

Novembro de 2022

Instruções de uso (Manual) do EZ1[®] DSP Virus Kit



48

Versão 5



Para uso em diagnóstico in vitro

Para uso com instrumentos BioRobot[®] EZ1 DSP, EZ1 Advanced e
EZ1 Advanced XL

Para uso com o instrumento EZ2[®] Connect MDx (com versão de
software 1.1 ou superior)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANHA



R2

1129846PTBR

Índice

Uso previsto	4
Usuário previsto	4
Descrição e princípio	5
Resumo e explicação	6
Materiais fornecidos	8
Conteúdo do kit	8
Componentes do kit.....	9
Materiais necessários, mas não fornecidos	10
Avisos e precauções	12
Informações de segurança.....	13
Precauções	14
Informações de emergência.....	14
Descarte.....	15
Armazenamento e manuseio dos reagentes	16
Estabilidade em uso.....	17
Armazenamento e manuseio de espécimes.....	18
Amostras de plasma e soro	18
Amostra de fezes	20
Swabs nasofaríngeos coletados em UTM	20
Amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR)	20
Amostras de bactérias gram-positivas	21
Volumes de eluição e manuseio de eluatos.....	21

Armazenamento de ácidos nucleicos virais/DNA bacteriano	21
Procedimento	22
Trabalhando com instrumentos EZ2 Connect MDx.....	22
Trabalhando com instrumentos EZ1	29
Preparação do RNA carreador (CARRIER).....	36
Uso de um controle interno (Internal Control, IC)	37
Protocolo: Pré-tratamento de fezes	39
Protocolo: Pré-tratamento para isolamento de DNA genômico de bactérias gram-positivas	41
Protocolo: Purificação de ácidos nucleicos virais e DNA bacteriano usando o EZ2 Connect MDx	42
Protocolo: Purificação de ácidos nucleicos virais e DNA bacteriano usando os instrumento EZ1	51
Controle de qualidade	57
Limitações	58
Características de desempenho	59
Guia de solução de problemas	60
Símbolos	63
Informações de contato	67
Anexo A: Exibição de mensagens nos instrumento EZ1/EZ2	68
Anexo B: Cálculo da quantidade de controle interno (Internal Control, IC)	89
Anexo C: Ficha de amostra para uso com o sistema EZ1 DSP Virus	93
Informações sobre pedidos	95
Histórico de revisões do documento	97

Uso previsto

O EZ1 DSP Virus Kit utiliza tecnologia de partículas magnéticas para o isolamento e a purificação automatizados de ácidos nucleicos virais e DNA bacteriano de amostras biológicas.

O EZ1 DSP Virus Kit deve ser usado para diagnóstico in vitro.

Usuário previsto

Este produto destina-se a ser usado por usuários profissionais, como técnicos e médicos treinados em técnicas de biologia molecular.

Descrição e princípio

A tecnologia de partículas magnéticas combina a velocidade e a eficiência da purificação de ácidos nucleicos à base de sílica com o manuseio conveniente de partículas magnéticas. O procedimento de purificação foi projetado para assegurar um manuseio seguro e reproduzível de amostras potencialmente infecciosas. O procedimento de purificação é constituído por 4 etapas: lise, ligação, lavagem e eluição (consulte as seções a seguir e o fluxograma na página 7). O pré-tratamento de amostras é obrigatório no caso de fezes. Consulte o protocolo de pré-tratamento para obter informações sobre o respectivo material de amostra.

Lise com proteinase K

A proteólise de amostras é realizada em condições altamente desnaturantes a temperaturas elevadas. A lise é realizada na presença de proteinase K e tampão de lise, que juntos garantem a digestão das proteínas de capsídeo viral e a inativação de nucleases.

Ligação às partículas magnéticas

É adicionado tampão de ligação às amostras lisadas para ajustar as condições de ligação. Os lisados são completamente misturados com as partículas magnéticas para permitir a adsorção ideal dos ácidos nucleicos virais e do DNA bacteriano à superfície de sílica. As condições de sal e de pH garantem que as proteínas e outros contaminantes que possam inibir a reação da cadeia de polimerase (PCR) e outras reações enzimáticas a jusante não se liguem às partículas magnéticas.

Lavagem de ácidos nucleicos ligados

Embora os ácidos nucleicos virais e o DNA bacteriano permaneçam ligados às partículas magnéticas, os contaminantes são lavados e removidos eficazmente durante a sequência de etapas de três lavagens, seguida das etapas de enxágue e secagem.

Eluição de ácidos nucleicos puros

Em uma única etapa, os ácidos nucleicos virais e o DNA bacteriano altamente puros são eluídos em tampão de eluição (AVE). Os ácidos nucleicos purificados podem ser usados imediatamente em aplicações a jusante ou armazenados para uso futuro.

Resumo e explicação

O EZ1 DSP Virus Kit proporciona um procedimento automatizado para a purificação simultânea de ácidos nucleicos virais e DNA bacteriano dos seguintes materiais de amostra usando os instrumentos EZ1 ou EZ2 Connect MDx:

- Soro e plasma
- Líquido cefalorraquidiano (LCR)
- Fezes
- Swabs nasofaríngeos coletados em UTM

O kit pode ser usado para purificar ácidos nucleicos de um amplo espectro de vírus de DNA e RNA e também de DNA de bactérias. No entanto, o desempenho do kit não é garantido para cada espécie de patógeno extraído de quaisquer materiais de amostra e deve ser validado pelo usuário. A tecnologia de partículas magnéticas permite a purificação de ácidos nucleicos de alta qualidade isentos de proteínas, nucleases e outras impurezas. Os ácidos nucleicos purificados estão prontos para serem usados na detecção altamente sensível em ensaios posteriores, como amplificação. Os instrumentos EZ1 (EZ1 Advanced, BioRobot EZ1 DSP e EZ1 Advanced XL) e EZ2 Connect MDx realizam todas as etapas do procedimento de preparo de amostras para até 6 amostras (usando o EZ1 Advanced ou o BioRobot EZ1 DSP; ambos descontinuados), para até 14 amostras (usando o EZ1 Advanced XL) ou para até 24 amostras (usando o EZ2 Connect MDx) em uma única execução.

Procedimento EZ1 DSP Virus

Soro, plasma, LCR, fezes e swab nasofaríngeo coletados em UTM



Lise com proteinase K e tampão de lise



Partículas magnéticas e tampão de ligação adicionados aos lisados



Os ácidos nucleicos se ligam às partículas magnéticas



Separação magnética



Três etapas de lavagem seguidas de enxágue e secagem



Separação magnética



Eluição com tampão de eluição (AVE)



Ácidos nucleicos virais e/ou DNA bacteriano purificado(s) de alta qualidade

Materiais fornecidos

Conteúdo do kit

EZ1 DSP Virus Kit			(48)
N° de referência			62724
Número de preparos			48
RCV	Reagent Cartridge, Virus 350 µL (Cartucho de reagentes, Vírus 350 µL)*†	REAG CART VIRUS	48
DTH	Disposable Tip Holders (Suportes de ponteiros descartáveis)	DISP TIP HOLD	50
DFT	Disposable Filter-Tips (Ponteiras com filtro descartáveis)	DISP FILT TIP	50
ST	Sample Tubes (2 mL) (Tubos de amostra [2 mL]), sem saída	SAMP TUBE	2 x 50
ET	Elution Tubes (1,5 mL) (Tubos de eluição [1,5 mL])	ELU TUBE	2 x 50
CARRIER	Carrier RNA (RNA carreador)	CAR RNA	310 µg
AVE	Elution Buffer (tampão de eluição)†	ELU BUF	3 x 2 mL
	Q-Card‡		1
	Instruções de uso		1

* Contém um sal de guanidina. Não compatível com desinfetantes que contenham água sanitária. Consulte a página 13 sobre Informações de segurança.

† Contém azida de sódio como conservante.

‡ As informações contidas no código de barras do Q-Card são necessárias para efeitos de acompanhamento de dados de reagentes usando os instrumentos EZ1 Advanced, EZ1 Advanced XL e EZ2 Connect MDx.

Componentes do kit

Os componentes principais do kit que contêm ingredientes ativos são explicados abaixo.

Tabela 1. Reagentes fornecidos contendo ingredientes ativos

Reagente	Componentes	Concentração (w/w) [%]
RCV (Cartucho de reagentes Vírus)	Etanol	≥70 a <90
	Isopropanol	≥70 a <90
	Tiocianato de guanidina	≥30 a <50
	Cloridrato de guanidina	≥30 a <50
	Proteinase K	≥1 a <10
	Cloreto de lítio	≥1 a <10

Materiais necessários, mas não fornecidos

Ao trabalhar com produtos químicos, sempre use um jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) relevantes disponibilizadas pelo fornecedor do produto.

Todos os protocolos

- Pipetas* e ponteiros de pipetas estéreis sem RNase
- Tubos de reação (apenas para tipos específicos de amostras)
- Lenço de papel suave
- Água
- Etanol a 70% (para procedimentos de limpeza)
- Opcional: Agitador tipo vórtex* (caso seja necessário misturar amostras)
- Opcional: microcentrífuga* (se for necessário remover as partículas magnéticas dos eluatos)

Para pré-tratamento de fezes

- Buffer ASL (n° de ref. 19082)
- Agitador tipo vórtex
- Agitador térmico* ou banho-maria* a 70 °C

Para isolamento de DNA genômico de bactérias gram-positivas

- Lisozima, Tris-HCl, EDTA, Triton X-100
- Agitador térmico* ou banho-maria* a 37 °C
- Centrifuga (capaz de executar 5000 x g)

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

Para usuários do BioRobot EZ1

- Instrumento BioRobot EZ1 DSP* (descontinuado)
- EZ1 DSP Virus Card (n° de ref. 9017707)

Para usuários do EZ1 Advanced

- Instrumento EZ1 Advanced (descontinuado)
- EZ1 Advanced DSP Virus Card (n° de ref. 9018306)

Para usuários do EZ1 Advanced XL

- Instrumento EZ1 Advanced XL* (n° de ref. 9001492)
- EZ1 Advanced XL DSP Virus Card (n° de ref. 9018703)

Para usuários do EZ1 Advanced e do EZ1 Advanced XL

- Para o rastreamento de amostras, é necessário um dos seguintes itens:
 - PC (incluindo o monitor) com o EZ1 Advanced Communicator Software (software fornecido com os instrumentos EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL)
 - Impressora
 - Para obter mais detalhes, consulte o respectivo manual do instrumento

Para usuários do EZ2 Connect MDx

- Instrumento EZ2 Connect MDx* (n° de ref. 9003230)

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

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

Avisos e precauções

Esteja ciente de que poderá ser necessário consultar seus regulamentos locais para relatar incidentes graves que tenham ocorrido com o dispositivo ao fabricante e/ou seu representante autorizado e à autoridade regulatória na qual o usuário e/ou o paciente estão estabelecidos.

Para uso em diagnóstico in vitro.

Leia atentamente todas as instruções antes de utilizar o kit.

Esteja ciente dos seguintes riscos restantes:

- Ao usar tubos secundários (tubos de amostra, "ST"), certifique-se de que as IDs de amostras não sejam misturadas durante a transferência de ID de amostra do tubo primário para o secundário.
- Também é possível inserir as IDs de amostra manualmente (para obter detalhes, consulte os manuais do usuário do instrumento EZ1 ou EZ2). Se os dados de ID incorretos forem inseridos manualmente, poderá ocorrer uma correlação incorreta entre a amostra e o paciente.

Informações de segurança

Ao trabalhar com produtos químicos, sempre use um jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas. Elas estão disponíveis online em formato PDF no site www.qiagen.com/safety, onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a ficha SDS de cada Kit QIAGEN® e componente de kit.

AVISO



Risco de lesões corporais

NÃO adicione alvejante ou soluções ácidas diretamente nos resíduos do preparo da amostra.

- Alguns tampões nos cartuchos de reagentes (RCV) contêm cloridrato de guanidina ou isotiocianato de guanidina, que podem formar compostos altamente reativos quando combinados com alvejante.
- Se for derramado líquido contendo essas soluções tamponadas, limpe com água e detergente de laboratório adequado. Em caso de derrame do líquido que contém agentes potencialmente infecciosos sobre um instrumento EZ1/EZ2, desinfete o instrumento, usando os reagentes descritos no manual do usuário fornecido com o seu instrumento EZ1/EZ2.
- Os cartuchos de reagentes (RCV) quebrados ou com fugas devem ser manuseados e descartados de acordo com os regulamentos de segurança locais. Não use cartuchos de reagentes (RCV) danificados nem componentes danificados de outros kits, pois o seu uso pode causar prejuízo ao desempenho do kit, lesão ao usuário ou danos ao instrumento.
- A QIAGEN não testou os resíduos líquidos gerados pelo procedimento EZ1 DSP Virus quanto à presença de materiais residuais infecciosos. A contaminação dos resíduos líquidos com materiais residuais infecciosos é improvável, mas não pode ser completamente excluída. Portanto, os resíduos líquidos residuais devem ser considerados infecciosos e manipulados e descartados de acordo com os regulamentos de segurança locais.
- Espécimes e amostras são potencialmente infecciosos. Descarte os resíduos das amostras e dos ensaios de acordo com os procedimentos de segurança locais.

Precauções

As seguintes afirmações de risco e precaução se aplicam aos componentes do EZ1 DSP Virus Kit:

Reagent Cartridge, Virus Mini, v2.0 CE (RCV)



Contém: etanol; cloridrato de guanidina; tiocianato de guanidina, isopropanol, cloreto de lítio e proteinase K. Perigo! Líquido e vapor altamente inflamáveis. Nocivo, se engolido ou inalado. Pode ser nocivo em contato com a pele. Causa queimaduras graves na pele e lesões oculares. Se inalado, pode causar sintomas de asma ou alergia ou dificuldades respiratórias. Pode provocar irritação das vias respiratórias. Pode causar sonolência ou vertigens. Nocivo para a vida aquática, com efeitos duradouros. Em contato com ácidos, libera gases muito tóxicos. Mantenha distância de calor/faíscas/chamas abertas/superfícies quentes. Não fume. Evite respirar poeira/fumaça/gás/névoa/vapores/spray. Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Use proteção respiratória. EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se presentes e fáceis de remover. Continue enxaguando. EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Entre em contato imediatamente com um CENTRO DE CONTROLE DE INTOXICAÇÕES E ENVENENAMENTOS ou um médico. Leve a pessoa para um local ao ar livre e deixe-a confortável para respirar. Lave a roupa contaminada antes de usá-la novamente. Armazene em local bem ventilado. Descarte o conteúdo/recipiente em um local de descarte de resíduos aprovado.

Informações de emergência

CHEMTREC

EUA e Canadá 1-800-424-9300

Fora dos EUA e do Canadá +1 703-527-3887

Descarte

O resíduo contém amostras e reagentes. Esse resíduo pode conter material tóxico ou infeccioso e deve ser descartado adequadamente.

Descarte como resíduo nocivo em conformidade com os regulamentos locais e nacionais. Isso também se aplica aos produtos não usados.

Não descarte os resíduos líquidos no sistema de esgoto.

Siga as recomendações da Folha de dados de segurança (Safety Data Sheet, SDS).

Consulte os regulamentos de segurança locais para ver quais são os procedimentos de descarte adequados. Consulte também "Avisos e precauções", começando na página 12.

Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas. Elas estão disponíveis online em formato PDF no site www.qiagen.com/safety, onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a ficha SDS para cada kit QIAGEN e componente do kit.

Armazenamento e manuseio dos reagentes

Armazene os cartuchos de reagentes (RCV) na vertical em temperatura ambiente (15–25 °C). As partículas magnéticas nos cartuchos de reagentes (RCV) permanecem ativas quando armazenadas a esta temperatura. Não congele os cartuchos de reagentes (RCV). Quando armazenados devidamente, os cartuchos de reagentes (RCV) permanecem estáveis até o fim do prazo de validade indicado no Q-Card, na caixa do kit e no código de barras do RCV.

O RNA carreador (CARRIER) liofilizado permanece estável até o fim do prazo de validade indicado na caixa do kit quando armazenado em temperatura ambiente.

Precipitados podem se formar no tampão ASL de pré-tratamento durante o armazenamento em temperatura ambiente. Incube o frasco a 50–56 °C por 15–20 minutos e agite-o manualmente duas vezes dentro deste período de incubação.

- ❗ Não use o EZ1 DSP Virus Kit ou Buffer ASL com um prazo de validade vencido. Evite a exposição do RCV ou do Buffer ASL à luz UV (por ex., usada para descontaminação), pois isso pode acelerar o envelhecimento dos tampões.
- ❗ Não use os cartuchos de reagentes (RCV) se estiverem danificados ou previamente abertos.
- ❗ Não remova o selo dos cartuchos de reagentes. Ele será perfurado automaticamente pelo instrumento.

Estabilidade em uso

Os cartuchos de reagentes (RCV) são apenas para uso único e não oferecem estabilidade em uso.

A solução de estoque do RNA carreador (CARRIER) reconstituído tem uma concentração de 1 ng/ μ l e é estável por até 4 semanas quando armazenada a 2–8 °C.

O tampão ASL de pré-tratamento é estável por até 6 meses após o primeiro uso/abertura do frasco quando é novamente fechado e armazenado em temperatura ambiente (15–25 °C).

- ⓘ Recomenda-se observar a data do primeiro uso/abertura do frasco do tampão ASL no frasco para garantir que não excede a estabilidade em uso.
- ⓘ Caso a vida útil do restante do kit seja menor do que 6 meses, o tampão ASL não pode ser usado após a data de validade.

Armazenamento e manuseio de espécimes

Durante o procedimento de pré-tratamento e de preparos posteriores, as amostras devem ser manuseadas de forma adequada para evitar a mistura de amostras.

O procedimento de purificação está otimizado para uso com volumes de amostra de 100, 200 ou 400 µl.

- ❗ Não use volumes de amostra menores ou maiores do que 100, 200 ou 400 µl, pois isso pode gerar problemas de desempenho ou pode danificar o instrumento.

A estabilidade de amostra depende muito de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. Ela foi estabelecida para o EZ1 DSP Virus Kit em conjunto com as aplicações a jusante exemplares. O usuário é responsável por consultar as instruções de uso da aplicação a jusante específica usada em seu laboratório e/ou validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer as condições de armazenamento adequadas.

- ❗ Para obter recomendações gerais sobre coleta, transporte e armazenamento, consulte a diretriz aprovada MM13-A do CLSI "Coleta, transporte preparação e armazenamento de espécimes para métodos moleculares". Além disso, as instruções do fabricante para o dispositivo/kit de coleta de amostras usado devem ser seguidas durante o preparo, armazenamento, transporte e manuseio geral de amostras.

Amostras de plasma e soro

Para a coleta de sangue, siga as instruções do fabricante dos respectivos tubos de coleta de sangue (Blood Collection Tubes, BCT) usados. Especialmente as instruções para o posicionamento correto do BCT durante a coleta de sangue, devem ser considerados o volume de preenchimento exigido, as instruções para uma mistura suave e a inversão do BCT após a coleta de sangue.

Nota: A mistura incorreta e/ou insuficiente das amostras de sangue são umas das variáveis mais importantes do exame prévio. Caso os aditivos nos tubos de coleta de sangue não estejam misturados de forma homogênea com o espécime, a qualidade do DNA viral pode ser comprometida, o que pode afetar a validade e a credibilidade dos resultados do exame.

Podem ser usadas amostras de sangue tratadas com EDTA ou citrato como anticoagulante para a preparação do plasma. As amostras de plasma e soro podem ser frescas ou congeladas, desde que não tenham sido novamente congeladas depois de descongeladas.

Para o exame da carga viral de DNA, é recomendado iniciar o preparo do plasma da amostra de sangue por centrifugação imediatamente após o transporte (máximo 2 horas em temperatura ambiente). Em caso de atraso, os tubos de coleta de sangue com EDTA e citrato podem ser armazenados a 4 °C por até 6 horas até a centrifugação e a preparação do plasma. As amostras de soro podem ser armazenadas em temperatura ambiente por até 2 horas até a centrifugação. As condições e a duração do armazenamento devem ser documentadas.

Após a preparação do plasma e do soro, para armazenamentos mais longos, é recomendado armazenar alíquotas de amostras entre -20 °C a -80 °C. Descongele as alíquotas de amostra a 25 °C por 30–90 minutos. Inverta os tubos de amostra, pelo menos, 10 vezes e processe as amostras imediatamente quando estiverem equilibradas em temperatura ambiente. Depois de descongelar as alíquotas, não volte a congelá-las. O congelamento/descongelamento recorrentes levam à desnaturação e à precipitação de proteínas, resultando em títulos virais e bacterianos reduzidos e, portanto, em rendimentos reduzidos de ácidos nucleicos virais e DNA bacteriano. Se forem visíveis crioprecipitados nas amostras, centrifugue-as a 6800 x g durante 3 minutos ± 30 segundos, transfira os sobrenadantes para tubos novos, sem perturbar os pellets, e inicie imediatamente o procedimento de purificação. Esta etapa não reduz os títulos virais, mas pode afetar os títulos bacterianos.

Amostra de fezes

Após a coleta, armazene e transporte as amostras de fezes a 2–8 °C. Recomenda-se um volume de amostra de 200 µl para a extração de ácidos nucleicos virais ou bacterianos de fezes. Um pré-tratamento precisa ser realizado antes da extração no instrumento EZ1 ou EZ2 (consulte a página 39 sobre "Protocolo: Pré-tratamento de fezes").

Para obter recomendações gerais sobre coleta, transporte e armazenamento, consulte a diretriz aprovada MM13-A do CLSI "Coleta, transporte preparação e armazenamento de espécimes para métodos moleculares".

Swabs nasofaríngeos coletados em UTM

Os swabs nasofaríngeos coletados em UTM podem ser transportados em temperatura ambiente.

Para obter recomendações gerais sobre coleta, transporte e armazenamento, consulte a diretriz aprovada MM13-A do CLSI "Coleta, transporte preparação e armazenamento de espécimes para métodos moleculares".

Amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR)

Para estudos de DNA, as amostras de LCR devem ser transportadas a 2–8 °C. Para estudos de RNA, as amostras de LCR devem ser transportadas congeladas em gelo seco.

Para obter recomendações gerais sobre coleta, transporte e armazenamento, consulte a diretriz aprovada MM13-A do CLSI "Coleta, transporte, preparação e armazenamento de espécimes para métodos moleculares".

Amostras de bactérias gram-positivas

Para a extração de DNA de bactérias gram-positivas difíceis de lisar, pode ser realizada uma etapa adicional de pré-lise, que compreende a digestão de lisozimas, antes da extração no instrumento EZ1 ou EZ2 Connect MDx (consulte a página 41, "Protocolo: Pré-tratamento para isolamento de DNA genômico de bactérias gram-positivas").

Volumes de eluição e manuseio de eluatos

A etapa final do procedimento de purificação é a eluição dos ácidos nucleicos virais e do DNA bacteriano em um volume final de 60, 90, 120 ou 150 µl.

Caso o material de amostra seja constituído por fezes, é recomendado escolher um volume de eluição de 120–150 µl.

Se os eluatos obtidos das fezes estiverem turvos, centrifugue à velocidade máxima (20.000 x g) durante 3 minutos para tornar os eluatos mais claros. Este tratamento irá melhorar o desempenho dos eluatos turvos em aplicações a jusante.

Armazenamento de ácidos nucleicos virais/DNA bacteriano

Para o armazenamento a curto prazo de até 24 horas, recomenda-se armazenar os ácidos nucleicos virais purificados ou o DNA bacteriano entre 2 e 8 °C. Para o armazenamento a longo prazo durante mais de 24 horas, recomenda-se armazenar a -80 °C por até 12 meses ou a -20 °C por até 12 semanas. A estabilidade dos ácidos nucleicos pode ser diferente para a aplicação a jusante específica que está sendo usada e precisa ser autovalidada pelo usuário.

A estabilidade do eluato depende muito de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. Ela foi estabelecida para o EZ1 DSP DNA Virus Kit em conjunto com as aplicações a jusante exemplares. O usuário é responsável por consultar as instruções de uso da aplicação a jusante específica usada em seu laboratório e/ou validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer as condições de armazenamento adequadas.

Procedimento

O EZ1 DSP Virus Kit pode ser usado em vários tipos de instrumentos:

- O EZ2 Connect MDx
- O EZ1 Advanced XL e o EZ1 Advanced (descontinuados)
- O BioRobot EZ1 DSP (descontinuado)

Trabalhando com instrumentos EZ2 Connect MDx

Os principais recursos dos instrumentos EZ2 Connect MDx incluem:

- Purificação automatizada de ácidos nucleicos de alta qualidade de 1 a 24 amostras por execução
- Protocolos pré-instalados prontos para usar
- Cartuchos de reagentes selados e previamente preenchidos para a configuração fácil, rápida e segura
- Um leitor de códigos de barras externo, que é usado para leitura de IDs de amostras e kits (Q-card)
- Interface gráfica do usuário (Graphical User Interface, GUI)
- Uma câmera interna, que é usada para verificações de carga automatizadas e leitura de código de barras de cartuchos de reagentes
- Lâmpada UV para ajudar a descontaminação das superfícies da mesa de trabalho

As funcionalidades adicionais do EZ2 Connect MDx incluem:

- Conectividade LIMS e QIASphere (LAN ou WiFi por meio de portas USB)
- Gerenciamento de usuários estendido

- ❗ A descontaminação UV ajuda a reduzir possíveis contaminações por patógenos das superfícies da mesa de trabalho do EZ2 Connect MDx. A eficiência da inativação deve ser determinada para cada organismo específico e depende, por exemplo, da espessura da camada e do tipo de amostra. A QIAGEN não pode garantir a erradicação completa de agentes patogênicos específicos.

Procedimento operacional do EZ2 Connect MDx

Antes de prosseguir, é recomendável que você se familiarize com os recursos do instrumento conforme descrito no *Manual do usuário do EZ2 Connect MDx* (disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com).

- ❗ A tampa do EZ2 Connect MDx deve permanecer fechada e travará automaticamente durante a operação do instrumento. Somente abra a tampa quando instruído pelas instruções de uso. A mesa de trabalho do instrumento EZ2 Connect MDx move-se durante a operação do instrumento. Nunca abra a tampa do EZ2 Connect MDx enquanto o instrumento estiver em funcionamento.

Para configurar uma execução de protocolo, feche a tampa e ligue o instrumento. Para aplicações do MDx, escolha o modo IVD ao fazer login. Pressione a guia Setup (Configuração) na tela inicial e leia o código de barras 1D no Q-card fornecido com o EZ1 DSP Virus kit (Figura 1) pressionando o botão Scan (Leitura). Os protocolos dedicados são automaticamente exibidos quando o Q-card passa pela leitura.

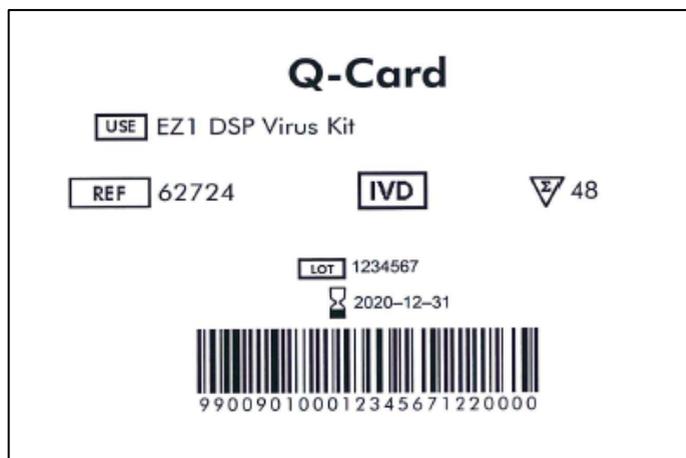


Figura 1. Exemplo de Q-Card.

O software do EZ2 Connect MDx guiará você pelo processo de configuração da execução de protocolo.

Cartuchos de reagentes (RCV)

Os reagentes para a purificação de ácidos nucleicos de uma única amostra estão contidos em um único cartucho de reagentes (RCV) (Figura 2). A maioria dos poços do cartucho (RCV) contém um determinado reagente, como, por exemplo, partículas magnéticas, tampão de lise, tampão de lavagem ou tampão de eluição (AVE) sem RNase. Como cada poço contém apenas a quantidade necessária de reagente, é possível evitar a formação de resíduos adicionais devido à presença de restos de reagentes no fim do procedimento de purificação.

Os cartuchos de reagentes (RCV) fornecidos com o EZ1 DSP Virus Kit são previamente preenchidos com todos os reagentes necessários para a purificação de ácidos nucleicos e de DNA bacteriano, exceto RNA carreador (CARRIER). O RNA carreador (CARRIER) e os controles internos (Internal Control, IC) (opcionais) são adicionados em um tubo fora do cartucho de reagentes (RCV).



Figura 2. Cartucho de reagentes (RCV). Cartucho de reagentes (RCV) selado e previamente preenchido do EZ1 DSP Virus Kit.



Figura 3. Rack do cartucho de reagentes O rack de cartuchos está sinalizado com uma seta para indicar a direção na qual os cartuchos de reagentes (RCV) devem ser carregados.

Mesa de trabalho

A mesa de trabalho dos instrumentos EZ2 Connect MDx é o local no qual o usuário carrega as amostras e os componentes do EZ1 DSP Virus Kit. (Figura 4 e Figura 5).

Os detalhes sobre a configuração da mesa de trabalho são exibidos na tela sensível ao toque da interface gráfica do usuário (Graphical User Interface, GUI).

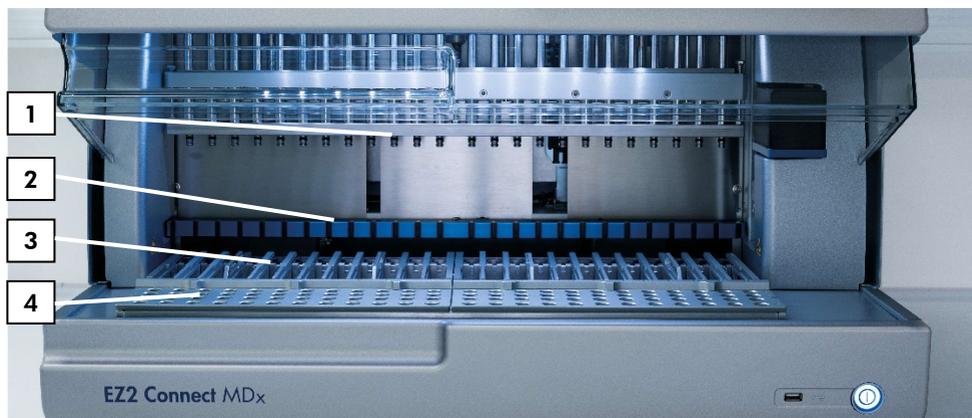


Figura 4. Visão geral de um instrumento EZ2 Connect MDx. (1) Cabeçote do pipetor, (2) módulo do ímã, (3) rack de cartuchos e (4) rack de ponteiras (suporte de materiais de laboratório).



Figura 5. Mesa de trabalho de um instrumento EZ2 Connect MDx. (1) Bloco de aquecimento com tubos (ST) de 2 ml carregados nos cartuchos de reagentes (RCV) para lise. (2) Tubos de amostra (ST) (2 ml) carregados na linha A. (3) Tubo (ET) (1,5 ml) contendo RNA carregador (CARRIER) e controle interno (Internal Control, IC) (se usado) no tampão de eluição (AVE), carregados na linha B. (4) Suportes de ponteiras descartáveis (DTH) contendo ponteiras com filtro descartáveis (DFT) carregados na linha C (5) Tubos de eluição (ET) (1,5 ml) carregados na linha D.

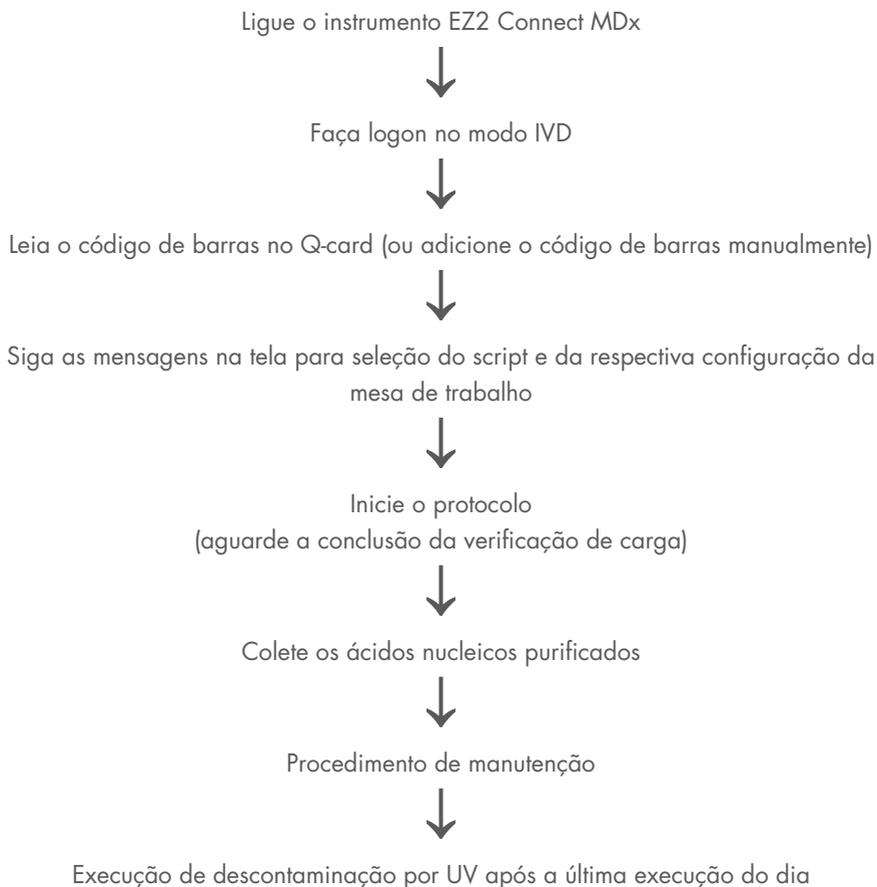
Acompanhamento de dados com o EZ2 Connect MDx

O EZ2 Connect MDx permite o acompanhamento total de vários dados, proporcionando um controle de processos e uma fiabilidade superiores. A ID do usuário é rastreada via logon no software. O número de lote e o prazo de validade do EZ1 DSP Virus Kit são inseridos no início do protocolo usando o código de barras do Q-Card ou são inseridos manualmente usando a tela sensível ao toque. As configurações da execução e as informações da amostra são inseridas durante a configuração do protocolo. No final da execução do protocolo, pode ser criado um arquivo de relatório. Na seção "Data" (Dados) da interface gráfica do usuário (Graphical User Interface, GUI), os relatórios de execução podem ser baixados para um pen drive (sempre em ambos os formatos de arquivo ".pdf" e ".xml").

Caso a conectividade WiFi/LAN seja estabelecida para o instrumento EZ2 Connect MDx, as informações de execução e amostra podem ser diretamente processadas via LIMS (se configuradas).

Para obter mais detalhes sobre configuração do instrumento EZ2 Connect MDx, consulte o *Manual do usuário do EZ2 Connect MDx* (disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com).

Fluxo de trabalho da operação do EZ1 DSP Virus no EZ2 Connect MDx



Trabalhando com instrumentos EZ1

As principais funcionalidades dos instrumentos EZ1 incluem:

- Purificação de alta qualidade dos ácidos nucleicos de 1 a 6 (BioRobot EZ1 DSP e EZ1 Advanced) ou 1 a 14 (EZ Advanced XL) amostras por execução
- Dimensões reduzidas para economizar espaço no laboratório
- Cartões EZ1 DSP pré-programados com protocolos prontos para uso
- Cartuchos de reagentes selados e previamente preenchidos para a configuração fácil, rápida e segura
- Automatização completa da purificação de ácidos nucleicos

Os recursos adicionais do EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL incluem:

- Leitura de códigos de barras e rastreamento de amostras
- Acompanhamento de dados do kit com o Q-Card fornecido com o kit
- Lâmpada UV para ajudar a descontaminação das superfícies da mesa de trabalho

 A descontaminação UV ajuda a reduzir possíveis contaminações por patógenos das superfícies da mesa de trabalho do EZ1 Advanced e do EZ1 Advanced XL. A eficiência da inativação deve ser determinada para cada organismo específico e depende, por exemplo, da espessura da camada e do tipo de amostra. A QIAGEN não pode garantir a erradicação completa de agentes patogênicos específicos.

EZ1 DSP Cards, EZ1 Advanced DSP Cards e EZ1 Advanced XL DSP Cards

O protocolo do EZ1 DSP Virus para purificação de ácidos nucleicos virais e DNA bacteriano está armazenado nos cartões EZ1 pré-programados (cartões com circuito integrado). Basta que o usuário insira um EZ1 Advanced XL DSP Card no EZ1 Advanced XL, um EZ1 Advanced DSP Card no EZ1 Advanced ou um EZ1 DSP Card* no instrumento BioRobot EZ1 DSP e o instrumento ficará pronto para executar um protocolo (Figura 6 e Figura 7).



Figura 6. Configuração simples do protocolo usando os EZ1 DSP Cards. Inserção de um EZ1 Card, pré-programado com o protocolo, no instrumento EZ1.

- ⓘ O instrumento só deve ser ligado após a inserção de um EZ1 Card e certifique-se de que o EZ1 Card esteja totalmente inserido! Caso contrário, ocorrerá a perda de dados essenciais do instrumento, resultando em um erro de memória. Os cartões EZ1 não devem ser trocados enquanto o instrumento estiver ligado.



Figura 7. Cartão totalmente inserido na fenda do EZ1 Card.

Cartuchos de reagentes (RCV)

Os reagentes para a purificação de ácidos nucleicos de uma única amostra estão contidos em um único cartucho de reagentes (RCV) (Figura 8 e Figura 9). A maioria dos poços do cartucho (RCV) contém um determinado reagente, como, por exemplo, partículas magnéticas, tampão de lise, tampão de lavagem ou tampão de eluição (AVE) sem RNase. Como cada poço contém apenas a quantidade necessária de reagente, é possível evitar a formação de resíduos adicionais devido à presença de restos de reagentes no fim do procedimento de purificação.

Os cartuchos de reagentes (RCV) fornecidos com o EZ1 DSP Virus Kit são previamente preenchidos com todos os reagentes necessários para a purificação de ácidos nucleicos e de DNA bacteriano, exceto RNA carreador (CARRIER). O RNA carreador (CARRIER) e os controles internos (Internal Control, IC) (opcionais) são adicionados em um tubo fora do cartucho de reagentes (RCV).



Figura 8. Cartucho de reagentes (RCV). Um RCV selado e previamente preenchido do EZ1 DSP Virus Kit.



Figura 9. Carregando o rack de cartuchos de reagentes. O rack de cartuchos está sinalizado com uma seta para indicar a direção na qual os cartuchos de reagentes (RCV) devem ser carregados.

Mesa de trabalho

A mesa de trabalho dos instrumentos EZ1 é o local no qual o usuário carrega as amostras e os componentes do EZ1 DSP Virus Kit (Figura 10).

Os detalhes sobre a configuração da mesa de trabalho são apresentados no visor de vácuo fluorescente (Vacuum Fluorescent Display, VFD) do EZ1 Advanced e do EZ1 Advanced XL ou no visor de cristais líquidos (Liquid-Crystal Display, LCD) do painel de controle do BioRobot EZ1 DSP quando o usuário inicia a configuração da mesa de trabalho.

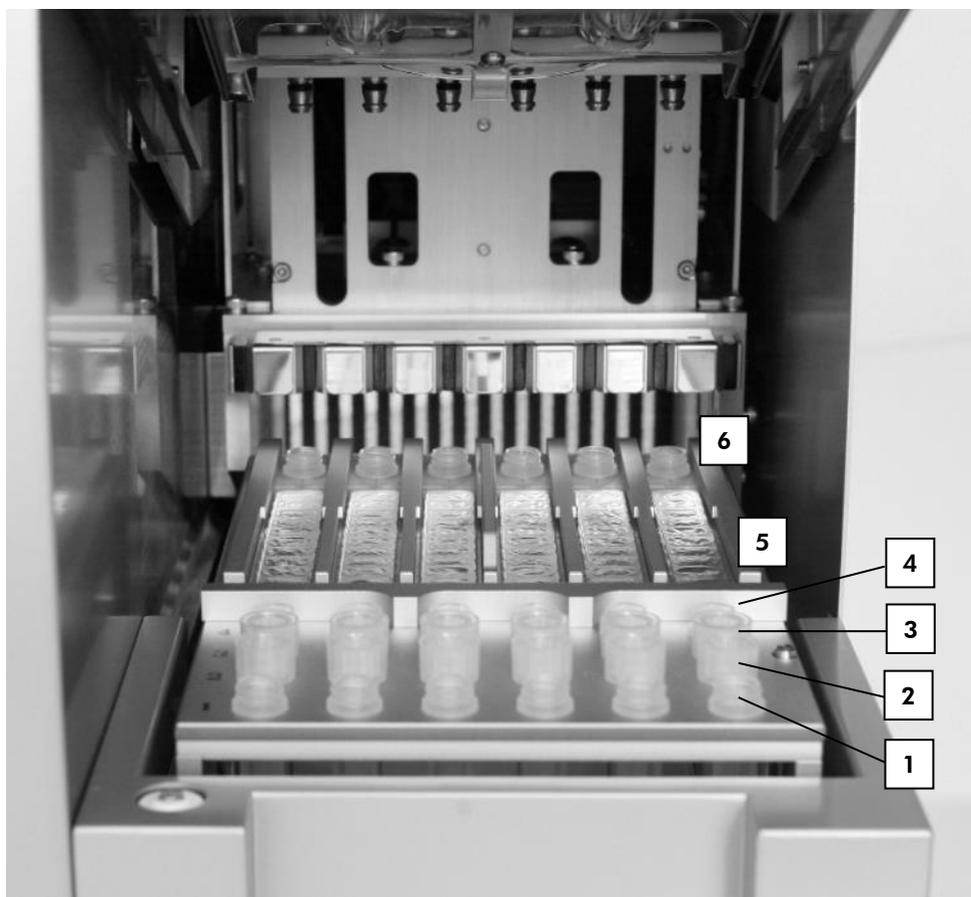


Figura 10. Mesa de trabalho de um instrumento EZ1. (1) Tubos de eluição (ET) (1,5 ml) carregados na linha 1. (2) Suportes de ponteiros descartáveis (DTH) com ponteiros com filtro descartáveis (DFT) carregados na linha 2. (4) Tubo (ET) (1,5 ml) com RNA carreador (CARRIER) e controle interno (Internal Control, IC) (se usado) em tampão de eluição (AVE), carregado na linha 3. (4) Tubos de amostra (ST) (2 ml) carregados na linha 4. (5) Cartuchos de reagentes (RCV) carregados no rack de cartuchos. (6) Bloco de aquecimento com tubos (ST) de 2 ml nos cartuchos de reagentes para lise.

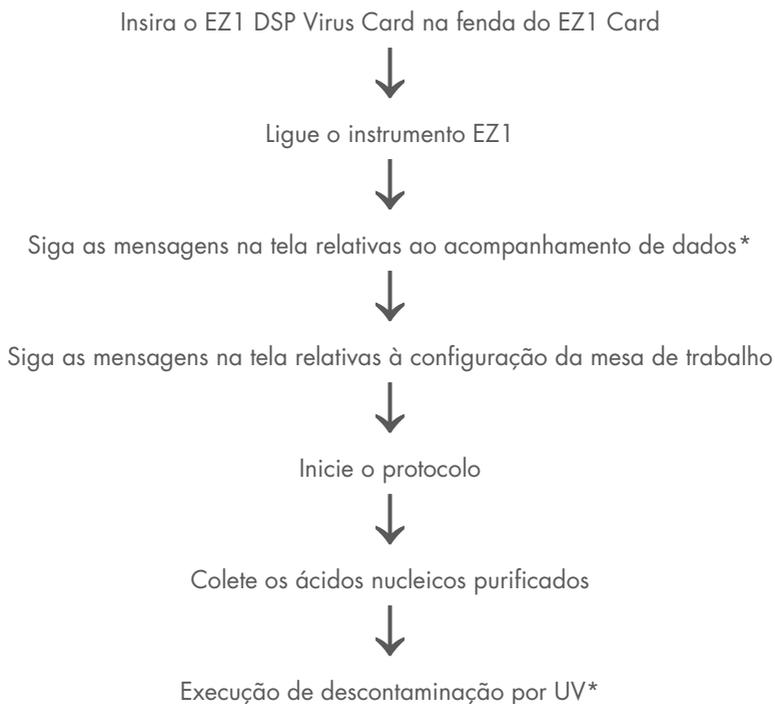
Acompanhamento de dados com o EZ1 Advanced e o EZ1 Advanced XL

O EZ1 Advanced e o EZ1 Advanced XL permitem o acompanhamento de vários dados, proporcionando um controle de processos e uma fiabilidade superiores. O número do lote e os prazos de validade do kit EZ1 são inseridos no início do protocolo usando o código de barras do Q-Card. A ID de um usuário e o código de barras do Q-Card podem ser inseridos manualmente por meio do teclado ou por meio da leitura dos códigos de barras usando o leitor de código de barras portátil. Opcionalmente, as informações bem como as notas da amostra e do ensaio também podem ser inseridas no início do protocolo. No final de cada execução de protocolo, um arquivo de relatório é gerado automaticamente. O EZ1 Advanced e o EZ1 Advanced XL podem armazenar até 10 arquivos de resultados e os dados podem ser transferidos para um PC ou diretamente impressos em uma impressora.

- ⓘ Para o acompanhamento de dados, comece sempre carregando as amostras na posição A para o EZ1 Advanced e na posição 1 para o EZ1 Advanced XL. Coloque sucessivamente as amostras restantes nas próximas posições vagas da mesa de trabalho.

Para obter mais detalhes sobre acompanhamento de dados, consulte o respectivo manual do usuário, disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Fluxo de trabalho da operação do EZ1 DSP Virus no EZ1



* Apenas para EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL.

Preparação do RNA carreador (CARRIER)

O RNA carreador (CARRIER) tem duas finalidades durante o processo de purificação. Primeiro, melhora a ligação dos ácidos nucleicos virais e do DNA bacteriano à superfície de sílica das partículas magnéticas, principalmente se a amostra tiver muito poucas moléculas-alvo. Em segundo lugar, a adição de grandes quantidades de RNA carreador (CARRIER) reduz a chance de degradação do RNA viral no caso raro de as RNases não serem desnaturadas pelos sais caotrópicos e pelo detergente no tampão de lise. Se não for adicionado RNA carreador (CARRIER) à reação, a recuperação de DNA ou RNA viral ou de DNA bacteriano poderá ser reduzida.

O RNA carreador (CARRIER) liofilizado fornecido com o kit é suficiente para o preparo de 48 amostras. A concentração de RNA carreador (CARRIER) usada no procedimento de purificação permite que o EZ1 DSP Virus Kit seja usado como um sistema de purificação genérico, que é compatível com vários sistemas de amplificação diferentes e é adequado para a purificação de ácidos nucleicos de uma ampla variedade de bactérias e vírus de DNA e RNA. No entanto, os sistemas de amplificação variam em eficiência, dependendo da quantidade total de ácidos nucleicos presentes na reação. Os eluatos obtidos usando o EZ1 DSP Virus Kit contêm ácidos nucleicos virais e bacterianos e RNA carreador (CARRIER) e a quantidade de RNA carreador (CARRIER) em cada eluato ultrapassa significativamente a quantidade de ácidos nucleicos virais e bacterianos. Para obter os níveis mais elevados de sensibilidade em reações de amplificação, pode ser necessário ajustar a quantidade de solução de RNA carreador (CARRIER) adicionada.

Dissolva completamente o RNA carreador (CARRIER) liofilizado em 310 µl de tampão de eluição (AVE), divida-o em alíquotas de volume conveniente e armazene a 2–8 °C. O CARRIER reconstituído tem uma concentração de 1 ng/µl e é estável por até 4 semanas.

Para cada amostra processada, dilua 3,6 µl de solução de estoque de RNA carreador (CARRIER) em um volume total de 60 µl usando o tampão de eluição (AVE) (e/ou uma solução de controle interno). Um volume de 50 µl desta solução de RNA carreador–tampão de eluição (CARRIER–AVE) é transferido pelo instrumento EZ1/EZ2 para a mistura de lise, correspondente a 3 µg de RNA carreador (CARRIER).

Caso deseje usar um controle interno (Internal Control, IC), consulte "Uso de um controle interno (Internal Control, IC)" a seguir.

Nota: O procedimento de purificação está otimizado para que sejam adicionados 3 µg de RNA carreador (CARRIER) por amostra. Se uma quantidade diferente de RNA carreador (CARRIER) for considerada melhor para um sistema de amplificação específico, altere o volume da solução de estoque de RNA carreador (CARRIER) misturada com tampão de eluição (AVE) ou use uma concentração diferente de solução de estoque. O volume total de solução de RNA carreador–tampão de eluição (CARRIER–AVE) por amostra deverá ser de 60 µl, dos quais 50 µl serão transferidos para a mistura de lise. O uso de diferentes quantidades de RNA carreador (CARRIER) deve ser validado para cada tipo específico de amostra e de ensaio posterior.

Uso de um controle interno (Internal Control, IC)

Para usar o EZ1 DSP Virus Kit em combinação com sistemas de amplificação disponíveis no mercado, poderá ser necessário introduzir um controle interno (Internal Control, IC) no procedimento de purificação para monitorar a eficiência do preparo de amostras.

O DNA ou RNA de controle interno deve ser combinado com a solução de estoque de RNA carreador (CARRIER) (3,6 µl) em uma mistura. Para cada amostra, a mistura de RNA carreador–controle interno (CARRIER–controle interno) deve ter um volume de 60 µl, dos quais 50 µl serão transferidos para a mistura de lise. Esta quantidade corresponde a 3 µl de solução de estoque de RNA carreador (CARRIER) mais 47 µl de tampão de eluição (AVE) e/ou solução de controle interno.

 Não adicione os ácidos de controle interno (Internal Control, IC) diretamente à amostra. Use apenas IC em conjunto com a solução de CARRIER em uma mistura.

Consulte as instruções do fabricante para determinar a quantidade ideal de controle interno (Internal Control, IC) para aplicações a jusante específicas. O uso de uma quantidade diferente da recomendada pode reduzir a eficiência da amplificação. Para determinar a quantidade de controle interno (Internal Control, IC) necessário para o protocolo EZ1 DSP Virus, é necessário levar em consideração o volume do eluato. Consulte "Cálculo da quantidade de controle interno", página 89, para obter instruções detalhadas sobre como calcular o volume correto de controle interno (Internal Control, IC).

Os controles internos (Internal Control, IC) não são fornecidos no EZ1 DSP Virus Kit.

Protocolo: Pré-tratamento de fezes

Este protocolo destina-se ao pré-tratamento de amostras de fezes sólidas e líquidas antes da purificação de ácidos nucleicos (página 42 para instrumentos EZ2 Connect MDx e página 51 para instrumentos EZ1).

Procedimento

1. Ressuspenda 100 mg de fezes sólidas ou líquidas em 900 µl de Buffer ASL.
 - O tampão ASL deve ser pedido separadamente; consulte Informações sobre pedidos, na página 95.
 - ⓘ Caso seja usada uma quantidade menor ou maior de fezes, a quantidade de tampão ASL deve ser ajustada para manter uma proporção de diluição de 1:10 (w/v). O uso de 30 mg de fezes é um requisito mínimo para obter, pelo menos, 200 µl de volume de amostra após o pré-tratamento para extração com o instrumento EZ1/EZ2.
2. Agite vigorosamente a amostra em vórtex durante 1–2 min. ou até que a suspensão fique homogênea.
 - ⓘ No caso de fezes bastante duras, poderá ser necessário prolongar o procedimento de ressuspensão. Alternativamente, pode tentar desagregar a amostra, pipetando-a para cima e para baixo. Para uma pipetagem mais simples, poderá ser necessário cortar a extremidade da ponteira de pipeta. Algumas partículas podem permanecer insolúveis e serão removidas durante a próxima etapa.
3. Incube a amostra durante 10 minutos em temperatura ambiente na bancada para permitir a sedimentação de grandes partículas de fezes.

4. Transfira, pelo menos, 400 µl de sobrenadante do topo da suspensão para um novo tubo com tampa rosqueada de 1,5 ml sem carryover de grandes partículas de fezes.

 Certifique-se de que não sejam transferidas quaisquer partículas de fezes sólidas com o sobrenadante para o instrumento EZ1. A presença de grandes partículas de fezes na amostra pode resultar na obstrução da ponteira de filtro do instrumento EZ1/EZ2.

5. Incube a amostra durante 10 minutos a 70 °C em banho-maria* ou em um agitador térmico.*

6. Avance para o protocolo de purificação (página 42 ou 51).

 Para amostras de fezes, é recomendável usar um volume de amostra de 200 µl para extração e um volume de 120–150 µl para eluição. Volumes de amostra mais elevados e volumes de eluição mais reduzidos podem resultar em uma sensibilidade reduzida das aplicações a jusante.

 Se os eluatos obtidos das fezes estiverem turvos, recomendamos que centrifugue à velocidade máxima (20.000 x g) durante 3 minutos para tornar os eluatos mais claros. Isto não terá qualquer impacto negativo em eluatos claros, mas irá melhorar o desempenho dos eluatos turvos em aplicações a jusante.

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

Protocolo: Pré-tratamento para isolamento de DNA genômico de bactérias gram-positivas

A extração de DNA pode ser melhorada para algumas bactérias gram-positivas por meio de pré-tratamento enzimático antes da transferência da amostra para o instrumento EZ1/EZ2 Connect MDx. Este protocolo não se destina a ser usado com amostras de fezes.

Procedimento:

1. Peletize as bactérias por centrifugação durante 10 minutos a 5000 x g.
2. Suspenda os pellets bacterianos em 180 µl de solução enzimática (20 mg/ml de lisozima; 20 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM de EDTA; Triton X-100 a 1,2%) em um tubo com tampa rosqueada de 2 ml.
3. Coloque em banho-maria* ou agitador térmico* e incube por pelo menos 30 minutos a 37 °C.
4. Centrifugue brevemente o tubo para remover as gotas do interior da tampa.
5. Avance para o protocolo de purificação (página 42 ou 51).

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

Protocolo: Purificação de ácidos nucleicos virais e DNA bacteriano usando o EZ2 Connect MDx

Pontos importantes antes de começar

- Se estiver usando o EZ1 DSP Virus Kit pela primeira vez, leia "Armazenamento e manuseio dos reagentes", "Armazenamento e manuseio de espécimes" e "Trabalhando com instrumentos EZ2 Connect MDx" começado na página 16.
- Os cartuchos de reagentes (RCV) contêm sais de guanidina e, portanto, não são compatíveis com reagentes desinfetantes que contenham alvejante. Tome as medidas de segurança apropriadas e use luvas durante o manuseio. Consulte a página 12 sobre Informações de segurança.
- Realize todas as etapas do protocolo em temperatura ambiente (15–25 °C). Durante o procedimento de configuração, trabalhe rapidamente.
- Assim que receber o kit, verifique se há algum dano nos respectivos componentes. Se os cartuchos de reagentes (RCV) ou outros componentes do kit estiverem danificados, entre em contato com a Assistência Técnica da QIAGEN ou com o seu distribuidor local. Em caso de derramamento de líquidos, consulte "Avisos e precauções" (página 12). Não use cartuchos de reagentes (RCV) danificados nem componentes de outros kits, pois o seu uso pode causar prejuízo ao desempenho do kit, lesões no usuário ou danos ao instrumento. Não remova o selo do RCV.

O que fazer antes de começar

- Prepare o soro, o plasma, o LCR ou os swabs nasofaríngeos em UTM, conforme descrito em "Armazenamento e manuseio de espécimes", página 18. Se os crioprecipitados estiverem visíveis nas amostras descongeladas, centrifugue a 6800 x g durante 3 minutos, transfira os sobrenadantes para tubos novos sem agitar os pellets e inicie o procedimento de purificação imediatamente.

- Prepare as amostras de fezes, conforme descrito em "Armazenamento e manuseio de espécimes", na página 18 e "Protocolo: Pré-tratamento de fezes", na página 39.
- Para o isolamento do DNA de bactérias gram-positivas, prepare as amostras conforme descrito em "Protocolo: Pré-tratamento para isolamento de DNA genômico de bactérias gram-positivas" (página 41).
- Prepare uma solução de estoque de RNA carreador (CARRIER) (com controle interno [Internal Control, IC] opcional) antes de seu primeiro uso. Dissolva o RNA carreador (CARRIER) liofilizado em 310 µl de tampão de eluição (AVE) (fornecido no kit) e misture-o com o controle interno (Internal Control, IC) (opcional), conforme descrito em "Preparação do RNA carreador (CARRIER)" (página 36) e "Uso de um controle interno (Internal Control, IC)" (página 37).

Procedimento

1. Para cada amostra, prepare uma solução de 60 µl de RNA carreador que contenha 3,6 µl de RNA carreador (CARRIER) dissolvido (com controle interno [Internal Control, IC] opcional) em um tubo (ET) de 1,5 ml (fornecido). Misture cuidadosamente, pipetando a solução 10 vezes. Não agite em vórtex.

O tubo (ET) de 1,5 ml é carregado na linha B, conforme especificado nas instruções na tela.



Certifique-se de que a solução de RNA carreador (CARRIER) esteja no fundo do tubo (ET) de 1,5 ml para que a quantidade adequada possa ser transferida pelo instrumento E22 Connect MDx.

2. Equilibre até 24 amostras em temperatura ambiente (15–25 °C) e transfira amostras de 100, 200 ou 400 µl em tubos de amostra (ST) de 2 ml (sem saia; fornecidos com o kit) antes de carregar na mesa de trabalho. Se estiver usando amostras congeladas, descongele-as e equilibre-as em temperatura ambiente e misture-as bem em vórtex. Recomenda-se um volume de amostra de 200 µl para a extração de ácidos nucleicos virais/bacterianos de fezes. Para o pré-tratamento de amostras, consulte o protocolo de pré-tratamento adequado.

- ❗ Use apenas tubos (ST) de 2 ml (sem saia) fornecidos com o kit.
- ❗ Não volte a congelar as amostras descongeladas nem armazene as amostras por mais de 6 h a 2–8 °C, uma vez que isso pode resultar na redução significativa dos rendimentos dos ácidos nucleicos virais ou do DNA bacteriano.
- ❗ Evite a transferência de material de amostra obstruído nos tubos de amostra. Isso pode gerar o cancelamento do procedimento e uma possível falha do instrumento.
- ❗ Não use volumes de amostra superiores a 100, 200 ou 400 µl. Depois da lise e da ligação dos ácidos nucleicos virais ou do DNA bacteriano às partículas magnéticas, uma parte do lisado é transferida para o tubo de amostra (ST). Não reutilize nenhum material de amostra deixado no tubo de amostra (ST).

3. Ligue o instrumento EZ2 Connect MDx.

O interruptor de alimentação está localizado na parte frontal direita do instrumento.

4. Faça login no instrumento escolhendo o modo IVD do software. Insira a ID de usuário e a senha.

O software do EZ2 Connect MDx guiará você pelo processo de configuração da execução de protocolo. O processo é iniciado tocando no botão SCAN (LEITURA) ou LIMS na guia de configuração.

- ❗ Para configurar uma execução usando a função/o botão LIMS, consulte o *Manual do usuário do EZ2 Connect MDx*.

5. Pressione Scan (Leitura) e toque no campo que aparece na tela seguinte. Leia o código de barras 1D no Q-Card fornecido com o kit.

Ao ler o código de barras 1D no Q-Card, o tipo de protocolo é automaticamente selecionado.

- ❗ Se a leitura do Q-Card falhar, é possível também digitar o número do kit por meio da interface do usuário.

 A leitura do Q-card é possível apenas se todos os procedimentos de manutenção forem concluídos. Caso contrário, inicie o procedimento de manutenção primeiro, antes de ler o Q-card.

 Não use RCV vencido, pois isso gera limitação de desempenho; as amostras serão sinalizadas como inválidas.

6. Toque em Next (Seguinte) para continuar.

Nota: Para voltar à tela Setup (Configuração), toque em Back (Voltar) ou Cancel (Cancelar).

7. Escolha parâmetros de protocolo diferentes tocando na caixa próxima a cada opção de parâmetro.

8. Toque em Next (Seguinte) para continuar.

9. Para selecionar as posições de suas amostras, toque nas linhas relevantes no diagrama da mesa de trabalho ou toque nos números de linhas correspondentes embaixo do diagrama. As posições selecionadas são realçadas. Para selecionar ou anular todas as posições, toque no botão de alternância Select all (Selecionar tudo).

 Após pelo menos uma posição de amostra estar selecionada, o botão Next (Seguinte) é ativado.

10. Toque em Next (Seguinte) para continuar.

11. Insira as IDs de amostra, manualmente ou usando o leitor de código de barras portátil.

 Ao usar o leitor de código de barras, certifique-se de que o código de barras usado tem o tipo e a qualidade adequados para ser lido pelo leitor.

 As IDs de amostra podem ser alteradas manualmente tocando na ID e usando o teclado na tela.

 As IDs de amostra devem ser únicas. O botão Next (Seguinte) não é ativado até que IDs de amostra únicas sejam inseridas em todas as amostras.

 Verifique a ID de Amostra para correção antes de prosseguir com a configuração.

12. Toque em Next (Seguinte) para continuar.
13. Abra a porta e remova os racks de cartuchos e de ponteiras (também chamado de suporte de utensílios de laboratório) do instrumento. Coloque-os em segurança sobre a bancada. Para remover um rack de ponteiras, segure os dois lados do rack e puxe para cima gentilmente.
 -  Dependendo das posições escolhidas para as amostras, remova os racks do lado esquerdo e/ou direito da mesa de trabalho.
 -  Não alterne os racks de cartuchos e de ponteiras entre diferentes instrumentos.
14. Inverta os cartuchos de reagentes (RCV) 4 vezes para misturar as partículas magnéticas. Consulte "O que fazer antes de começar" antes de usar o RCV.
15. Coloque o RCV dentro do rack de cartuchos, pressione o cartucho para baixo até encaixar no devido lugar.
16. Coloque um tubo de amostra (ST) vazio (sem saia; fornecido com o kit) no poço 11 de cada RCV carregado.
 -  Certifique-se de que o tubo de amostra vazio (ST) esteja carregado e sem uma tampa.

O tubo vazio é necessário para a etapa de lise do protocolo. O instrumento EZ2 Connect MDx não detecta a presença do tubo.
17. Quando o RCV estiver preparado, coloque os racks de cartuchos na mesa de trabalho.
 -  Certifique-se de que os racks estejam colocados na posição correta e que os números de posições estejam gravados no rack. A leitura numérica é de 1 a 24 da esquerda para a direita.
18. Toque em Next (Seguinte) para continuar.
19. Carregue os tubos com CARRIER (Internal Control, IC) (tubos de eluição de 1,5 ml, ET; fornecido com o kit) na linha B do rack de ponteiras ("suporte de materiais de laboratório").

Consulte "Preparação do RNA carreador (CARRIER)" (página 36) e "Anexo B: Cálculo da quantidade de controle interno (Internal Control, IC)" (página 89) para obter mais detalhes sobre a preparação de mistura de CARRIER (Internal Control, IC).

- ① Certifique-se de que os tubos de eluição (ET) de 1,5 ml contendo volume de CARRIER (Internal Control, IC) suficiente estejam carregados e sem uma tampa.

20. Coloque as ponteiras no suporte de ponteiras e carregue-as na linha C do rack.

- ① Ao preparar as ponteiras e o suporte de ponteiras, toque apenas na parte superior das ponteiras usando luvas.

21. Carregue os tubos de eluição (ET) de 1,5 ml na linha D do rack.

- ① Certifique-se de que os tubos de eluição estejam carregados e sem uma tampa.

22. Carregue os tubos de amostra (ST) (sem saia) de 2 ml contendo amostras de 100, 200 ou 400 µl (de acordo com o parâmetro de protocolo selecionado) na linha A do rack.

- ① Certifique-se de que os tubos de amostra estejam carregados nas posições corretas conforme selecionado na etapa 11. Opcional: Use o modelo do "Anexo C: Ficha de amostra para uso com o sistema EZ1 DSP Virus" para rastrear a ID e a posição da amostra.

- ① Certifique-se de que os tubos de amostra estejam carregados e sem uma tampa.

- ① Certifique-se de que os tubos de amostra contenham o volume correto de material de amostra. A verificação de carga não detecta se o volume de amostra correto está carregado.

- ① Evite a formação de espuma ou bolhas na parte superior da amostra ou na borda dos tubos de amostra, pois isso pode gerar erros de verificação de carga.

- ① Inicie imediatamente o protocolo após colocar as amostras na mesa de trabalho, pois o armazenamento prolongado no instrumento pode levar a evaporação ou afetar a estabilidade do sistema.

23. Uma vez que todos os tubos e ponteiras estiverem carregados, coloque cada rack de ponteiras (rack esquerdo e direito) na mesa de trabalho e feche a tampa.
- ❗ Certifique-se de que os racks estejam colocados na posição correta e que os números de posições estejam gravados no rack. A leitura numérica é de 1 a 24 da esquerda para a direita. Coloque sempre os racks de ponteiras na mesa de trabalho independentemente das posições de amostras usadas.
24. Toque em Next (Seguinte) para continuar.
25. Verifique se as informações na tela de visão geral da configuração de execução estão corretas para protocolo, volume de amostras e eluição e número de amostras.
26. Se todas as informações estiverem corretas, toque em Start (Iniciar) para prosseguir com a execução do protocolo.
- ❗ Para fazer quaisquer alterações, toque em Return (Voltar) para voltar para a configuração de execução.
27. A verificação de carga será realizada agora. O protocolo iniciará automaticamente após a verificação de carga ser concluída com sucesso.
- ❗ Aguarde até que a verificação de carga seja concluída com sucesso antes de deixar o instrumento sem supervisão. Caso haja uma falha na verificação de carga (por ex., devido a erros durante a configuração da mesa de trabalho), a execução não iniciará e a ação de um operador será necessária. Se o instrumento estiver sem supervisão por um longo período de tempo, a estabilidade das amostras e dos reagentes pode ser prejudicada.
- Prossiga para a etapa 30 após a verificação de carga bem-sucedida.
28. Se a verificação de carga falhar, a tela "Load check failed" (Falha na verificação de carga) aparecerá. O posicionamento incorreto dos materiais de laboratório é marcado em vermelho. Toque nas respectivas colunas para obter mais detalhes sobre erros de verificação de carga.
- ❗ Verifique visualmente o carregamento das posições destacadas na mesa de trabalho. Não repita novas execuções de verificações de carga com falhas antes de completar, primeiro, a inspeção visual.

i Para obter informações detalhadas sobre as limitações e falhas da verificação de carga, consulte o *Manual do usuário do EZ2 Connect MDx*.

29. Quando o carregamento correto da mesa de trabalho estiver confirmado, toque em Next (Seguinte) na tela "Load the tip rack" (Carregar racks de ponteiras). A tela "Run setup selection overview" (Visão geral de seleção da configuração de execução) aparecerá. O botão Skip load check (Ignorar verificação de carga) ficará disponível. Toque em Skip load check (Ignorar verificação de carga) ou Start (Iniciar) para prosseguir com a execução de protocolo.

i Ao escolher a opção Skip load check (Ignorar verificação de carga), fica sob a responsabilidade do operador verificar visualmente para confirmar o posicionamento correto de TODOS os consumíveis em TODAS as posições da mesa de trabalho.

Importante: A verificação de carga ignorada será gravada no relatório de execução e todas as amostras serão sinalizadas como inválidas.

i Importante: Se a verificação de carga falhar pela segunda vez, remova as amostras e o CARRIER (Internal Control, IC) da mesa de trabalho, feche os tubos e armazene-os em condições adequadas. Recalibre a câmera e entre em contato com o Suporte técnico da QIAGEN para obter suporte adicional.

30. Após a conclusão bem-sucedida da verificação de carga, o progresso da execução e o tempo de execução decorrido serão exibidos na tela "Protocol run in progress" (Execução de protocolo em andamento).

31. Quando o protocolo é concluído com sucesso, a tela "Protocol run completed" (Execução de protocolo concluída) aparece.

32. Abra a tampa, remova cuidadosamente os racks de ponteiras e coloque-os na bacada. Primeiro, remova o DNA/RNA purificado da linha D. Evite tocar em outros tubos enquanto remove os únicos tubos de eluição (ET). Feche os tubos de eluição com as tampas fornecidas com o kit.

i Remova e armazene imediatamente os eluatos após a execução estar concluída.

33. Descarte os resíduos do preparo de amostras da linha A*. Descarte os suportes de ponteiros e as ponteiros, bem como os tubos com CARRIER (Internal Control, IC).
- ❗ Siga os regulamentos de segurança locais para o descarte de resíduos.
34. Remova os racks de cartuchos e descarte o RCV e o tubo do poço 11.
- ❗ Remova e descarte o tubo do poço 11 de cada cartucho primeiro, antes de remover o RCV. Caso contrário, o RCV não poderá ser removido do rack de cartuchos.
 - ❗ Siga os regulamentos de segurança locais para o descarte de resíduos (consulte também "Avisos e precauções", na página 12).
35. Siga as instruções "After run maintenance" (Após manutenção da execução) e, em seguida, toque na caixa de verificação.
- ❗ A unidade de perfuração é afiada! É recomendável que use luvas duplas.
 - ❗ Para obter mais informações sobre procedimentos de manutenção, consulte o *Manual do usuário do EZ2 Connect MDx*.
36. Pressione o botão Finish (Concluir) para criar o relatório de execução e voltar para a tela inicial. O tempo para concluir a execução e o status de manutenção não são transferidos para o relatório de execução até que o botão Finish (Concluir) seja pressionado.
37. Após a última execução de cada dia, realize o procedimento de manutenção diária seguido de uma descontaminação UV.
38. Realize o procedimento de manutenção semanalmente, se necessário, após a manutenção diária.

* Os resíduos das amostras contêm sais de guanidina e, portanto, não são compatíveis com alvejante. Consulte a página 12 sobre Safety information.

Protocolo: Purificação de ácidos nucleicos virais e DNA bacteriano usando os instrumento EZ1

Pontos importantes antes de começar

- Se estiver usando o EZ1 DSP Virus Kit pela primeira vez, leia "Armazenamento e manuseio dos reagentes", "Armazenamento e manuseio de espécimes" e "Trabalhando com instrumentos EZ1" começado na página 16.
- Os cartuchos de reagentes (RCV) contêm sais de guanidina e, portanto, não são compatíveis com reagentes desinfetantes que contenham alvejante. Tome as medidas de segurança apropriadas e use luvas durante o manuseio. Consulte a página 12 sobre Avisos e precauções.
- Realize todas as etapas do protocolo em temperatura ambiente (15–25 °C). Durante o procedimento de configuração, trabalhe rapidamente.
- Assim que receber o kit, verifique se há algum dano nos respectivos componentes. Se os cartuchos de reagentes (RCV) ou outros componentes do kit estiverem danificados, entre em contato com a Assistência Técnica da QIAGEN ou com o seu distribuidor local. Em caso de derramamento de líquidos, consulte "Avisos e precauções" (página 12). Não use cartuchos de reagentes (RCV) danificados nem componentes de outros kits, pois o seu uso pode causar prejuízo ao desempenho do kit, lesões no usuário ou danos ao instrumento. Não remova o selo do RCV.
- Em algumas etapas do procedimento, é possível fazer uma de duas escolhas. Escolha ▲ se estiver usando o EZ1 Advanced ou o EZ1 Advanced XL; escolha ■ se estiver usando o BioRobot EZ1 DSP.

O que fazer antes de começar

- Prepare o soro, o plasma, o LCR ou os swabs nasofaríngeos em UTM, conforme descrito em "Armazenamento e manuseio de espécimes", página 18. Se os crioprecipitados estiverem visíveis nas amostras descongeladas, centrifugue a 6800 x g durante 3 minutos, transfira os sobrenadantes para tubos novos sem agitar os pellets e inicie o procedimento de purificação imediatamente.
- Prepare as amostras de fezes, conforme descrito em "Armazenamento e manuseio de espécimes", na página 18 e "Protocolo: Pré-tratamento de fezes", na página 39.
- Para o isolamento do DNA de bactérias gram-positivas, prepare as amostras conforme descrito em "Protocolo: Pré-tratamento para isolamento de DNA genômico de bactérias gram-positivas" (página 41)
- Prepare uma solução de estoque de RNA carreador (CARRIER) (com controle interno [Internal Control, IC] opcional) antes de seu primeiro uso. Dissolva o RNA carreador (CARRIER) liofilizado em 310 µl de tampão de eluição (AVE) (fornecido no kit) e misture-o com o controle interno (Internal Control, IC) (opcional), conforme descrito em "Preparação do RNA carreador (CARRIER)" e "Uso de um controle interno (Internal Control, IC)", páginas 36–37.

Procedimento

1. Para cada amostra, prepare uma solução de 60 µl que contenha 3,6 µl de RNA carreador (CARRIER) dissolvido (com controle interno [Internal Control, IC] opcional) em um tubo (ET) de 1,5 ml (fornecido). Misture cuidadosamente, pipetando a solução 10 vezes. Não agite em vórtex.

O tubo (ET) de 1,5 ml é carregado na linha 3, conforme especificado nas instruções na tela.



Certifique-se de que a solução de RNA carreador (CARRIER) esteja no fundo do tubo (ET) de 1,5 ml para que a quantidade adequada possa ser transferida pelo instrumento EZ1.

2. Equilibre amostras em temperatura ambiente (15–25 °C) e transfira amostras de 100, 200 ou 400 µl em tubos de amostras (ST) de 2 ml (sem saia; fornecido com o kit) antes de carregar na mesa de trabalho. Se estiver usando amostras congeladas, descongele-as e equilibre-as em temperatura ambiente e misture-as bem em vórtex.

Recomenda-se um volume de amostra de 200 µl para a extração de ácidos nucleicos virais/bacterianos de fezes. Para o pré-tratamento de amostras, consulte o protocolo de pré-tratamento adequado.

- ❗ Use apenas tubos (ST) de 2 ml (sem saia) fornecidos com o kit.
- ❗ Não volte a congelar as amostras descongeladas nem armazene as amostras por mais de 6 h a 2–8 °C, uma vez que isso pode resultar na redução significativa dos rendimentos dos ácidos nucleicos virais ou do DNA bacteriano.
- ❗ Evite a transferência de material de amostra obstruído nos tubos de amostra. Isso pode gerar o cancelamento do procedimento e uma possível falha do instrumento.
- ❗ Não use volumes de amostra superiores a 100, 200 ou 400 µl. Depois da lise e da ligação dos ácidos nucleicos virais ou do DNA bacteriano às partículas magnéticas, uma parte do lisado é transferida para o tubo de amostra (ST). Não reutilize nenhum material de amostra deixado no tubo de amostra (ST).

3. Insira ▲ completamente o EZ1 Advanced DSP Virus Card na fenda do EZ1 Advanced Card do EZ1 Advanced ou o EZ1 Advanced XL DSP Virus Card na fenda do EZ1 Advanced XL Card do EZ1 Advanced XL ou ■ o EZ1 DSP Virus Card na fenda do EZ1 Card do BioRobot EZ1 DSP.

4. Ligue o instrumento EZ1.

O interruptor de alimentação está localizado na parte traseira esquerda do instrumento.

5. Pressione START (Iniciar) para iniciar a configuração da mesa de trabalho do protocolo EZ1 DSP Virus.

6. Siga as instruções na tela relativas à configuração da mesa de trabalho, à seleção da variável do protocolo e ao ▲ acompanhamento de dados.
 - ❗ Inicie imediatamente o protocolo após colocar as amostras na mesa de trabalho, pois o armazenamento prolongado no instrumento pode levar a evaporação.
7. Abra a porta do instrumento.
8. Inverta os cartuchos de reagentes (RCV) 4 vezes para misturar as partículas magnéticas.
9. Carregue os cartuchos de reagentes no rack de cartuchos e pressione o cartucho para baixo até encaixar no devido lugar.
 - ❗ Caso existam menos do que 6 (BioRobot EZ1 DSP, EZ1 Advanced) ou 14 (EZ1 Advanced XL) cartuchos de reagentes (RCV), é possível carregá-los em qualquer ordem no rack. No entanto, quando carregar outros materiais de laboratório, certifique-se de que também sigam a mesma ordem.
 - ❗ ▲: Para o acompanhamento de dados, comece sempre carregando as amostras na posição A para o EZ1 Advanced e na posição 1 para o EZ1 Advanced XL. Coloque sucessivamente as amostras restantes nas próximas posições vagas da mesa de trabalho.
 - ❗ ▲: Ao usar a opção de detecção de dados, certifique-se de que a ID da amostra segue a mesma ordem das amostras na mesa de trabalho para evitar a mistura de dados.
10. Coloque um tubo (ST) de 2 ml vazio (sem saia; fornecido com o kit) no poço 11 de cada RCV.
 - ❗ Certifique-se de que o tubo de amostra vazio (ST) esteja carregado e sem uma tampa.

○ tubo vazio é necessário para a etapa de lise do protocolo.
11. Siga as instruções na tela para mais configurações da mesa de trabalho.

É necessária a preparação de tubos de eluição, ponteiras e suporte de ponteiras, tubos com CARRIER (Internal Control, IC), bem como tubos de amostras.

- ① Ao preparar as ponteiras e o suporte de ponteiras, toque apenas na parte superior das ponteiras usando luvas.
- ① Certifique-se de que os tubos de eluição (ET, tubos de 1,5 ml) estejam carregados e sem uma tampa.
- ① Certifique-se de que os tubos de amostra estejam carregados nas posições corretas conforme selecionado na etapa 9.
Opcional: Use o modelo do "Anexo C: Ficha de amostra para uso com o sistema EZ1 DSP Virus" para rastrear a ID e a posição da amostra.
- ① Certifique-se de que os tubos de amostra estejam carregados e sem uma tampa.
- ① Certifique-se de que os tubos de amostra conttenham o volume correto de material de amostra.
- ① Evite a formação de espuma ou bolhas na parte superior da amostra ou na borda dos tubos de amostra.
- ① Inicie imediatamente o protocolo após colocar as amostras na mesa de trabalho, pois o armazenamento prolongado no instrumento pode levar a evaporação.

12. Carregue o rack de cartucho preparado e o rack de ponteiras no instrumento.

- ① Não altere os racks de cartuchos e de ponteiras entre diferentes instrumentos.

13. Feche a porta do instrumento.

14. Pressione START (Iniciar) para iniciar o protocolo.

15. Quando o protocolo terminar, a tela exibe "Protocol finished" (Protocolo concluído).

▲ Pressione ENT para gerar o arquivo de relatório.

▲ O EZ1 Advanced e o EZ1 Advanced XL podem armazenar até 10 arquivos de relatório. Os arquivos de relatório podem ser diretamente impressos em uma impressora conectada ou transferidos para um computador.

16. Abra a porta do instrumento, remova cuidadosamente o rack de ponteiras e coloque-o na bacada.

17. Remova os tubos de eluição (ET) que contêm os ácidos nucleicos virais e/ou o DNA bacteriano purificado(s) da linha 1. Evite tocar em outros tubos enquanto remove os únicos tubos de eluição. Feche o ET com as tampas fornecidas com o kit.

 Remova e armazene imediatamente os eluatos da mesa de trabalho após a execução estar concluída.

18. Descarte os resíduos do preparo de amostras. * Descarte os suportes de ponteiras e as ponteiras, bem como os tubos com CARRIER (Internal Control, IC).

19. Remova o rack de cartucho e descarte o RCV incluindo o tubo do poço 11.

 Siga os regulamentos de segurança locais para o descarte de resíduos (consulte também "Avisos e precauções", na página 12).

20. ▲ Recomendado: Siga as instruções na tela para realizar a descontaminação UV das superfícies da mesa de trabalho.

21. Realize o procedimento de manutenção regular, por exemplo, execução UV, conforme descrito no manual do usuário fornecido com o instrumento EZ1.

A manutenção regular deve ser realizada no final de cada execução de protocolo. A mesma consiste na limpeza da unidade de perfuração e das superfícies da mesa de trabalho.

 A unidade de perfuração é afiada! É recomendável que use luvas duplas.

 Para obter mais informações, consulte o *Manual do usuário do EZ1 Advanced XL*.

22. Para executar outro protocolo, pressione START (Iniciar), realize as etapas 1 e 2 do protocolo e, em seguida, siga o protocolo a partir da etapa 5. Caso contrário, pressione STOP (Parar) duas vezes para voltar à primeira tela, feche a porta do instrumento e desligue o instrumento EZ1.

As etapas 3 e 4 não são necessárias ao executar outro protocolo. Ignore essas etapas.

* Os resíduos das amostras contêm sais de guanidina e, portanto, não são compatíveis com alvejante. Consulte a página 12 sobre Warnings and Precautions.

Controle de qualidade

De acordo com o sistema de gestão de qualidade com certificado ISO da QIAGEN, cada lote de EZ1 DSP Virus Kit é testado com relação a especificações predeterminadas para garantir a qualidade consistente do produto.

Limitações

O usuário é responsável por validar o desempenho do sistema em quaisquer procedimentos usados em seu laboratório que não estejam abrangidos pelos estudos de avaliação de desempenho da QIAGEN.

O desempenho do sistema foi estabelecido em estudos de avaliação de desempenho usando plasma, soro, LCR, fezes e swabs nasofaríngeos em UTM, para isolamento de ácidos nucleicos virais e DNA bacteriano e aplicações a jusante exemplares. Um alto desempenho geral depende da aplicação a jusante, o usuário é responsável por validar o desempenho de todo o fluxo de trabalho do diagnóstico, incluindo o preparo de amostras e a aplicação a jusante específica.

Para minimizar o risco de um impacto negativo nos resultados do diagnóstico, devem ser usados os controles adequados para aplicações a jusante. Para uma validação mais detalhada, recomendam-se as diretrizes da Conferência Internacional de Harmonização de Requisitos Técnicos (ICH) descritas no *ICH Q2 (R1) Validation Of Analytical Procedures: Text and Methodology* (Validação de Procedimentos Analíticos: Texto e Metodologia).

Quaisquer resultados de diagnóstico gerados devem ser interpretados em conjunto com outros resultados clínicos ou laboratoriais.

Características de desempenho

As características de desempenho aplicáveis estão disponíveis na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Guia de solução de problemas

Este guia de solução de problemas pode ser útil para resolver qualquer problema que possa surgir. Para obter mais informações, consulte também a página de perguntas frequentes (Frequently Asked Questions, FAQ) no nosso Centro de Suporte Técnico: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Os cientistas da Assistência Técnica da QIAGEN estão sempre prontos para responder quaisquer perguntas que você possa ter sobre as informações e/ou os protocolos neste manual ou sobre as tecnologias de amostragem e ensaio (para obter informações de contato, acesse www.qiagen.com).

Comentários e sugestões

Manuseio geral

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Mensagem de erro na tela do instrumento | Consulte o manual do usuário fornecido com o seu instrumento EZ1 ou EZ2. |
| b) | Arquivo de relatório não impresso (para EZ1) | Verifique se a impressora está conectada ao EZ1 Advanced ou ao EZ1 Advanced XL por meio da porta de série "PC/Printer" (PC/Impressora).
Verifique se a porta de série está configurada para uso com uma impressora. |
| c) | O arquivo de relatório não é enviado para o PC (para EZ1) | Verifique se o PC está conectado ao EZ1 Advanced ou ao EZ1 Advanced XL por meio da porta de série "PC/Printer" (PC/Impressora).
Verifique se a porta de série está configurada para uso com um PC. |
| d) | ID do Q-card incorreta inserida (para EZ1) | Caso tenha sido inserida a ID incorreta em vez da ID do Q-Card, o EZ1 Advanced ou o EZ1 Advanced XL não aceitará a ID e solicitará a ID do Q-Card até que a ID correta seja introduzida. Pressione STOP (Parar) duas vezes para acessar o menu principal. |
| e) | ID do Q-card incorreta inserida (para EZ2 Connect MDx) | Se a ID incorreta foi inserida em vez da ID do Q-card, o EZ2 Connect MDx não exibirá o protocolo correto a ser usado. Insira a ID do Q-card correta para exibir o protocolo necessário.
O EZ2 Connect MDx verifica durante a verificação de carga, se o protocolo escolhido e os cartuchos de reagentes carregados coincidem. Se o protocolo incorreto foi escolhido devido a uma ID de Q-card incorreta, cancele a execução configurando a execução de instrumento do início. |

Baixo rendimento de ácidos nucleicos virais ou DNA bacteriano

- | | | |
|----|---|--|
| a) | As partículas magnéticas não foram completamente ressuspendas | Certifique-se de ressuspend completamente as partículas magnéticas antes de carregar os cartuchos de reagentes (RCV) no suporte. |
|----|---|--|

Comentários e sugestões

b)	Reagente insuficiente aspirado	Depois de inverter os cartuchos de reagentes (RCV) para ressuspender as partículas magnéticas, certifique-se de que os reagentes do RCV estejam assentados no fundo dos poços.
c)	Volume de amostra incorreto no tubo de amostra	Certifique-se de pipetar o volume de amostra exato no tubo de amostra.
d)	Quantidade de amostra incorreta transferida (menos volume transferido do tubo de amostra do que o esperado)	Verifique se os tubos de amostra estão quase vazios após a execução. Verifique se o volume de amostra selecionado e fornecido são consistentes. Verifique se o material de amostra restante nos tubos não contém coágulos ou precipitados. Verifique o status de lubrificação dos anéis de vedação do pipetor (manutenção semanal).
e)	Reagentes carregados na mesa de trabalho na ordem errada	Certifique-se de que todos os tubos (ET, ST) e suportes de ponteiras (DTH) com ponteiras (DFT) estejam carregados na mesa de trabalho na ordem correta. Repita o procedimento de purificação com novas amostras.
f)	RNA carreador (CARRIER) não adicionado	Reconstitua o RNA carreador (CARRIER) liofilizado em 310 µl de tampão de eluição (AVE). Para cada amostra, use 3,6 µl desta solução de estoque de RNA carreador (CARRIER), misturada com controle interno (Internal Control, IC) (opcional) e tampão de eluição (AVE) adicional para um volume final de 60 µl, conforme descrito em "Preparação do RNA carreador (CARRIER)" e "Uso de um controle interno (Internal Control, IC)", páginas 36–37. Repita o procedimento de purificação com novas amostras.
g)	O RNA carreador (CARRIER) e o tampão de eluição (AVE) não foram devidamente misturados	Misture o RNA carreador (CARRIER), o controle interno (Internal Control, IC) (opcional) e o tampão de eluição (AVE) pipetando, pelo menos, 10 vezes.
h)	RNA degradado	O RNA pode ter sofrido degradação devido às RNases nas amostras originais. Certifique-se de que as amostras sejam processadas imediatamente após a coleta ou a remoção do armazenamento.

O RNA ou DNA não tem um bom desempenho em aplicações a jusante

a)	Pouco ou nenhum ácido nucleico no eluído	Consulte "Baixo rendimento de ácidos nucleicos virais ou DNA bacteriano", na página 60, para obter possíveis motivos. Aumente a quantidade de eluato adicionado à reação enzimática a jusante, se possível.
b)	As amostras congeladas não foram misturadas corretamente após o descongelamento	Descongele as amostras congeladas em temperatura ambiente (15–25 °C) e misture-as em um agitador de vórtex de pulso durante 15 s.
c)	Ácidos nucleicos nas amostras já deterioradas antes da purificação	Isto pode ocorrer caso as amostras tenham sido novamente congeladas depois de um descongelamento ou armazenadas em temperatura ambiente durante muito tempo. Sempre use as amostras frescas ou descongeladas apenas uma vez. Repita o procedimento de purificação com novas amostras.

Comentários e sugestões

- | | | |
|----|---|--|
| d) | Lise insuficiente da amostra | Isto pode ocorrer caso os cartuchos de reagentes (RCV) tenham sido armazenados a temperaturas elevadas durante um período prolongado, o que resulta na inativação da proteinase K. Repita o procedimento de purificação usando amostras e cartuchos de reagentes (RCV) novos. |
| e) | Carryover de sal durante a eluição | Para obter melhores resultados, certifique-se de que os cartuchos de reagentes (RCV) estejam a 20–30 °C. |
| f) | Demasiado ou muito pouco RNA carreador (CARRIER) no eluato | Determine a quantidade máxima de RNA carreador (CARRIER) adequada à reação de amplificação. Ajuste a concentração da solução de RNA carreador (CARRIER). |
| g) | Demasiado eluato na reação de amplificação | Determine o volume máximo de eluato adequado para sua reação de amplificação. Reduza o volume de eluato adicionado à reação de amplificação ou aumente o volume de eluição em conformidade. Se desejar, um controle positivo pode ser adicionado ao eluato para determinar o efeito do eluato na reação de amplificação. |
| h) | Desempenho variável dos ácidos nucleicos purificados em ensaios posteriores | Pode ter ocorrido a separação dos componentes de sal e de etanol do tampão de lavagem 1 ou do tampão de lavagem 2 no cartucho (RCV) devido a um armazenamento prolongado. Inverta sempre por completo os cartuchos (RCV) e certifique-se de que os reagentes do RCV estejam assentados no fundo dos poços. |
| i) | Falta de sensibilidade devido a substâncias inibidoras | <p>Aumente o volume de eluição. Se desejar, um controle positivo pode ser adicionado ao eluato para determinar o efeito do volume de eluição na reação de amplificação.</p> <p>Se os eluatos obtidos das amostras de fezes estiverem turvos, recomendamos que centrifugue à velocidade máxima (20.000 x g) durante 3 min. para tornar os eluatos mais claros. Isto não terá qualquer impacto negativo em eluatos claros, mas irá melhorar o desempenho dos eluatos turvos em aplicações a jusante. Transfira o eluato após a centrifugação para um novo tubo sem alterar o pellet.</p> |
| j) | Nova combinação de Taq DNA polimerase e transcriptase reversa | Se as enzimas tiverem mudado, poderá ser necessário reajustar a quantidade de RNA carreador (CARRIER) adicionado ao tampão de eluição (AVE) e a quantidade de eluato usado. |
| k) | Carryover de partículas magnéticas | O carryover de partículas magnéticas nos eluatos não irá afetar a maioria das aplicações a jusante, incluindo RT-PCR. Caso seja necessário minimizar o risco de carryover de partículas magnéticas (por exemplo, para aplicações como real-time PCR), coloque primeiro os tubos com eluato em um separador magnético adequado durante 1 minuto e, em seguida, transfira os eluatos para tubos limpos. Caso não se encontre disponível nenhum ímã adequado, centrifugue os tubos com eluato durante 1 minuto, à velocidade máxima, em uma microcentrífuga, para peletizar quaisquer partículas magnéticas restantes e transfira os sobrenadantes para tubos limpos. |

Símbolos

Os seguintes símbolos são exibidos nas instruções de uso ou na embalagem e no rótulo:

Símbolo	Definição do símbolo
	Contém reagentes suficientes para <N> reações
	Data de validade
	Este produto atende aos requisitos do Regulamento Europeu 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Número de referência
	Número de lote
	Número do material (isto é, etiquetagem do componente)
	Identificador único do dispositivo
	Componentes

Símbolo	Definição do símbolo
	Contém
	Número
	Volume
	Número global de item comercial
Rn	R representa a revisão das Instruções de uso e n representa o número de revisão
	Limites de temperatura
	Endereço/Fabricante legal
	Nota importante
	Consultar as instruções de uso
	Conservar ao abrigo da luz solar
	Aviso/cuidado

Símbolo

Definição do símbolo

USE	Apenas para uso com
REAG CART VIRUS	RCV: Cartucho de reagentes Vírus
CAR RNA	CARRIER: RNA carreador
ELU BUF	AVE: Tampão de eluição AVE
DISP FILT TIP	DFT: Ponteiras com filtro descartáveis
DISP TIP HOLD	DTH: Suporte de ponteiras descartáveis
SAMP TUBE	ST: Tubo de amostra
ELU TUBE	ET: Tubo de eluição
GITC	Isotiocianato de guanidina
GuHCl	Cloridrato de guanidina
EtOH	Etanol
IPA	Isopropanol
LiCl	Cloreto de lítio

Símbolo

Definição do símbolo



Proteinase K



Este lado para baixo ao abrir

Informações de contato

Para obter assistência técnica e mais informações, consulte o nosso Centro de Suporte Técnico no site www.qiagen.com/Support, ligue para 00800-22-44-6000 ou entre em contato com um dos Departamentos de Assistência Técnica da QIAGEN ou os distribuidores locais (consulte o verso do manual ou acesse www.qiagen.com).

Anexo A: Exibição de mensagens nos instrumento EZ1/EZ2

As mensagens exibidas pelo protocolo de software nos instrumentos EZ1 durante a configuração da mesa de trabalho e durante e após a execução do protocolo estão listadas nas Tabelas 2–4. Os números das mensagens listadas nas tabelas correspondem aos números das mensagens exibidas pelo software.

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

Para obter informações sobre mensagens de erro em geral do EZ2 Connect MDx, consulte o respectivo manual do usuário. Entre em contato com a assistência técnica da QIAGEN para obter suporte de solução de problemas.

Tabela 2. Mensagens exibidas no procedimento do EZ1 Advanced XL DSP Virus

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL
Nenhum	Orientação	Date/time START: Run 1: UV 2: Manual 3: Test 4: Setup (Data/Hora INICIAR: Execução 1: UV 2: Man 3: Teste 4: Configuração)
1	Orientação	EZ1 Advanced XL DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced XL DSP Virus Versão 1.0)
2	Acompanhamento de dados	Enter user ID ENT: Next (Insira a ID do usuário ENT: Próximo)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 2. Mensagens exibidas no procedimento do EZ1 Advanced XL DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL
3	Acompanhamento de dados	Enter Q-Card bar code ENT: Next (Inserir código de barras do Q-Card ENT: Próximo)
4	Orientação	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT: Back (Kit errado! Carregue o EZ1 DSP Virus Kit ENT: Voltar)
5	Orientação	Kit expired MMYY ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Kit expirado MMAA ENT: Use um novo kit ESC: Parar protocolo)
6	Acompanhamento de dados	Use Q-Card data with sample 1 to xx Enter 1 to 14 ENT: Next (Use os dados do Q-Card com a amostra 1 para xx insira de 1 a 14 ENT: Próximo)
7	Orientação	Do you want to process more samples with another kit lot? ENT: Yes, ESC: No (Deseja processar mais amostras com outro lote de kit? ENT: Sim, ESC: Não)
8	Acompanhamento de dados	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: Não (Deseja adicionar os ID da amostra? ENT: Sim, ESC: Não)
9	Acompanhamento de dados	Enter sample ID for sample no. [X] ENT: Next (Insira o ID da amostra para a amostra nº [X] ENT: Próximo)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 2. Mensagens exibidas no procedimento do EZ1 Advanced XL DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL
10	Acompanhamento de dados	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No (Deseja verificar os IDs das amostras? ENT: Sim, ESC: Não)
11	Acompanhamento de dados	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next (ID 1: ID 2: ID 3: BAIXO: Próximo)
12	Acompanhamento de dados	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back (ID 4: ID 5: ID 6: BAIXO: Próximo, CIMA: Voltar)
13	Acompanhamento de dados	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back (ID 7: ID 8: ID 9: BAIXO: Próximo, CIMA: Voltar)
14	Acompanhamento de dados	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back (ID 10: ID 11: ID 12: BAIXO: Próximo, CIMA: Voltar)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 2. Mensagens exibidas no procedimento do EZ1 Advanced XL DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL
15	Acompanhamento de dados	ID 13: ID 14: ESC: Rescan DOWN: Next, UP: Back (ID 13: ID 14: ESC: Reler BAIXO: Próximo, CIMA: Voltar)
16	Acompanhamento de dados	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Deseja adicionar informações de ensaio? ENT: Sim, ESC: Não)
17	Acompanhamento de dados	Enter assay ID for sample no. [X] ENT: Next (Insira o ID de ensaio para a amostra n° [x] ENT: Próximo)
18	Acompanhamento de dados	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No (Deseja verificar os IDs dos ensaios? ENT: Sim, ESC: Não)
19	Acompanhamento de dados	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Deseja adicionar notas? ENT: Sim, ESC: Não)
20	Acompanhamento de dados	Enter notes for sample no. [X] ENT: Next (Insira notas para a amostra n° [x] ENT: Próximo)
21	Acompanhamento de dados	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No (Deseja verificar as notas? ENT: Sim, ESC: Não)
22	Seleção	Select sample volume: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl (Selecione o volume da amostra: 1: 100 µl, 2: 200 µl, 3: 400 µl)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 2. Mensagens exibidas no procedimento do EZ1 Advanced XL DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL
23	Seleção	Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Selecione o volume de eluição: 1: 60 µl, 2: 90 µl, 3: 120 µl, 4: 150 µl)
24	Orientação	You have chosen: Sample volume: xxx µl Elution volume: yyy µl ENT: Next, ESC: Back (Você selecionou: volume da amostra xxx µl Volume de eluição: yyy µl ENT: Próximo, ESC: Voltar)
25	Orientação	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back (Carregue os cartuchos nas mesmas posições que as amostras ENT: Próximo, ESC: Voltar)
26	Orientação	Load empty 2 ml tubes into heating block ENT: Next, ESC: Back (Carregue tubos de 2 ml vazios no bloco de aquecimento ENT: Próximo, ESC: Voltar)
27	Orientação	Load elution tubes (1.5 ml) into first row ENT: Next, ESC: Back (Carregue os tubos de eluição [1,5 ml] na primeira linha ENT: Próximo, ESC Voltar)
28	Orientação	Load tip holders and tips into second row ENT: Next, ESC: Back (Carregue os suportes de ponteiros e as ponteiros na segunda linha ENT: Próximo, ESC: Voltar)
29	Orientação	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC into third row ENT: Next, ESC: Back (Carregue tubos de 1,5 ml com cRNA e IC na terceira linha ENT: Próximo, ESC: Voltar)
30	Orientação	Load 2 ml tubes with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back (Carregue tubos de 2 ml com amostra na quarta linha ENT: Próximo, ESC: Voltar)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 2. Mensagens exibidas no procedimento do EZ1 Advanced XL DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL
31	Orientação	Loading finished Close door and press START ESC: Back (Carregamento concluído Feche a porta e pressione INICIAR ESC: Voltar)
32	Orientação	Please close door! ENT: Next (Feche a porta! ENT: Próximo)
33	Orientação	Checking temperature Set: Cur: (Verificando temperatura Definida: Atual:)
34	Status	Protocol started (Protocolo iniciado)
35	Status	Piercing foil [x] of 43 min left (Perfurando folha [x] de 43 min. restantes)
36	Status	Collecting elution buffer AVE [x] of 43 min left (Coletando Elution Buffer AVE [x] de 43 min. restantes)
37	Status	Collecting cRNA + IC [x] of 43 min left (Coletando cRNA + IC [x] de 43 min. restantes)
38	Status	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Coletando tampão de lise [x] de 43 min. restantes)
39	Status	Collecting Sample [x] of 43 min left (Coletando amostra [x] de 43 min. restantes)
40	Status	Collecting Proteinase K [x] of 43 min left (Coletando proteinase K [x] de 43 min. restantes)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 2. Mensagens exibidas no procedimento do EZ1 Advanced XL DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL
41	Status	Mixing lysate [x] of 43 min left (Misturando lisado [x] de 43 min. restantes)
42	Status	15 min Incubation [x] of 43 min left (15 min. de incubação [x] de 43 min. restantes)
43	Status	Tip touch [x] of 43 min left (Toque da ponteira [x] de 43 min. restantes)
44	Status	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (Coletando tampão de ligação [x] de 43 min. restantes)
45	Status	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Coletando tampão de lise [x] de 43 min. restantes)
46	Status	Collecting Beads [x] of 43 min left (Coletando gotas [x] de 43 min. restantes)
47	Status	Resuspending Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left (Ressuspensando gotas em tampão de ligação [x] de 43 min. restantes)
48	Status	Transferring Lysate [x] of 43 min left (Transferindo lisado [x] de 43 min. restantes)
49	Status	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (Ligando separação magnética [x] de 43 min. restantes)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 2. Mensagens exibidas no procedimento do EZ1 Advanced XL DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL
50	Status	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Lavagem 1 Separação magnética [x] de 43 min. restantes)
51	Status	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Lavagem 2 Separação magnética [x] de 43 min. restantes)
52	Status	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Lavagem 3 Separação magnética [x] de 43 min. restantes)
53	Status	Drying Beads [x] of 43 min left (Secando gotas [x] de 43 min. restantes)
54	Status	Rinse [x] of 43 min left (Enxágue [x] de 43 min. restantes)
55	Status	Elution [x] of 43 min left (Eluição [x] de 43 min. restantes)
56	Orientação	Check transfer of cRNA + IC (row 3) ENT: Next (Verifique a transferência de cRNA + IC [linha 3] ENT: Próximo)
57	Orientação	Check transfer of sample (row 4) ENT: Next (Verifique a transferência de amostra [linha 4] ENT: Próximo)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 2. Mensagens exibidas no procedimento do EZ1 Advanced XL DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL
58	Orientação	Protocol finished ENT: Next (Protocolo concluído ENT: Próximo)
59	Acompanhamento de dados	Transferring report file Attempt no. (Transferindo arquivo de relatório, tentativa nº)
60	Nenhum	
Nenhum	Orientação	Report file sent Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k. (Arquivo de relatório enviado Ficou bem impresso? 1: OK, 2: Não OK)
61	Orientação	Report file sent ENT: Next (Arquivo de relatório enviado ENT: Próximo)
62	Orientação	Report file could not be sent ENT: Resend (Não foi possível enviar o arquivo de relatório ENT: Enviar novamente)
63	Orientação	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (Realizar execução UV? ENT: Sim, ESC: Não)
64	Orientação	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next (Remova eluatos e consumíveis da mesa de trabalho ENT: Próximo)
65	Orientação	UV decontamination: Enter 20-60 min ENT: Next (Descontaminação UV: Inserir 20–60 min. ENT: Próximo)
66	Orientação	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back (O tempo de descontaminação UV deve ser configurado entre 20-60 min ESC: Voltar)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 2. Mensagens exibidas no procedimento do EZ1 Advanced XL DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced XL
67	Orientação	UV decontamination Total time: min Time left: min (Descontaminação UV Tempo total: min Tempo restante: min)
68	Orientação	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (Realize manutenção regular depois de cada execução ESC: Menu principal)
69	Orientação	UV lamps expire soo UV runs left: ENT: Next (As lâmpadas de UV expiram em breve Execuções UV restantes: ENT: Próximo)
70	Orientação	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort (As lâmpadas UV expiraram ENT: Próximo, ESC: Cancelar)
71	Orientação	Decontamination UV lamps cooling Please stand by (Esfriamento das lâmpadas de descontaminação por UV Aguarde)
72	Orientação	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (Realize manutenção regular depois de cada execução ESC: Menu principal)

Tabela 3. Mensagens exibidas no procedimento EZ1 Advanced DSP Virus

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced
Nenhum	Orientação	Date/time START: Run 1: UV 2: Manual 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Data/hora INICIAR: Execução 1: UV, 2: Man, 3: Teste, 4: Configuração, Chave: INICIAR, 1, 2, 3, 4)
1	Orientação	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus Versão 1.0)
2	Acompanhamento de dados	Scan/enter user ID (Leia/insira a ID do usuário)
Nenhum	Orientação	Date/Time START: Run 1: UV 2: Manual 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Data/hora INICIAR: Execução 1: UV, 2: Man, 3: Teste, 4: Configuração, Chave: INICIAR, 1, 2, 3, 4)
1	Orientação	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus Versão 1.0)
2	Acompanhamento de dados	Scan/enter user ID (Leia/insira a ID do usuário)
3	Acompanhamento de dados	Scan/enter Q-Card barcode (Digitalize/insira o código de barras do Q-Card)
4	Orientação	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT=back (Kit errado! Carregue o EZ1 DSP Virus Kit ENT: Voltar)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 3. Mensagens exibidas no procedimento EZ1 Advanced DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced
5	Orientação	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Kit expirado ENT: Usar um novo kit, ESC: Parar protocolo)
6	Acompanhamento de dados	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6 (Use os dados do Q-Card com a amostra n° 1 para inserir 1 a 6)
7	Orientação	Do you want to process more samples with another kit lot? ENT: Yes, ESC: No (Deseja processar mais amostras com outro lote de kit? ENT: Sim, ESC: Não)
8	Acompanhamento de dados	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No (Deseja adicionar os ID da amostra? ENT: Sim, ESC: Não)
9	Acompanhamento de dados	Scan/enter sample ID sample no. [x] (Leia/insira o ID da amostra para a amostra n° [x])
10	Acompanhamento de dados	ID1: ID2: ID3: Next=ENT (ID1: , ID2: , ID3: Próximo = ENT)
11	Acompanhamento de dados	ID4: ID5: ID6: Next=ENT, ID1-3=Up (ID4: , ID5: , ID6: Próximo = ENT, ID1-3=Cima)
12	Acompanhamento de dados	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Deseja adicionar informações do ensaio? ENT: Sim, ESC: Não)
13	Acompanhamento de dados	Scan/enter assay ID ID sample no. [x] (Leia/insira o ID do ensaio ID de amostra n° [x])

A tabela continua na próxima página.

Tabela 3. Mensagens exibidas no procedimento EZ1 Advanced DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced
14	Acompanhamento de dados	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Deseja adicionar notas? ENT: Sim, ESC: Não)
15	Acompanhamento de dados	Scan/enter notes sample no. [X] (Leia/insira notas para a amostra n° [x])
16	Orientação	Select sample volume: 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl (Selecione o volume da amostra: 1: 100 µl, 2: 200 µl, 3: 400 µl)
17	Orientação	Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Selecione o volume de eluição: 1: 60 µl, 2: 90 µl, 3: 120 µl, 4: 150 µl)
18	Orientação	You have chosen: Sample volume: [xxx] µl Elution volume: [yyy] µl Next=Any, Prev.=Esc (Você selecionou: Volume da amostra: [xxx] µl, Volume de eluição: [yyy] µl Próximo=Qualquer, Anterior=Esc)
19	Orientação	Load cartridges at same positions as samples Next=Any, Prev=Esc (Carregue os cartuchos nas mesmas posições que as amostras Próximo=Qualquer, Anterior=Esc)
20	Orientação	Load empty 2.0 ml tubes into heating block Next=Any, Prev=Esc (Carregue tubos de 2,0 ml vazios no bloco de aquecimento Próximo=Qualquer, Anterior=Esc)
21	Orientação	Load elution tubes (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=Esc (Carregue os tubos de eluição [1,5 ml] na primeira linha Próximo=Qualquer, Anterior=Esc)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 3. Mensagens exibidas no procedimento EZ1 Advanced DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced
22	Orientação	Load tip holders and tips into second row Next=Any, Prev=Esc (Carregue os suportes de ponteiras e as ponteiras na segunda fila Próximo=Qualquer, Anterior=Esc)
23	Orientação	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC into third row Next=Any, Prev=Esc (Carregue tubos de 1,5 ml com cRNA e IC na terceira linha Próximo=Qualquer, Anterior=Esc)
24	Orientação	Load 2.0 ml tubes with sample into fourth row Next=Any, Prev=Esc (Carregue tubos de 2,0 ml com amostra na quarta linha Próximo=Qualquer, Anterior=Esc)
25	Orientação	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc (Carregamento concluído. Feche a porta e pressione INICIAR Anterior=Esc)
26	Orientação	Please close door! (Feche a porta!)
27	Orientação	Checking temperature Set: Cur: (Verificando temperatura Definida: Atual:)
28	Status	Protocol started (Protocolo iniciado)
29	Status	Piercing foil (Perfurando folha)
30	Status	Collecting Elution Buffer AVE (Coletando tampão de eluição AVE)
31	Status	Collecting cRNA + IC (Coletando cRNA + IC)
32	Status	Collecting Lysis Buffer (Coletando tampão de lise)
33	Status	Collecting Sample (Coletando amostra)
34	Status	Collecting Proteinase K (Coletando proteinase K)
35	Status	Mixing Lysate (Misturando lisado)
36	Status	15 min Incubation [x] of 43 min left (15 min. de incubação [x] de 43 min. restantes)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 3. Mensagens exibidas no procedimento EZ1 Advanced DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced
37	Status	Kick [x] of 43 min left (Início [x] de 43 min. restantes)
38	Status	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (Coletando tampão de ligação [x] de 43 min. restantes)
39	Status	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Coletando tampão de lise [x] de 43 min. restantes)
40	Status	Collecting Beads [x] of 43 min left (Coletando gotas [x] de 43 min. restantes)
41	Status	Resuspension of Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left (Ressuspensão de gotas em tampão de ligação [x] de 43 min. restantes)
42	Status	Transferring Lysate [x] of 43 min left (Transferindo lisado [x] de 43 min. restantes)
43	Status	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (Ligando Separação magnética [x] de 43 min. restantes)
44	Status	Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Lavagem 1 Separação magnética [x] de 43 min. restantes)
45	Status	Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Lavagem 2 Separação magnética [x] de 43 min. restantes)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 3. Mensagens exibidas no procedimento EZ1 Advanced DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced
46	Status	Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Lavagem 3 Separação magnética [x] de 43 min. restantes)
47	Status	Dry Beads [x] of 43 min left (Secando gotas [x] de 43 min. restantes)
48	Status	Rinse [x] of 43 min left (Enxágue [x] de 43 min. restantes)
49	Status	Elution [x] of 43 min left (Eluição [x] de 43 min. restantes)
50	Orientação	Check transfer of cRNA + IC (row 3) Next=Any (Verifique a transferência de cRNA + IC [linha 3] Próximo=Qualquer)
51	Orientação	Check transfer of sample (row 4) Next=Any (Verifique a transferência de amostra [linha 4] Próximo=Qualquer)
52	Orientação	Protocol finished (Protocolo concluído)
53	Acompanhamento de dados	Transfer Report file, attempt no. (Transferência do arquivo de relatório, tentativa n.º)
54	Orientação	Report file sent Next=ENT (Arquivo de relatório enviado Próximo=ENT)
55	Orientação	Report file could not be sent Resend=ENT (Não foi possível enviar o arquivo de relatório Reenviar=ENT)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 3. Mensagens exibidas no procedimento EZ1 Advanced DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do EZ1 Advanced
56	Orientação	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (Realizar execução UV?) ENT: Sim, ESC: Não)
57	Orientação	UV decontamination Set time min Key: 0-9, ENT (Descontaminação UV Configurar tempo min. Tecla: 0-9, ENT)
58	Orientação	UV decontamination. Time must be between 20-60 min Key:ESC (Descontaminação UV O tempo deve estar entre 20 e 60 min. Tecla:ESC)
59	Orientação	UV decontamination Time left: min (Descontaminação UV Tempo restante: min)
60	Orientação	Perform regular maintenance after each run ESC=Main menu (Realize manutenção regular depois de cada execução ESC=Menu principal)
61	Orientação	UV lamp expires soon UV runs left: ENT=Continue (A lâmpada de UV expira em breve Execuções UV restantes: ENT=Continuar)
62	Orientação	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort (A lâmpada UV expirou ENT=Continuar, ESC=Cancelar)
63	Orientação	Decontamination UV lamp cooling Please stand by (Descontaminação Esfriamento das lâmpadas UV Aguarde)

Tabela 4. Mensagens exibidas no procedimento do BioRobot EZ1 DSP Virus

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do BioRobot EZ1 DSP
Nenhum	Orientação	Date/Time START: Run 1: UV 2: Manual 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Data/hora INICIAR: Execução 1: UV, 2: Man, 3: Teste, 4: Configuração, Chave: INICIAR, 1, 2, 3, 4)
1	Orientação	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus Versão 1.0)
2	Acompanhamento de dados	Scan/enter user ID (Leia/insira a ID do usuário)
3	Orientação	Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Selecione o volume de eluição: 1: 60 µl, 2: 90 µl, 3: 120 µl, 4: 150 µl)
4	Orientação	You have chosen: Sample Volume:[sample volume] µl Elution Volume:[elution volume] µl Next=Any, Prev=ESC (Você selecionou: Volume de amostra: [volume de amostra] µl Volume de eluição: [volume de eluição] µl Próximo=Qualquer, Anterior=ESC)
5	Orientação	Load cartridges (RCV) at same positions as samples Next=Any, Prev=ESC (Carregue os cartuchos [RCV] nas mesmas posições que as amostras Próximo=Qualquer, Anterior=ESC)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 4. Mensagens exibidas no procedimento do BioRobot EZ1 DSP Virus (continuação)

Message number	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do BioRobot EZ1 DSP
6	Orientação	Load empty 2.0 ml tubes (ST) into heating block Next=Any, Prev=ESC (Carregue tubos [ST] de 2,0 ml vazios no bloco de aquecimento Próximo=Qualquer, Anterior=ESC)
7	Orientação	Load elution tubes (ET) (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=ESC (Carregue os tubos de eluição [ET] [1,5 ml] na primeira linha Próximo=Qualquer, Anterior=ESC)
8	Orientação	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC (Carregue os suportes de ponteiros (DTH) e as ponteiros (DFT) na segunda fila Próximo=Qualquer, Anterior=ESC)
9	Orientação	Load 1.5 ml tubes (ET) with (CARRIER) + IC in third row Next=Any, Prev=ESC (Carregue tubos de 1,5 ml [ET] com [CARRIER] + IC na terceira linha Próximo=Qualquer, Anterior=ESC)
10	Orientação	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample into fourth row Next=Any, Prev=ESC (Carregue tubos [ST] de 2,0 ml com amostra na quarta linha Próximo=Qualquer, Anterior=ESC)
11	Orientação	Start protocol Press START Prev=ESC (Inicie o protocolo Pressione INICIAR Anterior=ESC)
12	Status	Checking temperature Set: 63.0 [deg] Cur: [deg] (Verificando temperatura Definida: 63,0 [graus], Atual: [graus])
13	Status	Protocol started (Protocolo iniciado)
14	Status	Piercing Foil (Perfurando folha)
15	Status	Collecting Elution Buffer (AVE) (Coletando tampão de eluição [AVE])

A tabela continua na próxima página.

Tabela 4. Mensagens exibidas no procedimento do BioRobot EZ1 DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do BioRobot EZ1 DSP
16	Status	Collecting cRNA [CARRIER] + IC (Coletando cRNA [CARRIER] + IC)
17	Status	Collecting Lysis Buffer (Coletando tampão de lise)
18	Status	Collecting Sample (Coletando amostra)
19	Status	Collecting (Coletando)
20	Status	Mixing Lysate (Misturando lisado)
21	Status	Checking temperature Set: 56.0 [deg] Cur: [deg] (Verificando temperatura Definida: 56,0 [graus], Atual: [graus])
22	Status	15 min Incubation (15 min. de incubação)
23	Status	Kick (Início)
24	Status	Collecting Binding Buffer (Coletando tampão de ligação)
25	Status	Collecting Lysis Buffer (Coletando tampão de lise)
26	Status	Collecting Beads (Coletando gotas)
27	Status	Resuspension of Beads in Binding Buffer (Ressuspensão de gotas em tampão de ligação)
28	Status	Transferring Lysate (Transferindo lisado)
29	Status	Binding Magnetic Separation (Ligando separação magnética)
30	Status	Wash 1 Magnetic Separation (Lavagem 1 Separação magnética)
31	Status	Wash 2 Magnetic Separation (Lavagem 2 Separação magnética)
32	Status	Wash 3 Magnetic Separation (Lavagem 3 Separação magnética)
33	Status	Dry Beads (Secando gotas)
34	Status	Kick (Início)
35	Status	Dry Beads (Secando gotas)
36	Status	Kick (Início)

A tabela continua na próxima página.

Tabela 4. Mensagens exibidas no procedimento do BioRobot EZ1 DSP Virus (continuação)

Número da mensagem	Tipo de mensagem	Texto da mensagem do BioRobot EZ1 DSP
37	Status	Rinse (Enxágue)
38	Status	Checking temperature Set: 65.0 [deg] Cur: [deg] (Verificando temperatura Definida: 65,0 [graus], Atual: [graus])
39	Status	Elution (Eluição)
40	Orientação	Check transfer of cRNA (CARRIER) + IC (tube [ET], row 3) Next=Any (Verifique a transferência de cRNA [CARRIER] + IC [tubo (ET), linha 3] Próximo=Qualquer)
41	Orientação	Check transfer of sample (tube [ST], row 4) Next=Any (Verifique a transferência de amostra [tubo (ST), linha 4] Próximo=Qualquer)
42	Orientação	Protocol finished (Protocolo concluído!) Press ESC to return to Menu (Pressione ESC para voltar ao menu)

Anexo B: Cálculo da quantidade de controle interno (Internal Control, IC)

Para monitorar a eficiência do preparo de amostras e do ensaio posterior, pode ser necessário adicionar um controle interno (Internal Control, IC) ao processo de preparo de amostras. Para calcular a quantidade de controle interno (Internal Control, IC) necessário para o protocolo EZ1 DSP Virus, deve ser levado em consideração o volume do tampão com IC adicionado por amostra e o volume de eluição para um determinado ensaio.

Determinação da quantidade de controle interno (Internal Control, IC) que estará presente nas reações a jusante

Para determinar o volume de controle interno (Internal Control, IC) que estará presente em um determinado ensaio posterior, use a fórmula:

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

onde:

IC_{RXN} = Volume de controle interno (Internal Control, IC) por reação a jusante

IC_{LB} = Volume de controle interno (Internal Control, IC) adicionado ao tampão de lise (LB)

LB_{SAM} = Volume de tampão de lise (LB) por amostra

EL_{RXN} = Volume de eluato por reação a jusante

LB_{TOT} = Volume total de tampão de lise (LB) mais RNA carreador (CARRIER) usado no protocolo

EL_{SAM} = Volume de eluato por amostra

Como exemplo, usando um sistema de ensaio anteriormente estabelecido, o usuário 1 adiciona 39 μ l de solução de controle interno (Internal Control Solution, ICLB) a 8,4 ml de tampão de lise (LB) e 140 μ l de RNA carreador (CARRIER). Usando o procedimento de referência manual para o sistema de ensaio, são adicionados 625 μ l de tampão de lise (LB) por amostra (LB_{SAM}) e é usado um volume de eluição de 75 μ l (EL_{SAM}). O usuário 1 usa 50 μ l de eluato por reação a jusante (EL_{RXN}). O volume de solução de controle interno em cada reação a jusante (IC_{RXN}) é:

$$IC_{RXN} = \frac{39 \mu\text{l} \times 625 \mu\text{l} \times 50 \mu\text{l}}{(8540 \mu\text{l} + 39 \mu\text{l}) \times 75 \mu\text{l}} = 1,89 \mu\text{l}$$

As reações a jusante finais para o sistema de ensaio específico contêm 1,89 μ l de solução de controle interno por reação.

Determinação da quantidade de solução de controle interno a adicionar antes de começar

Se você souber qual é a quantidade de controle interno (Internal Control, IC) que pretende ter presente no ensaio posterior (IC_{RXN}), é necessário que determine a quantidade de controle interno (Internal Control, IC) a diluir com o tampão de eluição (AVE) e o RNA carreador (CARRIER) (IC_{AVE}) antes de iniciar a purificação. Para calcular este valor, use a fórmula:

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

onde:

IC_{AVE} = Volume de controle interno (Internal Control, IC) diluído no tampão de eluição-RNA carreador (AVE-CARRIER)

IC_{RXN}	=	Volume de controle interno (Internal Control, IC) por reação a jusante
IC_{TOT}	=	Volume total de controle interno (Internal Control, IC) diluído no tampão de eluição-RNA carreador (AVE-CARRIER) por execução
IC_{SAM}	=	Volume de controle interno (Internal Control, IC) diluído adicionado por amostra (50 μ l)
EL_{SAM}	=	Volume de eluato por amostra
EL_{RXN}	=	Volume de eluato por reação a jusante

Como exemplo, o usuário 2 está trabalhando com um ensaio otimizado para uso com 1,0 μ l de solução de controle interno por reação (IC_{RXN}) e 20 μ l de eluato por reação (EL_{RXN}). O usuário 2 segue o protocolo EZ1 DSP Virus e é selecionado um volume de eluição de 60 μ l (EL_{SAM}). Para cada amostra processada, é necessário pipetar manualmente um volume de 60 μ l de controle interno (Internal Control, IC) diluído no tubo (ET) de 1,5 ml na posição 3 da mesa de trabalho EZ1 ou linha B da mesa de trabalho EZ2. No entanto, durante o processo de preparo de amostras do protocolo EZ1 DSP Virus, o instrumento EZ1/EZ2 transferirá apenas 50 μ l de controle interno diluído (IC_{SAM}) do poço 3/linha B para a reação de ligação. Para 6 amostras sendo processadas em uma execução, o volume total de controle interno diluído (IC_{TOT}) a ser preparado é de:

$$IC_{TOT} = \text{Número de amostras por execução} \times 60 \mu\text{l}$$

$$= 6 \times 60 \mu\text{l} = 360 \mu\text{l}$$

O volume de solução de controle interno (IC_{AVE}) que o usuário 2 necessita para 6 amostras é:

$$IC_{AVE} = \frac{1 \mu\text{l} \times 360 \mu\text{l} \times 60 \mu\text{l}}{(50 \mu\text{l} \times 20 \mu\text{l})} = 21,6 \mu\text{l}$$

Para cada amostra, é necessário adicionar 3,6 μl de solução de estoque de RNA carreador (CARRIER) com 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ à diluição de IC. Para 6 amostras, é necessário calcular o volume total:

O volume total de estoque de RNA carreador = 6 x 3,6 μl de estoque de RNA carreador = 21,6 μl

Para um volume total final de 360 μl de controle interno (Internal Control, IC) diluído, é necessário que o usuário adicione o tampão de eluição (AVE):

$$\begin{aligned} \text{Volume de tampão de eluição (AVE)} &= IC_{TOT} - IC_{AVE} - \text{Volume de RNA carreador (CARRIER)} \\ &= 360 \mu\text{l} - 21,6 \mu\text{l} - 21,6 \mu\text{l} = 316,8 \mu\text{l} \end{aligned}$$

O usuário 2 necessita de adicionar 21,6 μl de solução de controle interno a 316,8 μl de tampão de eluição (AVE) e 21,6 μl de estoque de RNA carreador (CARRIER) para obter 360 μl de controle interno (Internal Control, IC) diluído. A partir deste controle interno (Internal Control, IC) diluído, é necessário transferir manualmente 60 μl para tubos (ET) de 1,5 ml na posição 3 da mesa de trabalho EZ1 ou linha B da mesa de trabalho EZ2 antes do início do protocolo EZ1 DSP Virus.

Anexo C: Ficha de amostra para uso com o sistema EZ1 DSP Virus

Este modelo de ficha de amostra pode ser útil para manutenção de registros ao usar o procedimento EZ1 DSP Virus. Esta ficha pode ser fotocopiada ou impressa e identificada com descrições das amostras e detalhes da execução.

Sistema EZ1 DSP Virus

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

Operador: _____ ID do ensaio: _____

Número de série do EZ1: _____

Posição na mesa de trabalho	Sample ID (ID da Amostra)	Material de amostra	RCV e tubo vazio carregados?	ST carregado?	ET carregado?	DTH com DFT carregado?	ET com CARRIER e IC carregado?
1 (esquerda)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14 (right) (direita)							

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

Operador: _____ ID do ensaio: _____

Número de série do EZ2: _____

Posição na mesa de trabalho	Sample ID (ID da Amostra)	Material de amostra	RCV e tubo vazio carregados?	ST carregado?	ET carregado?	DTH com DFT carregado?	ET com CARRIER e IC carregado?
1 (esquerda)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24 (right) (direita)							

Informações sobre pedidos

Produto	Índice	Nº de ref.
EZ1 DSP Virus Kit (48)	Para 48 preparações de ácidos nucleicos virais e/ou DNA bacteriano: Cartuchos de reagentes previamente preenchidos, suportes de ponteiras descartáveis, ponteiras com filtro descartáveis, tubos de amostra, tubos de eluição, tampões, RNA carreador	62724
EZ1 Advanced XL DSP Virus Card	Cartão pré-programado para o protocolo EZ1 DSP Virus; para uso com o instrumento EZ1 Advanced XL	9018703
EZ1 Advanced DSP Virus Card	Cartão pré-programado para o protocolo EZ1 DSP Virus; para uso com o instrumento EZ1 Advanced	9018306
EZ1 DSP Virus Card	Cartão pré-programado para o protocolo EZ1 DSP Virus; para uso com o instrumento BioRobot EZ1 DSP*	9017707
EZ1 Advanced XL	Instrumento robótico para a purificação automatizada de ácidos nucleicos de até 14 amostras utilizando os kits EZ1, garantia de 1 ano em peças e mão-de-obra*	9001492

* Garantia PLUS 2 (nº de ref. 9237720) recomendada: 3 anos de garantia, 1 visita anual de manutenção preventiva, resposta prioritária em 48 horas, toda a mão de obra, deslocamento e peças de reparação.

Produto	Índice	Nº de ref.
EZ2 Connect MDx	Instrumento de bancada para isolamento automatizado de ácidos nucleicos de até 24 amostras em paralelo utilizando os cartuchos dos kits EZ1 selados e previamente preenchidos; inclui garantia de 1 ano em peças e mão-de-obra Conectividade WiFi para LIMS e QIASphere fácil de usar	9003230
Buffer ASL (4 x 140 mL)	4 x 140 ml de Buffer ASL	19082

Para obter informações de licenciamento atualizadas e isenções de responsabilidade específicas do produto, consulte as Instruções de uso do kit QIAGEN correspondente. As Instruções de uso do kit QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados à assistência técnica da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Histórico de revisões do documento

Revisão	Descrição
R1, junho de 2022	<ul style="list-style-type: none">• Versão V5 do kit novo de acordo com o novo regulamento UE 2017/746 (IVDR)• Adição do uso do novo instrumento EZ2 Connect MDx• Atualização dos Materiais fornecidos (adição de ingredientes ativos)• Atualização da seção de limitações: remoção do material de amostra de sangue total, urina, swabs secos, expectoração do uso previsto• Atualização da seção Avisos e precauções• Atualização da seção Armazenamento e manuseio de reagentes• Atualização da estabilidade em uso do RNA carreador• Adição da seção Descarte• Atualização do Guia de solução de problemas
R2, novembro de 2022	Correção do número de referência e do nome do reagente na tabela de conteúdo do kit.

Acordo de licença limitada para o EZ1 DSP Virus Kit

O uso deste produto implica a aceitação, por parte de qualquer comprador ou usuário do produto, dos seguintes termos:

1. O produto deverá ser usado unicamente em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e com o presente manual e recorrendo ao uso exclusivo dos componentes contidos no painel. Nos termos dos direitos de propriedade intelectual, a QIAGEN não concede nenhuma licença para usar ou incorporar os componentes deste painel com quaisquer componentes não incluídos nele, salvo conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, no presente manual e em quaisquer protocolos adicionais disponíveis em www.qiagen.com. Alguns desses protocolos adicionais foram fornecidos pelos usuários da QIAGEN para os usuários da QIAGEN. Esses protocolos não foram testados por completo nem otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não garante nem fornece garantias de que eles não infringem os direitos de terceiros.
2. Com exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este painel e/ou o seu uso não infringem os direitos de terceiros.
3. Este painel e seus componentes estão licenciados para uso único e não podem ser reutilizados, reconstruídos ou revendidos.
4. A QIAGEN renuncia especificamente a quaisquer outras licenças, expressas ou implícitas, com exceção das expressamente indicadas.
5. O comprador e o usuário do painel concordam em não realizar nem permitir que outra pessoa realize qualquer etapa que possa levar a ou facilitar qualquer um dos atos proibidos acima. A QIAGEN poderá fazer cumprir as proibições deste Contrato de Licença Limitada em qualquer Tribunal e recuperará todos os seus custos de investigação e de Tribunal, incluindo honorários de advogados, em qualquer ação destinada a fazer cumprir este Contrato de Licença Limitada ou qualquer um de seus direitos de propriedade intelectual relativos ao painel e/ou seus componentes.

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

Marcas registradas: QIAGEN®, Sample to Insight®, EZ1®, EZ2®, BioRobot® (QIAGEN Group). Os nomes registrados, as marcas registradas etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tal, devem ser considerados protegidos pela lei.

Nov-2022 HB-3026-002 1129846PTBR © 2022 QIAGEN, todos os direitos reservados.

