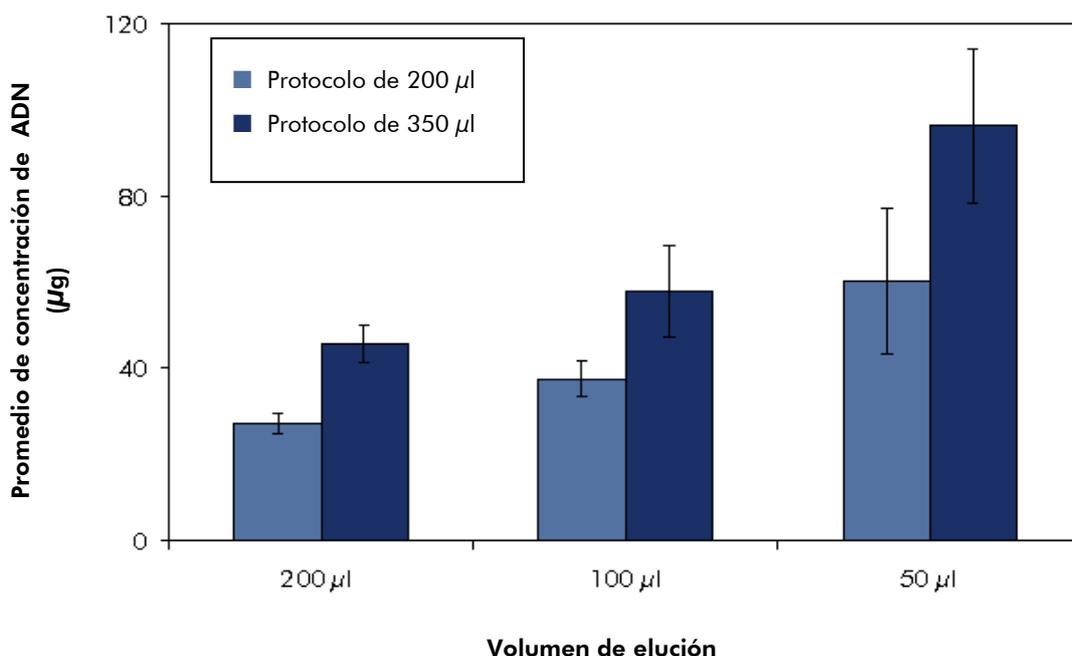


Figura 4. Concentración media de ADN obtenida con distintos volúmenes de elución.

La sangre entera se extrajo de 3 donantes. El ADN genómico se purificó a partir de 200 µl y 350 µl de cada muestra y se eluyó en 200 µl, 100 µl y 50 µl, cada uno en triplicado, utilizando el sistema EZ1 DSP DNA Blood en el EZ1 Advanced XL. La concentración media de ADN se refiere a cada protocolo y volumen de elución.

i Debido al bajo volumen de elución y al calentamiento del tampón de elución durante el proceso, la elución con 50 µl puede hacer que se obtenga un volumen final del eluado inferior a 50 µl.

Eluir ADN genómico puro

El ADN genómico se eluye en un tampón de elución de baja cantidad de sal. El ADN eluido está listo para utilizarse en ensayos de diagnóstico de biología molecular *in vitro*, tales como kits *artus*[®] PCR con marcado CE-IVD.

La sangre total se extrajo a partir de 30 donantes de sangre elegidos al azar, y el ADN se purificó a partir de muestras de 350 µl y eluyó en 200 µl utilizando el sistema EZ1 DSP DNA Blood. Los kits *artus* MTHFR LC PCR y *artus* TPMT LC PCR se utilizaron para determinar las variantes genéticas clínicamente relevantes de los genes metilenotetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y tiopurina S-metiltransferasa (TPMT). Las muestras se analizaron en un LightCycler[®]. Los datos se presentan en las tablas 2 y 3 (comienzo en la página 16 y 20), con distribución de porcentajes y análisis de curvas de fusión del gen MTHFR ilustrado en las figuras 5 y 6 (páginas 19 y 20).

Tabla 2. Polimorfismos en el nucleótido 667 y el nucleótido 1298 del gen MTHFR utilizando el *artus MTHFR LC PCR Kit*

Número de muestra	Nucleótido 677	Nucleótido 1298	Genotipo
1	var heterocigótica	wt homocigótico	wt677/var677 wt1298/wt1298
2	wt homocigótico	wt homocigótico	wt677/wt677 wt1298/wt1298
3	wt homocigótico	var heterocigótica	wt677/wt677 wt1298/var1298
4	var homocigótica	wt homocigótico	var677/var677 wt1298/wt1298
5	wt homocigótico	var heterocigótica	wt677/wt677 wt1298/var1298
6	wt homocigótico	var heterocigótica	wt677/wt677 wt1298/var1298
7	var heterocigótica	wt homocigótico	wt677/var677 wt1298/wt1298
8	wt homocigótico	wt homocigótico	wt677/wt677 wt1298/wt1298
9	wt homocigótico	var heterocigótica	wt677/wt677 wt1298/var1298
10	var heterocigótica	var heterocigótica	wt677/var677 wt1298/var1298
11	wt homocigótico	var heterocigótica	wt677/wt677 wt1298/var1298
12	wt homocigótico	wt homocigótico	wt677/wt677 wt1298/wt1298

var: Alelo variante en la posición indicada del gen MTHFR.

wt: Alelo natural en la posición indicada del gen MTHFR.

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 2. Continuación

Número de muestra	Nucleótido 677	Nucleótido 1298	Genotipo
13	wt homocigótico	wt homocigótico	wt677/wt677 wt1298/wt1298
14	var heterocigótica	wt homocigótico	wt677/var677 wt1298/wt1298
15	var heterocigótica	wt homocigótico	wt677/var677 wt1298/wt1298
16	wt homocigótico	var heterocigótica	wt677/wt677 wt1298/var1298
17	var homocigótica	wt homocigótico	var677/var677 wt1298/wt1298
18	var heterocigótica	wt homocigótico	wt677/var677 wt1298/wt1298
19	wt homocigótico	var heterocigótica	wt677/wt677 wt1298/var1298
20	wt homocigótico	var heterocigótica	wt677/wt677 wt1298/var1298
21	wt homocigótico	var homocigótica	wt677/wt677 var1298/var1298
22	var heterocigótica	wt homocigótico	wt677/var677 wt1298/wt1298
23	var heterocigótica	var heterocigótica	wt677/var677 wt1298/var1298
24	var heterocigótica	wt homocigótico	wt677/var677 wt1298/wt1298
25	wt homocigótico	var heterocigótica	wt677/wt677 wt1298/var1298

var: Alelo variante en la posición indicada del gen MTHFR.

wt: Alelo natural en la posición indicada del gen MTHFR.

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 2. Continuación

Número de muestra	Nucleótido 677	Nucleótido 1298	Genotipo
26	wt homocigótico	var homocigótica	wt677/wt677 var1298/var1298
27	wt homocigótico	var heterocigótica	wt677/wt677 wt1298/var1298
28	var heterocigótica	var heterocigótica	wt677/var677 wt1298/var1298
29	var heterocigótica	wt homocigótico	wt677/var677 wt1298/wt1298
30	var homocigótica	wt homocigótico	var677/var677 wt1298/wt1298

var: Alelo variante en la posición indicada del gen MTHFR.

wt: Alelo natural en la posición indicada del gen MTHFR.

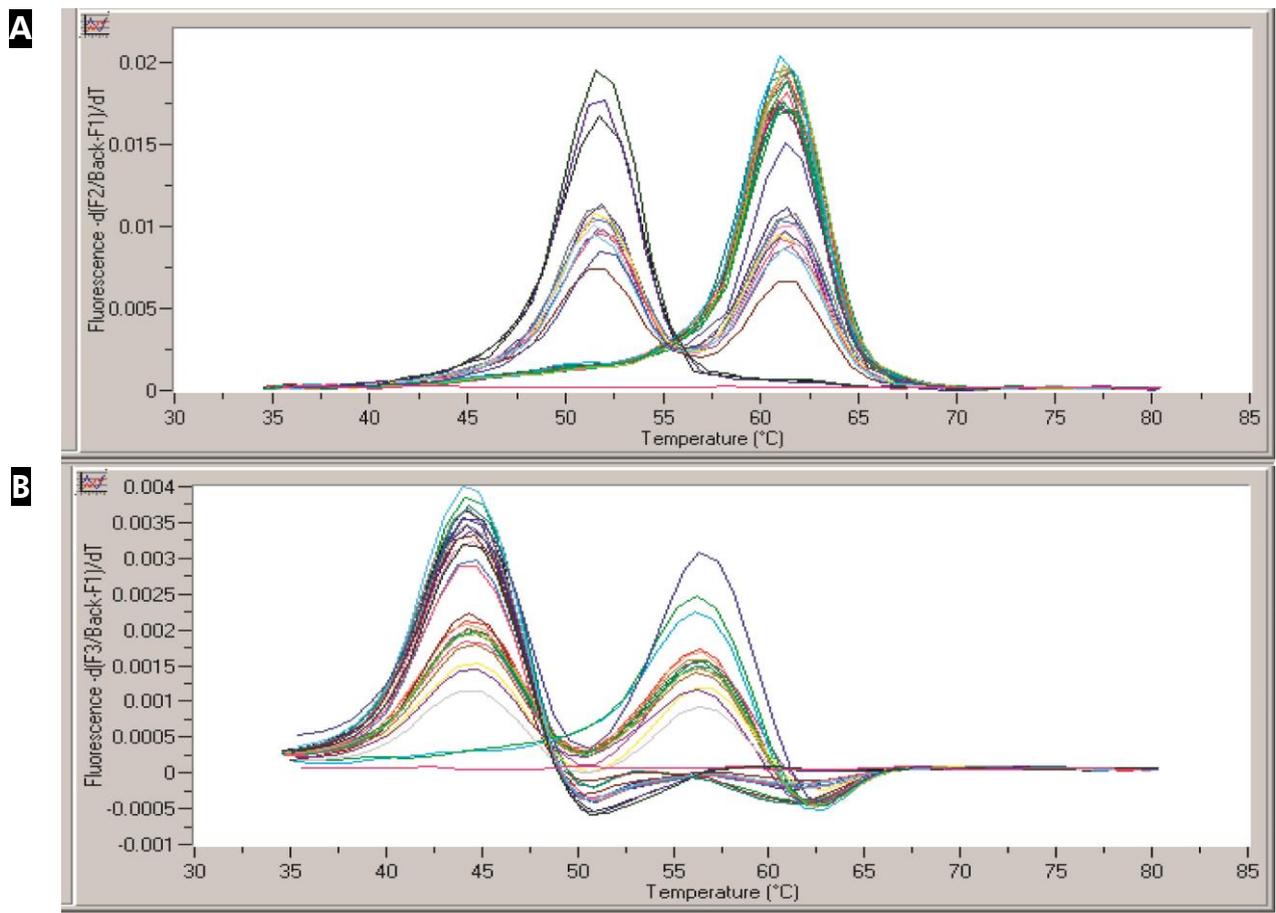


Figura 5. Análisis de curva de fusión de productos de amplificación en los nucleótidos 677 y 1298 del gen MTHFR. El ADN fue purificado de sangre total de 30 donantes utilizando el sistema EZ1 DSP DNA Blood. Las eluciones se analizaron utilizando el kit *artus* PCR con licencia CE-IVD con análisis de curva de fusión en el LightCycler. **A** Análisis en el nucleótido 677. **B** Análisis en el nucleótido 1298.

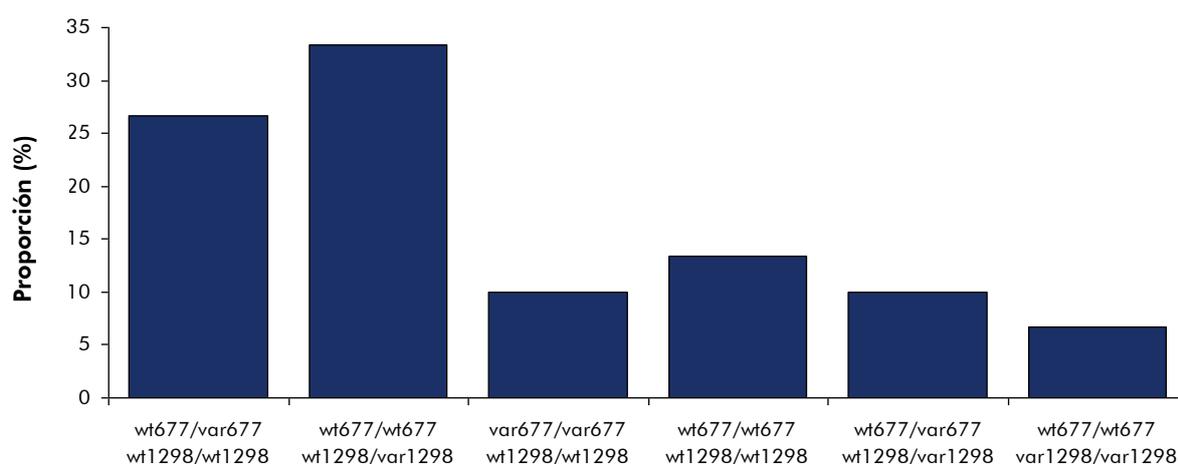


Figura 6. Distribución de genotipos detectados para el gen MTHFR. Los datos de la Tabla 2 y la figura 5 se resumen gráficamente por proporción de cada genotipo detectado.

Tabla 3. Polimorfismos del gen TPMT detectados utilizando el kit *artus* TPMT LC PCR

Número de muestra	Genotipo 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 o TPMT*3C/*3B
7	TPMT*1/*1
8	TPMT*1/*3A o TPMT*3C/*3B
9	TPMT*1/*1
10	TPMT*1/*3A o TPMT*3C/*3B
11	TPMT*1/*1
12	TPMT*1/*1

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 3. Continuación

Número de muestra	Genotipo TPMT
13	TPMT*1/*1
14	TPMT*1/*1
15	TPMT*1/*1
16	TPMT*1/*1
17	TPMT*1/*3A o 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

Prueba de inhibición

Se han determinado los efectos de aumento de eluato utilizado en la PCR en el rendimiento de la misma (figura 7).

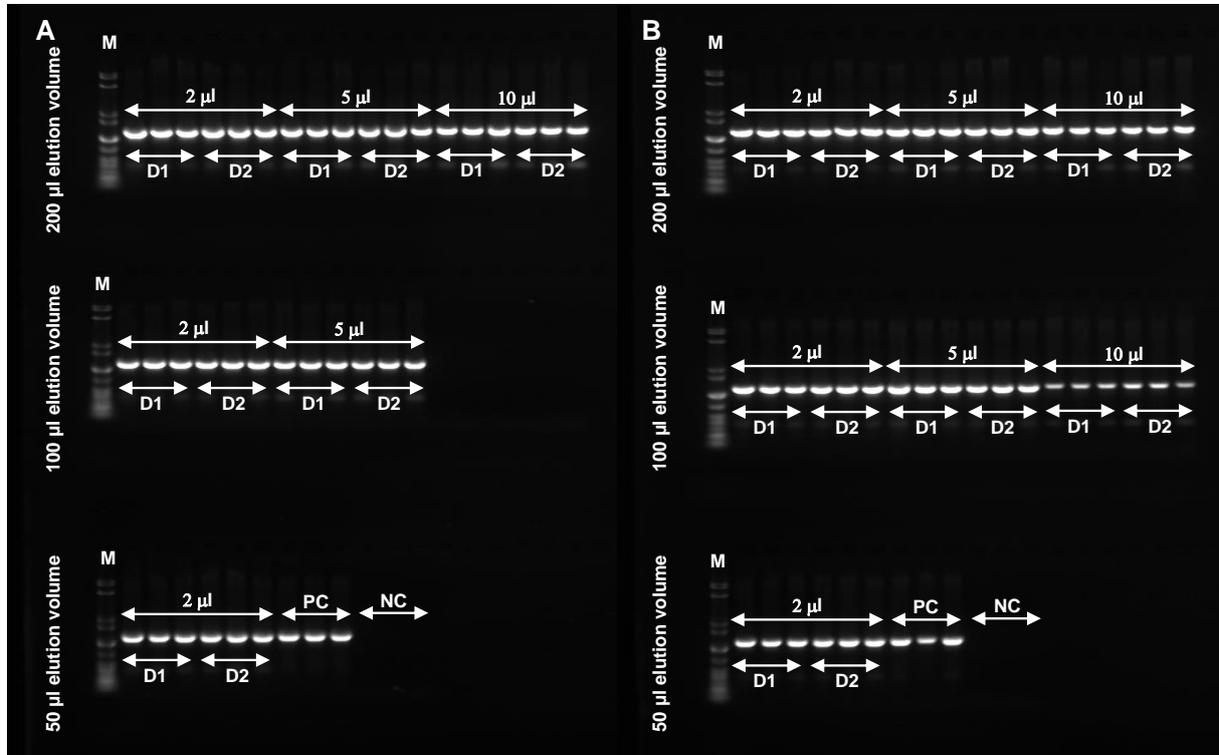


Figura 7. Efectos del volumen de eluato utilizado en la PCR sobre el rendimiento de la PCR. La sangre se extrajo de dos donantes sanos (**D1**, **D2**) en tubos BD K2E. El ADN genómico fue purificado de alícuotas de 350 μ l (**A**) y 200 μ l (**B**) en triplicado utilizando el sistema EZ1 DSP DNA Blood. El ADN se eluyó en 200 μ l, 100 μ l o 50 μ l (**volumen de elución**). La cantidad indicada de eluato se utilizó en 50 μ l de reacción de PCR con cebadores para un fragmento de 1100 bp de un gen humano de copia única. **PC**: Control positivo. **NC**: Control Negativo. **M**: Marcador (*Low DNA mass ladder*). (Tenga en cuenta que el hecho de utilizar grandes cantidades de elevadas concentraciones de ADN pueden sobrecargar la PCR, tal como muestran, por ejemplo, las bandas más finas cuando se utilizan 10 μ l de una elución de 100 μ l en la PCR.)

Análisis de precisión

Se compararon las obtenciones de ADN a partir de 350 μ l de sangre humana total para ejecuciones diferentes en el sistema EZ1 DSP DNA Blood en el EZ1 Advanced y el EZ1 Advanced XL. Los datos de precisión entre ejecuciones se muestran como desviaciones estándares de las obtenciones de ADN (figura 8).

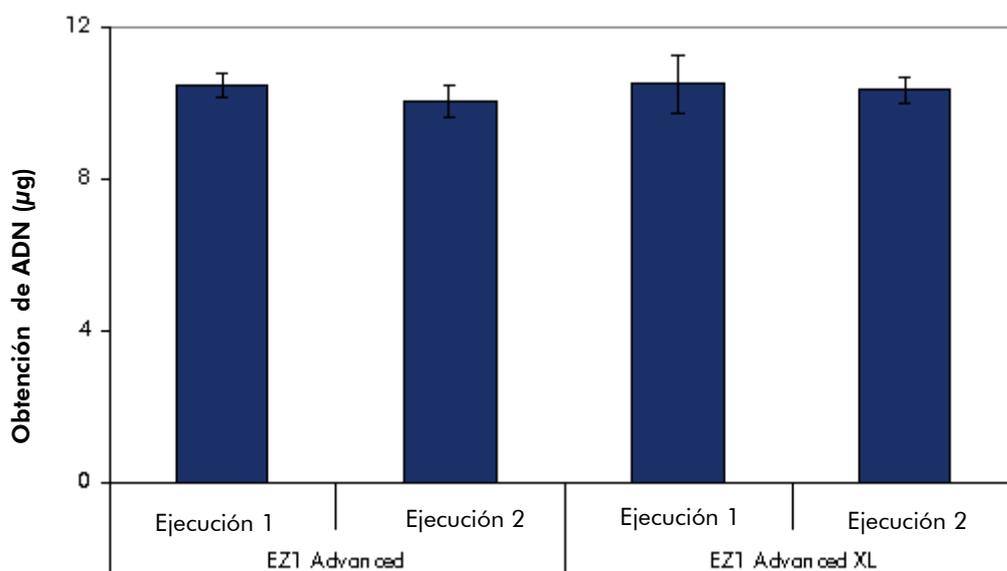


Figura 8. Datos de precisión de intra-ejecución e inter-ejecución utilizando el sistema EZ1 DSP DNA Blood. La sangre se extrajo de un donante sano en tubos BD K2E y se mezcló antes de usarse. El ADN genómico fue purificado de doce alícuotas de 350 µl en 2 ejecuciones (**Ejecución 1**, **Ejecución 2**) de 6 repeticiones, cada una utilizando el EZ1 Advanced, y de veintiocho alícuotas de 350 µl en 2 ejecuciones (**Ejecución 1**, **Ejecución 2**) de 14 repeticiones, cada una de ellas en el EZ1 Advanced XL utilizando el sistema EZ1 DSP DNA Blood. Se muestra el promedio total de obtención de ADN y desviación estándar para cada ejecución. Los valores de precisión intra-ejecución fueron de 2,90% (Ejecución 1, EZ1 Advanced), 3,80% (Ejecución 2, EZ1 Advanced), 7,17% (Ejecución 1, EZ1 Advanced XL) y 3,45% (Ejecución 2, EZ1 Advanced XL), y la precisión total fue de 5,17%.

Estabilidad del eluato

Se ha demostrado la estabilidad del eluato de ADN genómico durante 24 meses si se almacena a 5°C y de 36 meses si se almacena a -20 °C o -80 °C.

Exclusión de transferencia entre muestras

Se efectuaron doce ejecuciones en el EZ1 Advanced (con la tarjeta de protocolo V2.0; 350 µl de entrada, 200 µl de elución) y nueve ejecuciones en el EZ1 Advanced XL (200 µl de entrada, 200 µl de elución) utilizando el sistema EZ1 DSP DNA Blood para evaluar el riesgo de contaminación cruzada durante y entre los procedimientos del EZ1 DSP DNA Blood. Para detectar transferencia entre muestras, las ejecuciones se efectuaron con muestras de sangre masculinas (positivas) y femeninas (negativas) en posiciones alternas, como se muestra en las tablas 4 y 5. Cada tercera ejecución se realizó únicamente utilizando muestras de sangre femeninas. En todos los eluatos se analizó la amplificación de un fragmento de 78 bp del gen SRY de copia única específico del cromosoma Y, para lo cual se utilizó el kit QuantiTect® Probe PCR.

Tabla 4. Preparación de la prueba de contaminación cruzada en el EZ1 Advanced y valores C_T para muestras positivas (masculinas)

Ejecución	Posición					
	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	W	23,42
12	F	F	F	W	W	F

F: Muestras femeninas (negativas).

Números: Valores C_T para muestras masculinas (positivas).

Tabla 1. Preparación de la prueba de contaminación cruzada y valores C_T values para muestras negativas (masculinas)

Ejecución	Posición						
	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
Posición							
	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: Muestras femeninas (negativas).

Números: Valores C_T para muestras masculinas (positivas).

Todas las muestras de sangre masculinas dieron resultado positivo en la PCR (los valores C_T aparecen en las tablas 4 y 5) y todas las muestras de sangre femeninas dieron resultado negativo. Estos experimentos demuestran que el

procedimiento del EZ1 DSP DNA Blood no ofrece transferencia entre muestras en estas condiciones.

Equipos y reactivos que debe suministrar el usuario

Cuando vaya a trabajar con productos químicos, póngase siempre una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (SDS, safety data sheets) correspondientes que el proveedor del producto pone a su disposición.

Todos los protocolos

- Pipetas* y puntas de pipeta estériles, libres de ribonucleasas
- Papel tisú suave
- Agua
- Etanol al 70%
- Opcional: bloque térmico con agitador* (en el caso de que los cartuchos de reactivos [RCB] contengan precipitados en el fondo de los pozos)
- Opcional: Microcentrífuga* (en el caso de ser necesaria la separación de las partículas magnéticas de los eluatos)

Para usuarios del BioRobot EZ1

- BioRobot EZ1 DSP (discontinuado)
- Tarjeta EZ1 DSP DNA Blood Card (ref. 9017713)

Para usuarios del EZ1 Advanced

- EZ1 Advanced* (discontinuado)
- Tarjeta EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (ref. 9018305)

Para usuarios del EZ1 Advanced XL

- EZ1 Advanced XL* (ref. 9001492)
- Tarjeta EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card (ref. 9018702)

Para usuarios del EZ1 Advanced XL

- Para realizar el seguimiento de las muestras se requiere al menos uno de los siguientes:
 - PC (incluido monitor); QIAGEN PC, ref. 9016310, y monitor, ref. 9016308, o su propio PC y monitor) con el EZ1 Advanced

* Asegúrese de que los instrumentos hayan sido revisados y calibrados periódicamente según las recomendaciones del fabricante.

Communicator Software (software suministrado con el EZ1 Advanced y EZ1 Advanced XL)

- Impresora (ref. 9018464) y paquete de accesorios para la impresora (ref. 9018465)
- Opcional: Etanol al 80%* y 2 ml de tubos con tapón a rosca (si se realizan los pasos de lavado opcionales con etanol al 80% en el EZ1 Advanced utilizando la tarjeta de protocolo V2.0 o en el EZ1 Advanced XL, véase “Puntos importantes antes de empezar”, páginas 36 y 39).

* No utilice alcohol desnaturalizado, que contiene otras sustancias tales como metanol o metiletilcetona.

Notas importantes

Almacenamiento de muestras de sangre

Se pueden utilizar muestras de sangre total en EDTA, ACD o heparina*, y pueden ser recién extraídas o congeladas. Antes de comenzar el procedimiento, las muestras congeladas deben descongelarse a temperatura ambiente (15–25 °C) con agitación suave. La obtención y calidad del ADN purificado depende de las condiciones de almacenamiento de la sangre. Se obtienen mejores resultados con muestras que hayan sido extraídas recientemente.

- Para uso a corto plazo (hasta 10 días), recoja la sangre en tubos que contengan EDTA como anticoagulante y almacene los tubos a 2–8 °C. Sin embargo, para aplicaciones que requieran un tamaño de fragmento máximo, como en el caso de Southern blotting, recomendamos almacenar a 2–8 °C hasta como máximo 3 días, ya que se produce un pequeño nivel de degradación de ADN transcurrido este tiempo.
- Para almacenaje a largo plazo, recoja la sangre en tubos que contengan un anticoagulante estándar (preferiblemente EDTA, si se requiere ADN de alto peso molecular), y almacene los tubos a –70 °C.
- No utilice sangre que muestre señales de coagulación.

Precipitado en el cartucho de reactivos (RCB)

El tampón en el pozo 1 del cartucho de reactivos (RCB) (el pozo que esté más cercano a la parte delantera del EZ1 cuando el cartucho de reactivos [RCB] esté cargado) puede formar un precipitado al almacenarse. Equilibre el cartucho de reactivos a temperatura ambiente (15–25 °C) antes de usarlo. De ser necesario, disuelva nuevamente por agitación suave a 30–40 °C.

Trabajar con instrumentos EZ1

Las características principales de los instrumentos EZ1 incluyen:

- Purificación de ácidos nucleicos de alta calidad de 1–6 o 1–14 muestras por ejecución
- Tamaño reducido, lo cual ahorra espacio en el laboratorio

* Cuando vaya a trabajar con productos químicos, póngase siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (SDS, safety data sheets) correspondientes que el proveedor del producto pone a su disposición.

- Tarjetas EZ1 DSP preprogramadas que contienen protocolos listos para usar
- Cartuchos de reactivos sellados y precargados (RCB) para una preparación rápida, segura y fácil
- Automatización completa de la purificación de ácidos nucleicos

Entre las características adicionales del EZ1 Advanced y EZ1 Advanced XL se incluyen:

- Lectura de código de barras y seguimiento de muestras
- Seguimiento de datos del kit mediante la tarjeta Q-Card suministrada en el kit
- Lámpara de rayos ultravioletas para ayudar a eliminar la transferencia entre muestras y permitir la descontaminación

i La descontaminación por rayos ultravioletas ayuda a reducir la posible contaminación de la superficie del EZ1 Advanced y del EZ1 Advanced XL. La eficiencia de la inactivación debe ser determinada para cada organismo y depende, por ejemplo, del grosor de la capa de muestra y del tipo de esta. QIAGEN no puede garantizar la completa eliminación de patógenos específicos.

Tarjetas EZ1

El protocolo EZ1 DSP DNA Blood se encuentra almacenado en las tarjetas EZ1 preprogramadas (tarjetas de circuito integrado). Basta con que el usuario introduzca la tarjeta EZ1 en el instrumento EZ1 correspondiente, y este estará listo para ejecutar un protocolo (figuras 9 y 10).



Figura 9. Fácil instalación de protocolos utilizando tarjetas EZ1 DSP Cards. Así se introduce en el EZ1 una tarjeta EZ1 Card, que contiene el protocolo.

ⓘ El instrumento solo debe encenderse después de que se haya introducido una tarjeta EZ1 Card. Asegúrese de que la tarjeta EZ1 Card esté insertada completamente. De lo contrario, se podrían perder datos esenciales del instrumento, provocando un error de memoria. Las tarjetas EZ1 Cards no deben ser cambiarse mientras el instrumento esté encendido.



Figura 10. Tarjeta EZ1 Card completamente introducida en el instrumento.

Cartuchos de reactivos (RCB)

Los reactivos para la purificación de ácidos nucleicos de una muestra están contenidos en un único cartucho de reactivos (RCB) (figura 11, página 32). Cada pocillo del cartucho (RCB) contiene un reactivo específico, tales como partículas magnéticas, tampón de lisis, tampón de lavado o tampón de elución (AVE). Como cada pocillo solo contiene la cantidad requerida de reactivo, se evita la generación de desperdicio adicional debido a reactivo sobrante al final del procedimiento de purificación.

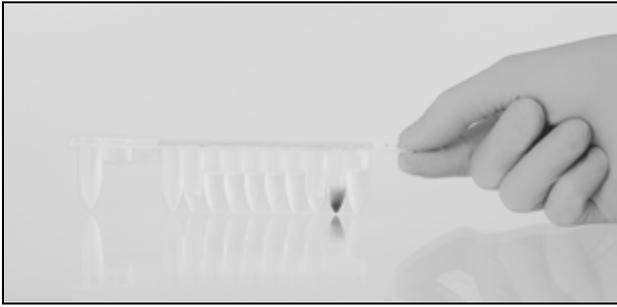
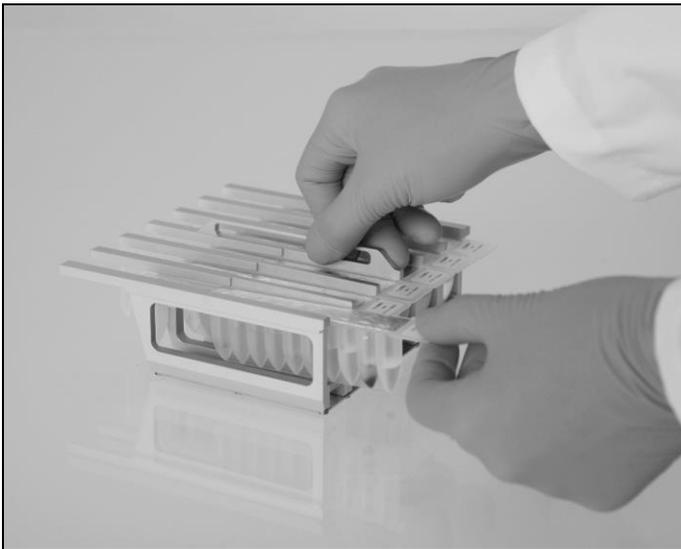
A**B**

Figura 11. Fácil instalación del instrumento utilizando cartuchos de reactivos (RCB). **A**

Un cartucho de reactivos (RCB) sellado, precargado. **B** Cargando cartuchos de reactivos (RCB) en el bastidor de cartuchos. El bastidor de cartuchos en sí está etiquetado con una flecha para indicar la dirección en la que los cartuchos de reactivos (RCB) deben cargarse.

Mesa de trabajo

La mesa de trabajo del EZ1 es donde el usuario carga las muestras y los componentes del kit EZ1 DSP DNA Blood (figura 12, página 33).

Los detalles sobre la instalación de la mesa de trabajo se muestran en la pantalla (VFD, *vacuum fluorescent display*) del EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL en la pantalla de cristal líquido LCD (*liquid-crystal display*) del panel de control del BioRobot EZ1 DSP cuando el usuario inicia la instalación de la mesa de trabajo.

La pantalla LCD también muestra el estado del protocolo durante el procedimiento automatizado de purificación.

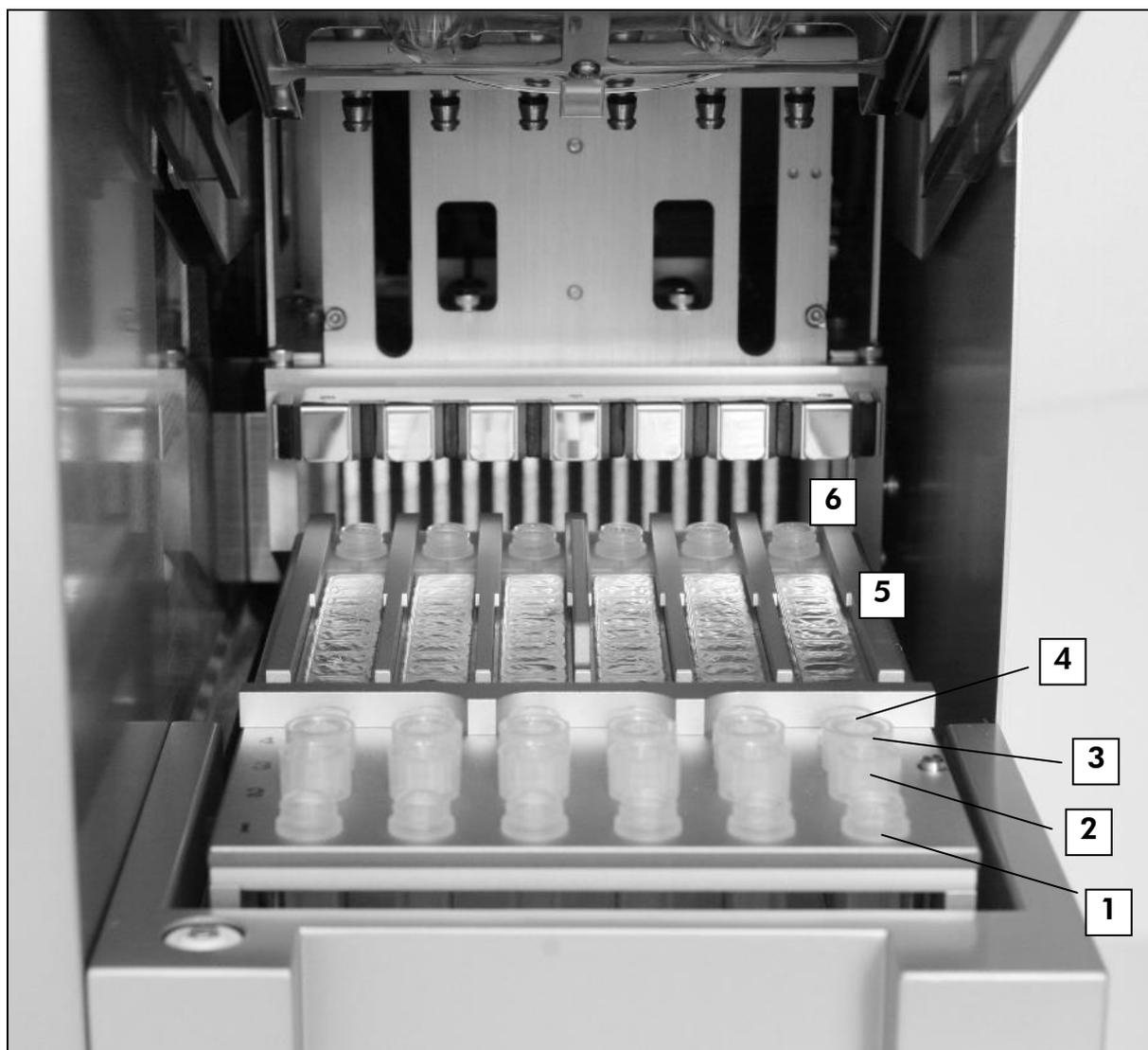


Figura 12. Mesa de trabajo de un instrumento EZ1.

1. Los tubos de elución (ET) (1,5 ml) se cargan en la primera fila.
2. Los soportes de puntas desechables (DTH) con puntas con filtro desechables (DFT) se cargan en la segunda fila.
3. La tercera fila está vacía para el protocolo EZ1 DSP DNA Blood. (Opcional: Si se realizan los pasos de lavado opcionales con etanol al 80%, los tubos de 2 ml que contienen 1800 μ l cada uno de etanol al 80% se cargan en esta fila.)
4. Los tubos de muestra (ST) (2 ml) se cargan en la cuarta fila.
5. Los cartuchos de reactivos (RCB) se cargan en el bastidor de cartuchos.
6. El bloque térmico está vacío para el protocolo EZ1 DSP DNA Blood.

Seguimiento de datos con el EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL

El EZ1 Advanced y el EZ1 Advanced XL permiten realizar un seguimiento completo de una serie de datos para aumentar el control y la fiabilidad del proceso. El número de lote del kit EZ1 y las fechas de caducidad se introducen al comienzo del protocolo utilizando para ello el código de barras de la tarjeta

Q-Card. Una identificación de usuario y el código de barras de la Q-Card se pueden introducir manualmente a través del teclado numérico o escaneando códigos de barras utilizando el lector de códigos de barras manual. La información sobre la muestra y el ensayo también se puede introducir a modo opcional al comienzo del protocolo. Al final de que se ejecute el protocolo, se genera automáticamente un archivo de informe. El EZ1 Advanced y el EZ1 Advanced XL pueden almacenar hasta 10 archivos de resultados, y los datos se pueden transferir a un PC o imprimir directamente en una impresora (para consultar la información para pedidos, véase “Equipos y reactivos que debe suministrar el usuario” en la página 27).

Para recibir los informes en un PC, es precisa la instalación del EZ1 software Advanced Communicator. Dicho software recibe el informe y lo guarda en la carpeta que usted elija. Una vez guardado el archivo del informe, el PC podrá usarlo y procesarlo con un programa de procesamiento de datos de laboratorio (LIMS, *Laboratory Information Management System*), así como con otros programas. En el Apéndice D aparece un ejemplo de informe (página 81). En los informes, los 6 canales de pipeteo del EZ1 Advanced están nombrados de izquierda a derecha, de la A a la F; por su parte, los 14 canales de pipeteo del EZ1 Advanced XL están nombrados del 1 al 14, yendo de izquierda a derecha.

Al escanear una identificación de usuario o un código de barras de la tarjeta Q-Card con el lector de códigos de barras, oirá un pitido que confirma que los datos se han introducido. Después de que se visualice la información durante dos segundos, esta se almacena automáticamente. A continuación, aparecerá en pantalla el siguiente mensaje. Al escanear la identificación de una muestra, la identificación del kit o notas, oirá un pitido que confirma la entrada de datos, la información se mostrará en la pantalla y aparecerá un mensaje que le pedirá que introduzca la siguiente muestra. Después de escanear la identificación de la muestra, la identificación del kit y notas, pulse “ENT” una vez para confirmar que la información indicada es correcta. En caso de escanear un código de barras incorrecto para una de las muestras, pulse “ESC” y vuelva a escanear los códigos de barras de todas las muestras siguiendo las instrucciones que aparecen en la pantalla. Para identificaciones de usuario y notas, puede introducir los números utilizando el teclado o generar sus propios códigos de barras para dichos números.

 Para el seguimiento de datos, empiece siempre a cargar las muestras en la posición A del EZ1 Advanced y en la posición 1 del EZ1 Advanced XL. A continuación, vaya colocando el resto de muestras una detrás de otra las siguientes posiciones abiertas de la mesa de trabajo.

Para obtener información detallada sobre cómo se realiza el seguimiento de datos con el software EZ1 Advanced Communicator, véase el *Manual de usuario del EZ1 Advanced* o el *Manual de usuario del EZ1 Advanced XL*.

Esquema de trabajo del EZ1 DSP DNA Blood

Introduzca la tarjeta EZ1 DSP DNA Blood Card en la ranura del instrumento



Encienda el EZ1



Siga los mensajes en pantalla para el seguimiento de datos*



Siga los mensajes en pantalla para la instalación de la mesa de trabajo



Inicie el protocolo



Recogida del ADN purificado



Descontaminación con rayos UV*

* Solo en el EZ1 Advanced y EZ1 Advanced XL.

Protocolo: Purificación de ADN genómico a partir de sangre total utilizando el EZ1 Advanced XL

Puntos importantes antes de empezar

- En caso de utilizar el kit EZ1 DSP DNA Blood por primera vez, lea el capítulo “Notas importantes” (página 29).
- Los cartuchos de reactivos (RCB) contienen sales de guanidina y, por tanto, no son compatibles con desinfectantes que contengan lejía. Tome las medidas de seguridad apropiadas y utilice guantes al manipularlos. Consulte la página **Fehler! Textmarke nicht definiert.** para ver la información de seguridad.
- Todos los pasos del protocolo deben realizarse a temperatura ambiente (15–25 °C). Durante el procedimiento de instalación, trabaje con rapidez.
- Después de recibir el kit, revise si hay daños en los componentes de éste. Si los cartuchos de reactivos (RCB) u otros componentes del kit están dañados, contacte con los Servicios Técnicos QIAGEN o con su distribuidor local. En caso de derrame de líquido, consulte el capítulo “**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**” (página **Fehler! Textmarke nicht definiert.**). No utilice los cartuchos de reactivos (RCB) u otros componentes del kit que estén dañados ya que su uso puede llevar a un pobre rendimiento del kit.
- La cantidad de ADN genómico depende del número de leucocitos en la muestra.

Cosas que hacer antes de comenzar

- El tampón de lisis en el cartucho de reactivos (RCB) puede formar un precipitado al almacenarse. Equilibre el cartucho de reactivos (RCB) a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de usarlo. De ser necesario, redisuelva calentándolo a 30–40 °C y luego coloque a temperatura ambiente.
- El protocolo incluye una opción para realizar lavados con etanol al 80% en lugar del tampón suministrado en el cartucho de reactivos. Esto puede ofrecer ventajas para algunas aplicaciones posteriores. Si se selecciona esta opción, se deberán colocar en la fila 3 de la mesa de trabajo (véase figura 12, página 33) tubos de 2 ml con 1800 µl cada uno de etanol al 80%. Para preparar etanol al 80% suficiente para 14 muestras, añada 6 ml de agua libre de nucleasas a 24 ml de etanol al 100%.* Siga las instrucciones de los mensajes que aparecen en pantalla.

* No utilice alcohol desnaturalizado, que contiene otras sustancias tales como metanol o metiletilcetona.

Procedimiento

1. Equilibre hasta 14 muestras de sangre total a temperatura ambiente.

 Asegúrese de que las muestras que hayan sido congeladas están completamente descongeladas y equilibradas a la temperatura ambiente durante un tiempo suficiente. Si las muestras se han almacenado a 2–8 °C, también deben equilibrarse a la temperatura ambiente. La temperatura de todas las muestras debería ser de 15–25 °C antes de comenzar el procedimiento para asegurar la pureza y obtención óptima de ADN.

2. Introduzca la tarjeta EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card completamente en la ranura EZ1 Advanced XL.

3. Encienda el instrumento EZ1.

El interruptor de encendido está ubicado en la parte izquierda posterior del instrumento.

4. Pulse "START" (inicio) para iniciar el protocolo y la instalación de la mesa de trabajo para el protocolo del EZ1 DSP DNA Blood.

5. Siga las instrucciones que aparecen en pantalla para la instalación de la mesa de trabajo, la selección de las variables del protocolo y el seguimiento de datos.

6. Pulse "1" o "2" para iniciar la instalación de la mesa de trabajo para el protocolo DSP de 200 µl y de 300 µl, respectivamente.

7. Escoja el volumen de elución; pulse "1" para eluir en 50 µl; "2" para eluir en 100 µl; "3" para eluir en 200 µl.

8. Elija si desea realizar los lavados opcionales de etanol al 80%.

El texto resume los siguientes pasos, que describen el proceso de carga de la mesa de trabajo.

9. Abra la puerta del instrumento.

10. Invierta los cartuchos de reactivos (RCB) del 1 al 14 4 veces para mezclar las partículas magnéticas. A continuación, golpee suavemente los cartuchos (RCB) para depositar los reactivos al fondo de los pocillos.

11. Cargue los cartuchos de reactivos en el bastidor de cartuchos.

 Después de deslizar un cartucho de reactivos (RCB) en el bastidor de cartuchos, presione hacia abajo sobre el cartucho hasta que haga clic y quede insertado.

i Para el seguimiento de datos, empiece siempre a cargar las muestras en la posición 1 del EZ1 Advanced. A continuación, vaya colocando el resto de muestras una detrás de otra en las siguientes posiciones abiertas de la mesa de trabajo.

Cuando use la opción de seguimiento de muestras, asegúrese de que los códigos de identificación de muestras sigan el mismo orden que las muestras colocadas en la mesa de trabajo para evitar la identificación errónea de las muestras.

12. Siga las instrucciones que aparecen en pantalla para continuar con la instalación de la mesa de trabajo.

13. Cierre la puerta del instrumento.

14. Pulse “START” para iniciar el protocolo.

15. Cuando el protocolo termine, aparecerá en pantalla el mensaje “Protocol finished” (Protocolo finalizado). Pulse “ENT” para generar el informe.

El EZ1 Advanced puede almacenar hasta 10 informes. Los informes pueden imprimirse directamente o se pueden transferir a un ordenador.

16. Abra la puerta del instrumento.

17. Retire de la primera fila los tubos de elución que contienen el ADN purificado. Elimine los desechos de la preparación de muestras*.

18. Opcional: Siga las instrucciones mostradas en pantalla para realizar la descontaminación con rayos UV de la superficie de la mesa de trabajo.

19. Lleve a cabo el procedimiento de mantenimiento rutinario descrito en el manual de uso suministrado con el instrumento EZ1.

El procedimiento de mantenimiento rutinario se debe realizar al final de cada protocolo. Este consiste en limpiar la unidad de perforación y la superficie de la mesa de trabajo.

i ¡La unidad de perforado está afilada! Recomendamos ponerse doble guante.

20. Para iniciar un nuevo protocolo, pulse “START”, lleve a cabo los pasos 1 y 2 del protocolo, y continúe con el protocolo a partir del paso 5. En caso de no iniciar un nuevo protocolo, pulse “STOP” dos veces para volver a la pantalla inicial, cierre la puerta del instrumento y apague el EZ1.

Los pasos 3–4 no son necesarios para ejecutar un nuevo protocolo. Ignórelos.

* Los desechos de la preparación de muestras contienen sales de guanidina y son incompatibles con lejía. Vaya a la página 7 para consultar la información de seguridad.

Protocol: Purificación de ADN genómico a partir de sangre total utilizando el EZ1 Advanced (con la tarjeta V2.0)

Este protocolo se utilizará con la tarjeta EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card V2.0, una versión actualizada de la tarjeta V1.0 original. Al utilizar la tarjeta V1.0, siga “Protocolo: Purificación de ADN genómico a partir de sangre total utilizando el EZ1 Advanced (con la tarjeta V1.0)”, página 43.

El protocolo de la tarjeta V2.0 incluye todas las opciones adicionales que permiten utilizar distintos volúmenes de elución y de entrada de muestras, así como pasos de lavado opcionales con etanol al 80%. El protocolo de la tarjeta V2.0 es equivalente a la tarjeta original V1.0 cuando se utilizan los volúmenes originales de entrada y elución, así como tampones de lavado.

Puntos importantes antes de empezar

- Si va a utilizar por primera vez el kit EZ1 DSP DNA Blood, lea el capítulo “Notas importantes” en la página 29.
- Los cartuchos de reactivos (RCB) contienen sales de guanidina y, por tanto, no son compatibles con desinfectantes que contienen lejía. Tome las medidas de seguridad apropiadas y utilice guantes al manipularlos. Vaya a la página **Fehler! Textmarke nicht definiert.** para consultar la información sobre seguridad.
- Todos los pasos del protocolo deben realizarse a temperatura ambiente (15–25 °C). Durante el procedimiento de instalación, trabaje con rapidez.
- Después de recibir el kit, revise si los componentes presentan daños. Si los cartuchos de reactivos (RCB) u otros componentes del kit están dañados, póngase en contacto con el Servicio Técnico QIAGEN o con su distribuidor local. En caso de que se derrame líquido, consulte el capítulo “Advertencias y precauciones” (página **Fehler! Textmarke nicht definiert.**). No utilice cartuchos de reactivos (RCB) ni componentes que estén dañados, ya que esto podría perjudicar los resultados.
- La obtención de ADN genómico depende del número de glóbulos blancos que haya en la muestra.

Cosas que hacer antes de comenzar

- El tampón de lisis del cartucho de reactivos (RCB) puede formar un precipitado al ser almacenado. Equilibre el cartucho de reactivos a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de usarlo. Si es necesario, vuelva a disolverlo calentándolo a 30–40 °C y déjelo a continuación a temperatura ambiente.

- El protocolo incluye una opción para realizar lavados con etanol al 80% en lugar de con el tampón suministrado en el cartucho de reactivos. Esto puede ser una ventaja para algunas aplicaciones posteriores. Si se selecciona esta opción, habrá que colocar en la fila 3 de la mesa de trabajo tubos de 2 ml con 1800 μ l de etanol al 80% cada uno (véase la figura 12, página 33). Para preparar etanol al 80% suficiente para 6 muestras, añada 3 ml de agua libre de nucleasas a 12 ml de etanol al 100%. Siga las instrucciones de los mensajes que aparecen en pantalla.

Procedimiento

1. Equilibre hasta 6 muestras de sangre total a temperatura ambiente.

 Asegúrese de que las muestras congeladas se hayan descongelado completamente y equilibrado a temperatura ambiente durante suficiente tiempo. Si las muestras se han almacenado a 2–8 °C, también se deberán equilibrar a temperatura ambiente. La temperatura de todas las muestras deberá ser de 15–25 °C antes de comenzar con el proceso para garantizar una obtención y una pureza del ADN óptimas.

2. Introduzca la tarjeta EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (V2.0) completamente en la correspondiente ranura del EZ1 Advanced.

3. Encienda el EZ1.

El interruptor de encendido está ubicado en la parte posterior del instrumento.

4. Pulse "START" (Inicio) para iniciar el protocolo y la instalación de la mesa de trabajo para el protocolo del EZ1 DSP DNA Blood.

5. Siga las instrucciones en pantalla para la instalación de la mesa de trabajo, la selección de variables del protocolo y el seguimiento de datos.

6. Pulse "1" o "2" para iniciar la instalación de la mesa de trabajo para el protocolo DSP de 200 μ l o el protocolo de 350 μ l, respectivamente.

7. Seleccione el volumen de elución: pulse "1" para eluir en 50 μ l; "2" para eluir en 100 μ l; "3" para eluir en 200 μ l.

8. Seleccione si desea realizar los lavados opcionales con etanol al 80%.

El texto resume los siguientes pasos, que describen el proceso de carga de la mesa de trabajo.

9. Abra la puerta del instrumento.

10. Invierta los cartuchos de reactivos (RCB) del 1 al 6 durante 4 veces para mezclar las partículas magnéticas. A continuación, golpee

suavemente los cartuchos (RCB) para depositar los reactivos en el fondo de los pocillos.

11. Cargue los cartuchos de reactivos en el bastidor de cartuchos.

i Después de deslizar un cartucho de reactivos (RCB) en el bastidor de cartuchos, presione hacia abajo sobre el cartucho hasta que haga clic y quede colocado en posición.

i Para el seguimiento de datos, comience siempre cargando las muestras en la posición A del EZ1 Advanced. A continuación, vaya colocando el resto de muestras una detrás de otra en las siguientes posiciones abiertas de la mesa de trabajo.

Cuando use la opción de seguimiento de muestras, asegúrese de que los códigos de identificación de muestras sigan el mismo orden que las muestras colocadas en la mesa de trabajo para evitar la identificación errónea de las muestras.

12. Siga las instrucciones que aparecen en pantalla para continuar con la instalación de la mesa de trabajo.

13. Cierre la puerta del instrumento.

14. Pulse “START” para iniciar el protocolo.

15. Cuando el protocolo termine, aparecerá en pantalla el mensaje “Protocol finished” (Protocolo finalizado). Pulse “ENT” para generar un informe.

El EZ1 Advanced puede almacenar hasta 10 informes. Los informes pueden imprimirse directamente o se pueden transferir a un ordenador.

16. Abra la puerta del instrumento.

17. Retire de la primera fila los tubos de elución con el ADN purificado. Elimine los desechos de la preparación de muestras*.

18. Opcional: Siga las instrucciones mostradas en pantalla para realizar la descontaminación con rayos UV de la superficie de la mesa de trabajo.

* Los desechos de la preparación de muestras contienen sales de guanidina y son incompatibles con la lejía. Vaya a la página 7 para consultar la información de seguridad.

19. Lleve a cabo el procedimiento de mantenimiento rutinario descrito en el manual de usuario del EZ1.

El procedimiento de mantenimiento rutinario se debe realizar al final de cada protocolo. Este consiste en limpiar la unidad de perforación y la superficie de la mesa de trabajo.

 ¡La unidad de perforación está afilada! Recomendamos ponerse doble guante.

20. Para iniciar un nuevo protocolo, pulse “START” (Inicio), lleve a cabo los pasos 1 y 2 del protocolo, y continúe con el protocolo a partir del paso 5. En caso de no iniciar un nuevo protocolo, pulse “STOP” dos veces para volver a la pantalla inicial, cierre la puerta del EZ1 y apágelo.

Los pasos 3–4 no son necesarios al iniciar un nuevo protocolo. Ignórelos.

Protocolo: Purificación de ADN genómico a partir de sangre total utilizando el EZ1 Advanced (con la tarjeta V1.0)

Este protocolo se utilizará con la tarjeta EZ1Advanced DSP DNA Blood Card V1.0 original. Si se va a utilizar la tarjeta V2.0, siga "Protocol: Purificación de ADN genómico a partir de sangre total utilizando el EZ1 Advanced (con la tarjeta V2.0)", página 39.

El protocolo de la tarjeta V2.0 incluye todas las opciones adicionales que permiten utilizar distintos volúmenes de elución y de entrada de muestras, así como pasos de lavado opcionales con etanol al 80%. El protocolo de la tarjeta V2.0 es equivalente a la tarjeta original V1.0 cuando se utilizan los volúmenes originales de entrada y elución, así como tampones de lavado.

Puntos importantes antes de empezar

- Si va a utilizar por primera vez el kit EZ1 DSP DNA Blood, lea el capítulo "Notas importantes" en la página 29.
- Los cartuchos de reactivos (RCB) contienen sales de guanidina y, por tanto, no son compatibles con desinfectantes que contienen lejía. Tome las medidas de seguridad apropiadas y utilice guantes al manipularlos. Vaya a la página **Fehler! Textmarke nicht definiert.** para consultar la información sobre seguridad.
- Todos los pasos del protocolo deben realizarse a temperatura ambiente (15–25 °C). Durante el procedimiento de instalación, trabaje con rapidez.
- Después de recibir el kit, revise si los componentes presentan daños. Si los cartuchos de reactivos (RCB) u otros componentes del kit están dañados, póngase en contacto con el Servicio Técnico QIAGEN o con su distribuidor local. En caso de que se derrame líquido, consulte el capítulo "Advertencias y precauciones" (página 7). No utilice cartuchos de reactivos (RCB) ni componentes que estén dañados, ya que esto podría perjudicar a los resultados.
- La obtención de ADN genómico depende del número de glóbulos blancos que haya en la muestra.

Cosas que hacer antes de comenzar

- El tampón de lisis del cartucho de reactivos (RCB) puede formar un precipitado al ser almacenado. Equilibre el cartucho de reactivos a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de usarlo. Si es necesario, vuelva a disolverlo calentándolo a 30–40 °C y déjelo a continuación a temperatura ambiente.

Procedimiento

1. Equilibre hasta 6 muestras de sangre total a temperatura ambiente.

i Asegúrese de que las muestras congeladas se hayan descongelado completamente y equilibrado a temperatura ambiente durante suficiente tiempo. Si las muestras se han almacenado a 2–8 °C, también se deberán equilibrar a temperatura ambiente. La temperatura de todas las muestras deberá ser de 15–25 °C antes de comenzar con el proceso para garantizar una obtención y una pureza del ADN óptimas.

2. Introduzca la tarjeta EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (V1.0) completamente en la correspondiente ranura del EZ1 Advanced.

3. Encienda el EZ1.

El interruptor de encendido está ubicado en la parte posterior del instrumento.

4. Pulse "START" (Inicio) para iniciar la instalación de la mesa de trabajo para el protocolo EZ1 DSP DNA Blood.

5. Abra la puerta del instrumento.

6. Invierta los cartuchos de reactivos (RCB) del 1 al 6 durante 4 veces para mezclar las partículas magnéticas. A continuación, golpee suavemente los cartuchos (RCB) para depositar los reactivos en el fondo de los pocillos.

7. Siga las instrucciones en pantalla para la instalación de la mesa de trabajo, la selección de variables del protocolo y el seguimiento de datos.

i Después de deslizar un cartucho de reactivos (RCB) en el bastidor de cartuchos, presione hacia abajo sobre el cartucho hasta que haga clic y quede colocado en posición.

i Para el seguimiento de datos, comience siempre cargando las muestras en la posición A del EZ1 Advanced. A continuación, vaya colocando el resto de muestras una detrás de otra en las siguientes posiciones abiertas de la mesa de trabajo.

Cuando use la opción de seguimiento de muestras, asegúrese de que los códigos de identificación de muestras sigan el mismo orden que las muestras colocadas en la mesa de trabajo para evitar la identificación errónea de las muestras.

8. Cierre la puerta del instrumento.

9. Pulse "START" para iniciar el protocolo.

10. Cuando el protocolo termine, aparecerá en pantalla el mensaje "Protocol finished" (Protocolo finalizado). Pulse "ENT" para generar un informe.

El EZ1 Advanced puede almacenar hasta 10 informes. Los informes pueden imprimirse directamente o se pueden transferir a un ordenador.

- 11. Abra la puerta del instrumento.**
- 12. Retire de la primera fila los tubos de elución con el ADN purificado. Elimine los desechos de la preparación de muestras*.**
- 13. Opcional: Siga las instrucciones mostradas en pantalla para realizar la descontaminación con rayos UV de la superficie de la mesa de trabajo.**
- 14. Lleve a cabo el procedimiento de mantenimiento rutinario descrito en el manual de usuario del EZ1.**

El procedimiento de mantenimiento rutinario se debe realizar al final de cada protocolo. Este consiste en limpiar la unidad de perforación y la superficie de la mesa de trabajo.

 ¡La unidad de perforación está afilada! Recomendamos ponerse doble guante.

- 15. Para iniciar un nuevo protocolo, pulse “START” (Inicio), lleve a cabo los pasos 1 y 2 del protocolo, y continúe con el protocolo a partir del paso 5. En caso de no iniciar un nuevo protocolo, pulse “STOP” dos veces para volver a la pantalla inicial, cierre la puerta del EZ1 y apágelo.**

Los pasos 3–4 no son necesarios al iniciar un nuevo protocolo. Ignórelos.

* Los desechos de la preparación de muestras contienen sales de guanidina y son incompatibles con la lejía. Vaya a la página 7 para consultar la información de seguridad.

Protocolo: Purificación de ADN genómico a partir de sangre total utilizando el BioRobot EZ1 DSP

Puntos importantes antes de empezar

- Si va a utilizar por primera vez el kit EZ1 DSP DNA Blood, lea el capítulo "Notas importantes" en la página 29.
- Los cartuchos de reactivos (RCB) contienen sales de guanidina y, por tanto, no son compatibles con desinfectantes que contienen lejía. Tome las medidas de seguridad apropiadas y utilice guantes al manipularlos. Vaya a la página 7 para consultar la información sobre seguridad.
- Todos los pasos del protocolo deben realizarse a temperatura ambiente (15–25 °C). Durante el procedimiento de instalación, trabaje con rapidez.
- Después de recibir el kit, revise si los componentes presentan daños. Si los cartuchos de reactivos (RCB) u otros componentes del kit están dañados, póngase en contacto con el Servicio Técnico QIAGEN o con su distribuidor local. En caso de que se derrame líquido, consulte el capítulo "Advertencias y precauciones" (página 7). No utilice cartuchos de reactivos (RCB) ni componentes que estén dañados, ya que esto podría perjudicar a los resultados.
- La obtención de ADN genómico depende del número de glóbulos blancos que haya en la muestra.

Cosas que hacer antes de comenzar

- El tampón de lisis del cartucho de reactivos (RCB) puede formar un precipitado al ser almacenado. Equilibre el cartucho de reactivos a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de usarlo. Si es necesario, vuelva a disolverlo calentándolo a 30–40 °C y déjelo a continuación a temperatura ambiente.

Procedimiento

1. Equilibre hasta 6 muestras de sangre total a temperatura ambiente.

 Asegúrese de que las muestras congeladas se hayan descongelado completamente y equilibrado a temperatura ambiente durante suficiente tiempo. Si las muestras se han almacenado a 2–8 °C, también se deberán equilibrar a temperatura ambiente. La temperatura de todas las muestras deberá ser de 15–25 °C antes de comenzar con el proceso para garantizar una obtención y una pureza del ADN óptimas.

2. Introduzca la tarjeta EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card completamente en la correspondiente ranura del BioRobot EZ1 DSP.

3. Encienda el EZ1.

El interruptor de encendido está ubicado en la parte posterior del instrumento.

4. Pulse "START" (Inicio) para iniciar la instalación de la mesa de trabajo para el protocolo EZ1 DSP DNA Blood.

5. Abra la puerta del instrumento.

6. Invierta los cartuchos de reactivos (RCB) del 1 al 6 durante 4 veces para mezclar las partículas magnéticas. A continuación, golpee suavemente los cartuchos (RCB) para depositar los reactivos en el fondo de los pocillos.

7. Siga las instrucciones que aparecen en pantalla para la instalación de la mesa de trabajo y la selección de las variables del protocolo.

 Después de deslizar un cartucho de reactivos (RCB) en el bastidor de cartuchos, presione hacia abajo sobre el cartucho hasta que haga clic y quede colocado en posición.

 Si hay menos de 6 cartuchos de reactivos (RCB), se podrán cargar en la gradilla en cualquier orden. Sin embargo, al cargar el resto del material, asegúrese de que este también siga el mismo orden.

8. Cierre la puerta del instrumento.

9. Pulse "START" para iniciar el protocolo.

Cuando el protocolo termine, aparecerá en pantalla el mensaje "Protocol finished" (Protocolo finalizado).

10. Abra la puerta del instrumento.

11. Retire de la primera fila los tubos de elución con el ADN purificado. Elimine los desechos de la preparación de muestras*.

12. Lleve a cabo el procedimiento de mantenimiento rutinario descrito en el manual de usuario del EZ1.

El procedimiento de mantenimiento rutinario se debe realizar al final de cada protocolo. Este consiste en limpiar la unidad de perforación y la superficie de la mesa de trabajo.

 ¡La unidad de perforación está afilada! Recomendamos ponerse doble guante.

13. Para iniciar un nuevo protocolo, pulse "START" (Inicio), lleve a cabo los pasos 1 y 2 del protocolo, y continúe con el protocolo a partir del paso 5. En caso de no iniciar un nuevo protocolo, pulse "STOP" dos

* Los desechos de la preparación de muestras contienen sales de guanidina y son incompatibles con la lejía. Vaya a la página 7 para consultar la información de seguridad.

veces para volver a la pantalla inicial, cierre la puerta del EZ1 y apágelo.

Los pasos 3–4 no son necesarios al iniciar un nuevo protocolo. Ignórellos.

Guía de resolución de problemas

Esta guía de resolución de problemas puede serle útil para resolver cualquier problema que pueda surgir. Para obtener más información, consulte la sección de preguntas más frecuentes (*Frequently Asked Questions*) en nuestro Centro de Asistencia Técnica: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Los científicos del Servicio Técnico de QIAGEN se encargarán de resolver cualquier duda que pueda tener sobre la información y los protocolos de este manual o sobre las tecnologías de muestras y ensayos (para mayor información véase la cubierta posterior o visite www.qiagen.com).

Comentarios y sugerencias

Manejo general

Mensaje de error en la pantalla LCD

i Refiérase al manual del usuario suministrado con su instrumento EZ1.

Baja obtención de ADN

a) Las partículas magnéticas no están completamente resuspendidas

i Asegúrese de que partículas magnéticas estén completamente resuspendidas antes de cargar los cartuchos de reactivos (RCB) en el soporte.

b) Aspiración insuficiente de los reactivos

i Después de invertir los cartuchos de reactivos (RCB) para resuspender las partículas magnéticas, asegúrese de golpear suavemente los cartuchos (RCB) para depositar los reactivos en el fondo de los pozos.

c) Las muestras de sangre congelada no se mezclan correctamente después de descongelarlas

i Descongele las muestras de sangre en un bloque térmico con agitador* o al baño María* a 30–40 °C con agitación suave para asegurar la completa homogenización.

d) Los precipitados son visibles en el fondo de los pozos de los cartuchos de reactivos (RCB)

i Coloque los cartuchos de reactivos (RCB) en un bloque térmico con agitador e incube a 30–40 °C con agitación suave hasta 2 horas. No utilice los cartuchos de reactivos (RCB) si los precipitados no se disuelven.

* Asegúrese que los instrumentos hayan sido revisados y calibrados regularmente de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

El ADN no da buenos resultados en aplicaciones posteriores

- a) Se utilizó insuficiente cantidad de ADN en el ensayo de biología molecular
- ⓘ Cuantifique el ADN purificado midiendo la absorción a 260 nm con un espectrofotómetro (vea "Cuantificación de ADN", página 78).
- b) Se utilizó demasiado ADN en el ensayo de biología molecular
- ⓘ La cantidad excesiva de ADN puede inhibir algunas reacciones enzimáticas. Cuantifique el ADN purificado midiendo la absorción a 260 nm con un espectrofotómetro (vea "Cuantificación de ADN", página 78).
- c) Inhibición de la aplicación posterior
- ⓘ Es posible que algunas aplicaciones posteriores muestren un rendimiento superior si se realizan lavados con etanol al 80% en lugar de con tampones en los cartuchos de reactivo. Se dispone de esta opción cuando se utilizan las tarjetas EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card V2.0 (véase la pág. 39) o EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card (véase la página 36).

Baja relación A_{260}/A_{280} de los ácidos nucleicos purificados

La lectura de la absorción a 320 nm no se resta de las lecturas de absorción obtenidas a 260 nm y 280 nm

ⓘ Para corregir la medida por la presencia de partículas magnéticas en el eluato, debe tomarse una lectura de absorción a 320 nm y restarse de las lecturas de absorción obtenidas a 260 nm y 280 nm (vea "Cuantificación de ADN", página 78).

Apéndice A: Mensajes mostrados en pantalla

Las tablas de la 9 a la 11 recogen los mensajes mostrados por el software durante la instalación de la mesa de trabajo, durante la ejecución del protocolo y después de la ejecución del protocolo. Los números de los mensajes enumerados en las tablas corresponden a los números de los mensajes mostrados por el software.

Para obtener más información sobre los mensajes de error generales que aparecen en la pantalla del EZ1, consulte el manual de usuario suministrado con el instrumento.

Tabla 6. Mensajes mostrados en el procedimiento del EZ1 Advanced DNA Blood

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced XL	Traducción
Ninguno	Guía	Date/time START:Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup	Fecha/hora INICIO:Ejecución 1: UV 2: Man 3: Test 4: Config.
1	Guía	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Version 1.0	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood, Versión 1.0
2	Seguimiento de datos	Enter user ID ENT: Next	Introduzca ID de usuario INTRO: Siguiente
3	Seguimiento de datos	Enter Q-Card bar code ENT: Next	Introduzca código de barras de la Q-Card INTRO: Siguiente
4	Guía	Wrong kit! Please load DSP DNA Blood kit ENT: Back	¡Kit equivocado! Cargue el kit DSP DNA Blood ENT:Atrás

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 6. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced XL	Traducción
5	Guía	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: stop protocol	Kit caducado MMAA INTRO: Usar un kit nuevo ESC: detener protocolo
6	Seguimiento de datos	Use Q-Card data with sample no. 1 to [X] Enter 1 to 14 ENT: Next	Use los datos de la Q-Card con las muestras de la 1 a la [X] Introduzca de 1 a 14 INTRO: Siguiente
7	Seguimiento de datos	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no	¿Desea procesar más muestras con otro lote del kit? INTRO: Sí, ESC: no
8	Seguimiento de datos	Do you want to add sample IDs? ENT: Yes ESC: No	¿Desea añadir IDs de muestra? INTRO: Sí ESC: No
9	Seguimiento de datos	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next	Introduzca ID de muestra n.º [x] INTRO: Siguiente
10	Seguimiento de datos	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No	¿Desea comprobar los ID de muestras? INTRO: Sí ESC: No
11	Seguimiento de datos	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next	ID 1: ID 2: ID 3: ABAJO: Siguiente

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 6. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced XL	Traducción
12	Seguimiento de datos	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back	ID 4: ID 5: ID 6: ABAJO: Siguiente, ARRIBA: Atrás
13	Seguimiento de datos	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back	ID 7: ID 8: ID 9: ABAJO: Siguiente, ARRIBA: Atrás
14	Seguimiento de datos	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back	ID 10: ID 11: ID 12: ABAJO: Siguiente, ARRIBA: Atrás
15	Seguimiento de datos	ID 13: ID 14: ESC: Rescan DOWN: Next, UP: Back	ID 13: ID 14: ESC: Volver a escanear ABAJO: Siguiente, ARRIBA: Atrás
16	Seguimiento de datos	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	¿Desea añadir información sobre el ensayo? INTRO: Sí, ESC: No
17	Seguimiento de datos	Enter assay ID for sample no. [x] ENT: Next	Introduzca ID del ensayo para muestra n.º [x] INTRO: Siguiente
18	Seguimiento de datos	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No	¿Desea comprobar los ID de ensayos? INTRO: Sí ESC: No

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 6. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced XL	Traducción
19	Seguimiento de datos	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No	¿Desea añadir notas? INTRO: Sí ESC: No
20	Seguimiento de datos	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next	Introduzca notas para muestra n.º [x] INTRO: Siguiente
21	Seguimiento de datos	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No	¿Desea comprobar las notas? INTRO: Sí ESC: No
22	Guía	Select protocol 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2	Seleccione protocolo 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Escoja 1 o 2
23	Guía	Select elution volume: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200 ul	Seleccione volumen de elución: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200 ul
24	Guía	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2	¿Lavado con etanol puro? 1: No 2: Sí Escoja 1 o 2
25	Guía	You have chosen: [xxx]ul blood, EtOH [xxx]ul elution ENT: Next, ESC: Back	Ha escogido: [xxx]ul sangre, EtOH [xxx]ul elución INTRO: Siguiente, ESC: Anterior

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 6. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced XL	Traducción
26	Guía	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back	Coloque los cartuchos en las mismas posiciones que las muestras INTRO: Siguiente, ESC: Anterior
27	Guía	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ENT: Next, ESC: Back	Coloque los tubos de elución (ET) (1,5ml) en la primera fila INTRO: Siguiente, ESC: Anterior
28	Guía	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back	Coloque los soportes de puntas (DTH) y las puntas (DFT) en la segunda fila INTRO: Siguiente, ESC: Anterior
29	Guía	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back	Coloque los tubos de 2ml con 1800ul de EtOH al 80% en la tercera fila INTRO: Siguiente, ESC: Anterior
30	Guía	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back	Coloque los tubos de 2ml (ST) con muestras en la cuarta fila INTRO: Siguiente, ESC: Anterior
31	Guía	Loading finished Close door and press START ESC: Back	Carga finalizada Cierre la puerta y pulse "START" (inicio) ESC: Anterior

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 6. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced XL	Traducción
32	Guía	Please close door! ENT: Next	Cierre la puerta INTRO: Siguiendo
33	Estado	Protocol started	Protocolo iniciado
34	Estado	Piercing foil [x] of [x] min left	Perforando lámina Quedan [x] de [x] min
35	Estado	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left	Pipeteando tampón de elución Quedan [x] de [x] min
36	Estado	Deliver at heat block [x] of [x] min left	Transferencia a bloque término Quedan [x] de [x] min
37	Estado	Collecting Beads [x] of [x] min left	Pipeteando partículas magnéticas Quedan [x] de [x] min
38	Estado	Resuspension of Beads [x] of [x] min left	Resuspensión de partículas magnéticas Quedan [x] de [x] min
39	Estado	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left	Pipeteando tampón de lisis Quedan [x] de [x] min
40	Estado	Mixing Lysate [x] of [x] min left	Mezclando lisado Quedan [x] de 23[x] min
41	Estado	Collecting Beads [x] of [x] min left	Pipeteando partículas magnéticas Quedan [x] de [x] min

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 6. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced XL	Traducción
42	Estado	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left	ADN uniéndose a partículas magnéticas Separación magnética Quedan [x] de [x] min
43	Estado	Wash 1 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavado 1 Separación magnética Quedan [x] de [x] min
44	Estado	Wash 2 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavado 2 Separación magnética Quedan [x] de [x] min
45	Estado	Wash 3 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavado 3 Separación magnética Quedan [x] de [x] min
46	Estado	Wash 4 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavado 4 Separación magnética Quedan [x] de [x] min
47	Estado	Rinse [x] of [x] min left	Aclarado Quedan [x] de [x] min
48	Estado	Check Temp. Set: Cur: [x] of [x] min left	Comprobar temp. Configurada: Actual: Quedan [x] de [x] min
49	Estado	Elution [x] of [x] min left	Elución Quedan [x] de [x] min
50	Guía	Protocol finished! ENT: Next	¡Protocolo finalizado! INTRO: Siguiente

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 6. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced XL	Traducción
51	Estado	Transferring report file Attempt no.	Transfiriendo informe Intento n.º
52	Ninguno		
Ninguno	Guía	SEND REPORT Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k. ESC:Back	ENVIAR INFORME ¿Impresión o.k.? 1: o.k. 2: no o.k. ESC: Anterior
53	Estado	Report file sent ENT: Next	Informe enviado INTRO: Siguiente
54	Estado	Report file could not be sent ENT: Resend	No se ha podido enviar el informe INTRO: Reenviar
55	Guía	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No	¿Ejecutar descontaminación UV? INTRO: Sí ESC: No
56	Guía	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next	Retirar eluatos y consumibles de la mesa de trabajo INTRO: Siguiente
57	Guía	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next	La vida útil de la lámpara UV está a punto de terminar: INTRO: Siguiente
58	Guía	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort	La vida útil de las lámparas UV ha concluido INTRO: Siguiente ESC: Interrumpir

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 6. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced XL	Traducción
59	Guía	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next	Descontaminación UV Introduzca de 20 a 60 INTRO: Siguiente
60	Guía	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back	La descontaminación UV debe durar entre 20-60 min ESC: Anterior
61	Guía	UV lamp did not ignite! ESC: Back	¡La lámpara UV no se encendió! ESC: Anterior
62	Guía	UV decontamination Total time: min Time left: min	Descontaminación UV Tiempo total: min Tiempo restante: min
63	Estado	Decontamination UV lamps cooling Please stand by	Descontaminación Las lámparas UV se están enfriando Por favor, espere
64	Guía	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu	Realice el mantenimiento rutinario después de ejecutar un protocolo ESC: Menú principal

Tabla 7. Mensajes mostrados en el protocolo EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V2.0)

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Traducción
Ninguno	Guía	Date/time START:Run 1:UV 2:Man 3:Test 4:Setup Key: START,1,2,3,4	Fecha/hora INICIO:Ejecución 1:UV 2:Man 3:Test 4:Config Tecla: START,1,2,3,4
1	Guía	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 2.0	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Versión 2.0
2	Seguimiento de datos	Enter user ID ENT: Next	Introduzca ID de usuario INTRO: Siguiente
3	Seguimiento de datos	Enter Q-Card bar code ENT: Next	Introduzca código de barras de la Q-Card INTRO: Siguiente
4	Guía	Wrong kit! Please load DSP DNA Blood kit ENT: Back	iKit equivocado! Cargue el kit DSP DNA Blood INTRO: Atrás
5	Guía	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: Stop protocol	iKit caducado! MMYY: INTRO: Usar un kit nuevo ESC: Detener protocolo
6	Seguimiento de datos	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 6 ENT: Next	Use los datos de la Q-Card data con muestras de la 1 a la [X] Introduzca de 1 a 6 INTRO: Siguiente

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 7. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Traducción
7	Seguimiento de datos	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No	¿Desea procesar más muestras con otro lote del kit? INTRO: Sí, ESC: no
8	Seguimiento de datos	Do you want to add sample IDs? ENT: Yes ESC: No	¿Desea añadir ID de muestra? ENT: Sí ESC: No
9	Seguimiento de datos	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next	Introduzca ID para la muestra n.º [x] INTRO: Siguiete
10	Seguimiento de datos	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No	¿Desea comprobar los ID de muestras? INTRO: Sí ESC: No
11	Seguimiento de datos	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next	ID 1: ID 2: ID 3: ABAJO: Siguiete
12	Seguimiento de datos	ID 4: ID 5: ID 6: ENT:Next; Esc:Rescan	ID 4: ID 5: ID 6: INTRO:Siguiete; Esc:Volver a escanear
13	Ninguno		
14	Ninguno		
15	Ninguno		
16	Seguimiento de datos	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	¿Desea añadir información sobre el ensayo? INTRO: Sí, ESC: No

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 7. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Traducción
17	Seguimiento de datos	Enter assay ID for sample no.[X] ENT: Next	Introduzca ID del ensayo para muestra n.º [x] INTRO: Siguiente
18	Seguimiento de datos	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No	¿Desea comprobar los ID de ensayos? INTRO: Sí ESC: No
19	Seguimiento de datos	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No	¿Desea añadir notas? INTRO: Sí ESC: No
20	Seguimiento de datos	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next	Introduzca notas para muestra n.º [x] INTRO: Siguiente
21	Seguimiento de datos	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No	¿Desea comprobar las notas? INTRO: Sí ESC: No
22	Guía	Select protocol 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2	Seleccione protocolo 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Elija 1 ó 2
23	Guía	Select elution volume: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul	Seleccione volumen de elución: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul
24	Guía	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2	¿Lavado con etanol puro? 1: No 2: Sí Elija 1 ó 2

La tabla continúa en la página siguiente.

Table 7. Continued

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Traducción
25	Guía	You have chosen: [xxx]ul blood, EtOH [xxx]ul elution ENT: Next, ESC: Back	Ha elegido: [xxx]ul sangre, EtOH [xxx]ul elución INTRO: Siguiente, ESC: Anterior
26	Guía	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back	Coloque los cartuchos en las mismas posiciones que las muestras INTRO: Siguiente, ESC:Anterior
27	Guía	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ENT: Next, ESC: Back	Coloque los tubos de elución (ET) (1,5ml) en la primera fila INTRO: Siguiente, ESC: Anterior
28	Guía	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back	Coloque los soportes de puntas (DTH) y las puntas (DFT) en la segunda fila INTRO: Siguiente, ESC: Anterior
29	Guía	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back	Coloque los tubos de 2ml con 1800ul de EtOH al 80% en la tercera fila INTRO: Siguiente, ESC: Anterior
30	Guía	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back	Coloque los tubos de 2ml (ST) con muestras en la cuarta fila INTRO: Siguiente, ESC: Anterior

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 7. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Traducción
31	Guía	Loading finished Close door and press START ESC: Back	Colocación del material finalizada Cierre la puerta y pulse START ESC: Atrás
32	Guía	Please close door! ENT: Next	¡Cierre la puerta! INTRO: Siguiente
33	Estado	Protocol started	Protocolo iniciado
34	Estado	Piercing foil [x] of [x] min left	Perforando lámina Quedan [x] de [x] min
35	Estado	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left	Pipeteando tampón de elución Quedan [x] de [x] min
36	Estado	Deliver at heat block [x] of [x] min left	Transferencia al bloque térmico Quedan [x] de [x] min
37	Estado	Collecting Beads [x] of [x] min left	Pipeteando partículas magnéticas Quedan [x] de [x] min
38	Estado	Resuspension of Beads [x] of [x] min left	Resuspensión de partículas magnéticas Quedan [x] de [x] min
39	Estado	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left	Pipeteando tampón de lisis Quedan [x] de [x] min
40	Estado	Mixing Lysate [x] of [x] min left	Mezclando lisado Quedan [x] de [x] min

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 7. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Traducción
41	Estado	Collecting Beads [x] of [x] min left	Pipeteando partículas magnéticas Quedan [x] de [x] min
42	Estado	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left	ADN uniéndose a partículas magnéticas Separación magnética Quedan [x] de [x] min
43	Estado	Wash 1 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavado 1 Separación magnética Quedan [x] de [x] min
44	Estado	Wash 2 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavado 2 Separación magnética Quedan [x] de [x] min
45	Estado	Wash 3 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavado 3 Separación magnética Quedan [x] de [x] min
46	Estado	Wash 4 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavado 4 Separación magnética Quedan [x] de [x] min
47	Estado	Rinse [x] of [x] min left	Aclarado Quedan [x] de [x] min
48	Estado	Check Temp. Set: Cur: [x] of [x] min left	Comprobar Temp. Configurada: Actual: Quedan [x] de [x] min
49	Estado	Elution [x] of [x] min left	Elución Quedan [x] de [x] min

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 7. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Traducción
50	Guía	Protocol finished! ENT: Next	¡Protocolo finalizado! INTRO: Siguiente
51	Estados	Transferring report file Attempt no.	Transfiriendo informe Intento n.º
52	Ninguno		
Ninguno	Guía	SEND REPORT Print out o.k? 1=o.k 2=not o.k Key: 1, 2, ESC	ENVIAR INFORME ¿Impresión o.k? 1=o.k 2=no o.k Tecla: 1, 2, ESC
53	Estado	Report file sent ENT: Next	Informe enviado INTRO: Siguiente
54	Estado	Report file could not be sent ENT: Resend	No se ha podido enviar el informe INTRO: Reenviar
55	Guía	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No	¿Realizar descontaminación UV? INTRO: Sí ESC: No
56	Guía	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next	Retirar eluatos y consumibles de la mesa de trabajo INTRO: Siguiente
57	Guía	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next	La vida útil de las lámparas UV está a punto de terminar Ciclos de descontaminación restantes: ENT: Siguiente

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 7. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V2.0)	Traducción
58	Guía	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort	La vida útil de las lámparas UV ha concluido INTRO: Siguiendo ESC: Interrumpir
59	Guía	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next	Descontaminación UV: Introduzca 20-60 min INTRO: Siguiendo
60	Guía	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back	La descontaminación UV debe durar entre 20 y 60 min ESC: Atrás
61	Guía	UV lamp did not ignite! ESC: Back	¡La lámpara UV no se encendió! ESC: Anterior
62	Guía	UV decontamination Total time: min Time left: min	Descontaminación UV Tiempo total: min Tiempo restante: min
63	Estado	Decontamination UV lamps cooling Please stand by	Descontaminación Las lámparas UV se están enfriando Por favor, espere
64	Guía	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu	Realice el mantenimiento rutinario después de ejecutar un protocolo ESC: Menú principal

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 8. Mensajes mostrados en el protocolo EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V1.0)

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Traducción
Ninguno	Guía	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4	Fecha/Hora INICIO:Ejecución 1: UV 2: Man 3: Test 4: Config. Tecla: INICIO, 1, 2, 3, 4
1	Guía	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 1.0	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Versión 1.0
2	Seguimiento de datos	Scan/enter user ID	Escanee/introduzca ID de usuario
3	Seguimiento de datos	Scan/enter Q-Card bar code	Escanee/introduzca código de barras de la Q-Card
4	Guía	Wrong kit! Please load EZ1 DSP DNA Blood ENT: back	¡Kit equivocado! Cargue el kit EZ1 DSP Blood INTRO:anterior
5	Guía	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol	Kit caducado INTRO: Usar un kit nuevo ESC: Detener protocolo
6	Seguimiento de datos	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6	Use los datos de la Q-Card con las muestras de la 1 a la Introduzca de 1 a 6
7	Guía	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No	¿Desea procesar más muestras con otro lote del kit? INTRO: Sí, ESC: no

La tabla continúa en la página siguiente.

Table 8. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Traducción
8	Seguimiento de datos	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No	¿Desea añadir ID de muestra? ENT: Sí ESC: No
9	Seguimiento de datos	Scan/enter sample ID sample no. [x]	Escanee/introduzca ID de muestra n.º [x]
10	Seguimiento de datos	ID1: ID2: ID3: Next=ENT	ID1: ID2: ID3: Siguiente=INTRO
11	Seguimiento de datos	ID1: ID2: ID3: Next=ENT, ID1-3=Up	ID1: ID2: ID3: Siguiente=INTRO, ID1-3=Arriba
12	Seguimiento de datos	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	¿Desea añadir información sobre el ensayo? INTRO: Sí, ESC: No
13	Seguimiento de datos	Scan/enter assay ID sample no. [x]	Escanee/introduzca ID ID muestra n.º [x]
14	Seguimiento de datos	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No	¿Desea añadir notas? INTRO: Sí ESC: No
15	Seguimiento de datos	Scan/enter notes sample no. [x]	Escanee/introduzca notas muestra n.º [x]

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 8. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Traducción
16	Guía	The protocol use Sample Volume: 350ul Elution Volume: 200ul Next=Any	El protocolo utiliza Volumen muestra: 350ul Volumen elución: 200ul Siguiete=Cualquiera
17	Guía	Load cartridges at same positions as samples Next=Any, Prev=Esc	Coloque los cartuchos en las mismas posiciones que las muestras Siguiete=Cualquiera, Anterior=Esc
18	Guía	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=Esc	Coloque los tubos de elución (ET) (1.5ml) en la primera fila Siguiete=Cualquiera, Prev=Esc
19	Guía	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=Esc	Coloque los soportes de puntas (DTH) y las puntas en la segunda fila Siguiete=Cualquiera, Anterior=Esc
20	Guía	Leave third row empty Next=Any, Prev=Esc	Deje la tercera fila vacía Siguiete=Cualquiera, Anterior=Esc
21	Guía	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc	Coloque los tubos de 2,0 ml (ST) con muestra en la cuarta fila Siguiete=Cualquiera, Anterior=Esc
22	Guía	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc	Colocación del material finalizada. Cierre la puerta y pulse START Anterior=Esc

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 8. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Traducción
23	Guía	Please close door!	Cierre la puerta
24	Estado	Protocol started	Protocolo iniciado
25	Estado	Piercing Foil [x] of 23 min left	Perforando lámina Quedan [x] de 23 min
26	Estado	Collecting Elution Buffer [x] of 23 min left	Pipeteando tampón de elución Quedan [x] de 23 min
27	Estado	Deliver at Heat Block [x] of 23 min left	Transferencia al bloque térmico Quedan [x] de 23 min
28	Estado	Collecting Magnetic Beads [x] of 23 min left	Pipeteando partículas magnéticas Quedan [x] de 23 min
29	Estado	Resuspension of Magnetic Beads [x] of 23 min left	Resuspensión de partículas magnéticas Quedan [x] de 23 min
30	Estado	Adding Lysis Buffer [x] of 23 min left	Añadiendo tampón de lisis Quedan [x] de 23 min
31	Estado	Mixing Lysate [x] of 23 min left	Mezclando lisado Quedan [x] de 23 min
32	Estado	Adding Magnetic Beads [x] of 23 min left	Añadiendo partículas magnéticas Quedan [x] de 23 min

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 8. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Traducción
33	Estado	DNA binding to Magnetic Beads Magnetic separation [x] of 23 min left	ADN uniéndose a partículas magnéticas Separación magnética Quedan [x] de 23 min
34	Estado	Wash 1 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavado 1 Separación magnética Quedan [x] de 23 min
35	Estado	Wash 2 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavado 2 Separación magnética Quedan [x] de 23 min
36	Estado	Wash 3 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavado 3 Separación magnética Quedan [x] de 23 min
37	Estado	Wash 4 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavado 4 Separación magnética Quedan [x] de 23 min
38	Estado	Rinse [x] of 23 min left	Aclarado Quedan [x] de 23 min
39	Estado	Checking Temperature Set: Cur:	Comprobando la temperatura Configurada: Actual:
40	Estado	Elution [x] of 23 min left	Elución Quedan [x] de 23 min
41	Guía	Protocol finished	Protocolo finalizado

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 8. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocoloV1.0)	Traducción
42	Seguimiento de datos	Transfer Report file, attempt no.	Transferencia del informe, intento n.º
43	Guía	Report file sent Next=ENT	Informe enviado Siguiente=INTRO
44	Guía	Report file could not be sent Resend=ENT	No se ha podido enviar el informe Reenviar=INTRO
45	Guía	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No	¿Realizar descontaminación UV? INTRO: Sí ESC: No
46	Guía	UV DECONTAMINATION Set time min Key:0-9, ENT	DESCONTAMINACIÓN UV Tiempo config. min Tecla:0-9, INTRO
47	Guía	UV lamp expires soon UV runs left ENT= continue	La vida útil de la lámpara UV está a punto de terminar: INTRO=continuar
48	Guía	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort	La vida útil de la lámpara UV ha concluido INTRO=continuar ESC=interrumpir
49	Guía	UV DECONTAMINATION Time must be between 20-60 min Key:ESC	DESCONTAMINACIÓN UV Debe durar 20-60 min Tecla:ESC

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 8. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el EZ1 Advanced (protocolo V1.0)	Traducción
50	Guía	UV DECONTAMINATION Total Time: min Time left: min	DESCONTAMINACIÓN UV Tiempo total: min Tiempo restante: min
51	Guía	Decontamination UV lamp cooling Please stand by	La lámpara de la descontaminación UV se está enfriando Por favor, espere
52	Guía	Perform regular maintenance before next run! ESC=Main menu	Realice el mantenimiento rutinario antes de ejecutar el siguiente protocolo ESC: Menú principal

Tabla 9. Mensajes mostrados en el protocolo BioRobot EZ1 DSP DNA Blood

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el BioRobot EZ1 DSP	Traducción
None	Guía	Choose button: START: Protocols 1 : Tools 2 : Tests	Selecione botón: START: Protocolos 1: Herramientas 2: Tests
1	Guía	EZ1 DSP DNA Blood Version 1.0.0	EZ1 DSP DNA Blood Versión 1.0.0
2	Guía	The protocol uses Sample Volume: [SampleVolume]ul Elution Volume: [ElutionVolume]ul Next=Any	El protocolo utiliza Volumen de muestra: [Vol.muestra]ul Volumen de elución: [Vol.elución]ul Siguiente=Cualquiera
3	Guía	Load sufficient cartridges (RCB) for samples Next=Any, Prev=ESC	Coloque suficientes cartuchos (RCB) para las muestras Siguiente=Cualquiera, Anterior=ESC
4	Guía	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=ESC	Coloque los tubos de elución (ET) (1,5ml) en la primera fila Siguiente=Cualquiera, Anterior=ESC
5	Guía	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC	Cargue los soportes de puntas (DTH) y las puntas (DFT) en la segunda fila Siguiente=Cualquiera, Anterior=ESC
6	Guía	Leave third row Empty Next=Any, Prev=ESC	Deje la tercera fila vacía Siguiente=Cualquiera, Anterior=ESC

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 9. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el BioRobot EZ1 DSP	Traducción
7	Guía	Load 2.0ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=ESC	Coloque los tubos de 2,0 ml (ST) con muestra en la cuarta fila Siguiente=Cualquiera, Anterior=ESC
8	Guidance	Start protocol Press START Prev=ESC	Inicie protocolo Pulse START Anterior=ESC
9	Estado	Protocol started	Protocolo iniciado
10	Estado	Piercing Foil	Perforando lámina
11	Estado	Collecting Elution Buffer	Pipeteando tampón de elución
12	Estado	Deliver at Heat Block	Transferencia al bloque térmico
13	Estado	Collecting Magnetic Beads	Pipeteando partículas magnéticas
14	Estado	Resuspension of Magnetic Beads	Resuspensión de partículas magnéticas
15	Estado	Adding Lysis Buffer	Añadiendo tampón de lisis
16	Estado	Mixing Lysate	Mezclando lisado
17	Estado	Adding Magnetic Beads	Añadiendo partículas magnéticas
18	Estado	DNA binding to Magnetic Beads Magnetic Separation	ADN uniéndose a partículas magnéticas Separación magnética
19	Estado	Wash 1 Magnetic Separation	Lavado 1 Separación magnética

La tabla continúa en la página siguiente.

Tabla 9. Continuación

Número del mensaje	Tipo de mensaje	Texto del mensaje en el BioRobot EZ1 DSP	Traducción
20	Estado	Wash 2 Magnetic Separation	Lavado 2 Separación magnética
21	Estado	Wash 3 Magnetic Separation	Lavado 3 Separación magnética
22	Estado	Wash 4 Magnetic Separation	Lavado 4 Separación magnética
23	Estado	Rinse	Aclarado
24	Estado	Checking Temperature Set: 65 [deg] Cur: [deg]	Comprobando la temperatura Configurada: 65 [grados] Actual: [grados]
25	Estado	Elution	Elución
26	Guía	Protocol finished! Press ESC to return to menu	Protocolo finalizado Pulse ESC para volver al menú

Apéndice B: Almacenamiento, cuantificación y determinación de la pureza del ADN

Almacenamiento de ADN

El ADN purificado puede almacenarse a una temperatura de 2–8 °C o –20 °C durante un máximo de 24 meses. Para un periodo de almacenamiento superior, los eluidos deben almacenarse a –70 °C.

Cuantificación de ADN

La concentración de ADN debe determinarse midiendo la absorción a 260 nm (A_{260}) en un espectrofotómetro. Las lecturas de absorción a 260 nm deben estar entre 0,1 y 1,0 para ser precisas. Una absorción de 1 unidad a 260 nm corresponde a 50 μg de ADN por mililitro ($A_{260}=1 \rightarrow 50 \mu\text{g/ml}$). Utilice tampón de pH neutro (por ejemplo, 10 mM Tris·Cl,* pH 7,0) para diluir las muestras y calibrar el espectrofotómetro.† El remanente de partículas magnéticas en el eluido puede afectar a la lectura A_{260} , pero no debería afectar a la obtención de resultados en los ensayos de biología molecular. Si el ADN purificado es analizado por secuenciación por terminador fluorescente mediante electroforesis capilar, el tubo que contiene el eluido deberá aplicarse primero a un separador magnético adecuado y transferir el eluido a un tubo limpio (véase a continuación).

Para cuantificar el ADN purificado utilizando el sistema EZ1:

- Aplique el tubo que contiene el ADN a un separador magnético adecuado (por ejemplo, el QIAGEN 12-Tube Magnet, ref. 36912) durante 1 minuto. En caso de no disponer de un separador magnético adecuado, centrifugue el tubo que contiene el ADN durante 1 minuto a velocidad máxima en una microcentrífuga para aglomerar las partículas magnéticas restantes.
- Una vez que la separación esté completa, retire cuidadosamente 10–50 μl del ADN purificado y dilúyalo en un volumen final de 100 μl de tampón de pH neutro.
- Mida la absorbancia a 320 nm y 260 nm. Réstele el valor de absorbancia obtenido a 320 nm al valor de absorbancia obtenido a 260 nm para corregir la presencia de partículas magnéticas.

* Al trabajar con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (SDS, safety data sheets) correspondientes que el proveedor del producto pone a su disposición.

† Si las muestras no están diluidas, utilice agua para calibrar el espectrofotómetro.

Concentración de la muestra de ADN = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{factor de dilución}$

Cantidad total de ADN aislado = concentración x volumen de muestra en mililitros

Pureza del ADN

La pureza se determina calculando la relación entre la absorbancia corregida a 260 nm y la corregida a 280 nm, esto es, $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. El ADN puro tiene una relación $A_{260} - A_{280}$ de 1,7–1,9. Utilice un tampón de pH ligeramente alcalino (por ejemplo, 10 mM Tris·Cl, pH 7,5) para diluir las muestras y calibrar el espectrofotómetro.* Si las muestras no están diluidas, utilice agua para calibrar el espectrofotómetro.

* Al trabajar con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (SDS, safety data sheets) correspondientes que el proveedor del producto pone a su disposición.

Apéndice C: Hoja de muestras para usar con el sistema EZ1 DSP DNA Blood

Esta hoja de muestras puede ser útil para llevar un registro al utilizar el procedimiento EZ1 DSP DNA Blood. Esta hoja puede fotocoparse y etiquetarse con descripciones de las muestras utilizadas e información detallada sobre la serie analítica.

Sistema EZ1 DSP DNA Blood

Fecha/hora: _____ N.º del lote del kit: _____

Operario: _____ ID ejecución: _____

N.º de serie del instrumento: _____

Pos. en mesa de trabajo	ID muestra	Material muestra	?RCB disponibles?	?ST disponibles?	?ET disponibles?	?DTH con DFT disponibles?
1 (izqda.)						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14 (dcha.)						

Appendix D: Ejemplo de un informe del EZ1 Advanced

Este apéndice muestra un informe típico generado en el EZ1 Advanced. Los valores de cada parámetro diferirán del informe generado en su EZ1 Advanced. Los informes generados en el EZ1 Advanced XL contienen información equivalente y únicamente se diferencian en el número de canales.

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]

Información para pedidos

Producto	Contenido	Referencia
EZ1 DSP DNA Blood Kit (48)	Para 48 preparaciones de ADN: cartuchos de reactivo precargados, soportes de puntas desechables, puntas de filtro desechables, tubos de muestra, tubos de elución	62124
EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card	Tarjeta programada para el protocolo EZ1 DSP DNA Blood; se utiliza con el EZ1 Advanced XL	9018702
EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card	Tarjeta programada para el protocolo EZ1 DSP DNA Blood; se utiliza con el EZ1 Advanced	9018305
EZ1 DSP DNA Blood Card	Tarjeta programada para el protocolo EZ1 DSP DNA Blood; se utiliza con el BioRobot EZ1 DSP	9017713
EZ1 Advanced XL	Instrumento robotizado para la purificación automática de ácidos nucleicos de hasta 14 muestras utilizando kits EZ1, garantía de 1 año de piezas y mano de obra	9001492

¡Visite www.qiagen.com/products/assays para obtener más información sobre las tecnologías de ensayo de QIAGEN!

Para obtener información actualizada sobre licencias y sobre exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de usuario o el manual de uso del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Esta página se ha dejado en blanco intencionadamente

Esta página se ha dejado en blanco intencionadamente

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

Acuerdo de licencia limitada

La utilización de este producto implica por parte de cualquier comprador o usuario del kit EZ1 DSP DNA Blood la aceptación de los siguientes términos:

1. El kit EZ1 DSP DNA Blood únicamente se podrá utilizar de acuerdo con las especificaciones del *Manual de uso del kit EZ1 DSP DNA Blood* y empleando solo los componentes contenidos en dicho kit. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes contenidos en este kit con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en el *Manual del kit EZ1 DSP DNA Blood* y en protocolos adicionales disponibles en www.qiagen.com.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este kit ni su(s) uso(s) no infrinjan los derechos de terceros.
3. Este kit y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no pueden ser reutilizados, reacondicionados ni revendidos.
4. QIAGEN renuncia específicamente a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del kit aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones que hayan sido prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitada, y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los costes del juicio, incluidos los honorarios de abogacía, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit y con sus componentes.

Para obtener los términos actualizados de la licencia, visite www.qiagen.com.

QuantiTect Probe PCR Kit: AVISO AL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

La práctica del proceso de la nucleasa 5' en investigación requiere el uso de un kit esencial de nucleasa 5' con licencia (que contenga una sonda con licencia), la combinación de un kit esencial de nucleasa 5' autorizado y una sonda con licencia, o derechos de licencia que se pueden comprar a Applied Biosystems. Este producto es un kit esencial de nucleasa 5' autorizado sin sonda con licencia. El precio de compra incluye inmunidad de jurisdicción limitada e intransferible conforme a las patentes estadounidenses n.ºs 5,210,015, 5,487,972, 5,476,774, y 5,219,727, y correspondientes reivindicaciones de los derechos de patente fuera de Estados Unidos, propiedad de Roche Molecular Systems, Inc. or F. Hoffmann-La Roche Ltd (Roche), para utilizar sólo esta cantidad del producto en el proceso de nucleasa 5' exclusivamente con fines de investigación interna por parte del comprador cuando se utilice en combinación con una sonda con licencia. Este producto también es un kit esencial de nucleasa 5' autorizado para el uso con sublicencias de servicio que se pueden adquirir a través de Applied Biosystems. Este producto no confiere derechos conforme a las patentes estadounidenses 5,804,375, 6,214,979, 5,538,848, 5,723,591, 5,876,930, 6,030,787, o 6,258,569, ni las correspondientes patentes fuera de Estados Unidos, expresamente, por implicación o impedimento. Por la presente no se confieren otros derechos, expresamente, por implicación o impedimento, bajo ninguna otra patente (tales como reivindicaciones de aparatos y sistemas de la patente estadounidense 6,814,934), ni el derecho a realizar servicios comerciales de cualquier índole, incluidos, a título enunciativo pero no limitativo, el derecho de informar sobre los resultados de las actividades del comprador percibiendo honorarios u otras consideraciones comerciales. Este producto está destinado únicamente al uso en investigación. El uso diagnóstico requiere una licencia aparte de Roche. Se puede obtener más información sobre las licencias de compra poniéndose en contacto con el Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, EE.UU.

HB-0252-003 © 2009-2015 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

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)

