

# Manuale del kit *virotype*<sup>®</sup> BVDV RT-PCR



24 (n° di catalogo 280373)



96 (n° di catalogo 280375)



480 (n° di catalogo 280377)

Per la rilevazione dell'RNA del  
virus della diarrea virale bovina

Registrazione in conformità al Paragrafo 17c della  
Legge sulle malattie animali in vigore in Germania (FluB 451)

**REF**

280373, 280375, 280377



QIAGEN Leipzig GmbH, Deutscher Platz 5b,  
04103 Leipzig, Germania



## Tecnologie per campioni e analisi QIAGEN

QIAGEN è il leader mondiale nelle tecnologie per campioni e analisi destinate all'estrazione e alla purificazione di acidi nucleici a partire da qualsiasi campione biologico. I nostri prodotti e i nostri servizi di alta qualità sono una garanzia di successo, dall'analisi del campione al risultato.

QIAGEN pone nuovi standard:

- nella purificazione di DNA, RNA e proteine
- nell'analisi di acidi nucleici e proteine
- nella ricerca su microRNA e RNAi
- nelle tecnologie automatizzate per campioni e analisi

Il nostro obiettivo è il vostro successo. Per maggiori informazioni, visitate il sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

QIAGEN fornisce inoltre soluzioni molecolari di elevata sensibilità, qualità e praticità d'uso per un'efficace identificazione e ricerca degli agenti patogeni degli animali. La suite di prodotti veterinari di QIAGEN include una vasta gamma di saggi PCR patogeno specifici e un'ampia e sempre più completa serie di saggi ELISA. Per maggiori informazioni, visitate il sito [www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing](http://www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing).

## **Indice generale**

<b>Contenuto del kit</b>	<b>4</b>
<b>Uso previsto</b>	<b>5</b>
<b>Simboli</b>	<b>7</b>
<b>Conservazione</b>	<b>7</b>
<b>Informazioni per la sicurezza</b>	<b>8</b>
<b>Controllo di qualità</b>	<b>8</b>
<b>Introduzione</b>	<b>9</b>
Principio	10
Estrazione dell'RNA	10
<b>Strumenti e reagenti non forniti</b>	<b>12</b>
<b>Note importanti</b>	<b>13</b>
Precauzioni generali	13
Controllo negativo	13
Controllo positivo	14
Controllo interno	14
<b>Protocollo:</b>	
■ <b>RT-PCR Real-time per l'identificazione del virus della diarrea bovina virale</b>	<b>15</b>
<b>Analisi e interpretazione dei dati</b>	<b>19</b>
<b>Guida alla risoluzione dei problemi</b>	<b>22</b>
<b>Informazioni per gli ordini</b>	<b>23</b>

## Contenuto del kit

<b><i>virotype</i> BVDV RT-PCR Kit</b>	<b>(24)</b>	<b>(96)</b>	<b>(480)</b>
<b>N° di catalogo</b>	<b>280373</b>	<b>280375</b>	<b>280377</b>
<b>N° di reazioni</b>	<b>24</b>	<b>96</b>	<b>480</b>
PCR Mix (Miscela PCR) (provetta con tappo giallo) contiene primer, sonde e controllo interno	1 x 500 µl	2 x 1000 µl	6 x 1650 µl
Enzyme Mix (Miscela enzimatica) (provetta con tappo verde)	1 x 6,5 µl	1 x 26 µl	2 x 65 µl
Positive Control (Controllo positivo) (provetta con tappo rosso)	1 x 25 µl	1 x 70 µl	2 x 50 µl
Negative Control (Controllo negativo) (provetta con tappo blu)	1 x 25 µl	1 x 70 µl	1 x 100 µl
Manuale	1	1	1

## Uso previsto

Il kit *virotype* BVDV RT-PCR è destinato alla rilevazione dell'RNA del virus della diarrea virale bovina in campioni di sangue, plasma, siero, latte e tessuto auricolare (singoli o in pool) da bestiame. Il kit *virotype* BVDV RT-PCR è destinato esclusivamente all'uso in laboratorio. Il kit è approvato dal Friedrich-Loeffler-Institut ed è registrato in conformità al Paragrafo 17c della Legge sulle malattie animali in vigore in Germania (FluB 451) per le procedure diagnostiche veterinarie. Solo per uso veterinario.



## Simboli



Contiene reagenti per <N> test



Produttore legale



Codice del lotto



Utilizzare entro la data indicata



Limiti di temperatura per la conservazione



Manuale



Numero di catalogo



Numero di materiale



Tenere al riparo dalla luce



Per campioni di bestiame

## Conservazione

I componenti del kit *virotype* BVDV RT-PCR devono essere conservati ad una temperatura compresa tra  $-15$  e  $-30^{\circ}\text{C}$  e sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente ( $>2x$ ) per non ridurre la sensibilità del saggio. Congelare i componenti in aliquote solo se verranno utilizzati in modo saltuario.

## Informazioni per la sicurezza

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le schede di sicurezza sul prodotto (SDS). Le schede sono disponibili online nel pratico formato PDF sul sito [www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx](http://www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx), dove è possibile cercare, visualizzare e stampare la scheda SDS di ogni kit e di ogni componente del kit QIAGEN.

Tutti i residui dei campioni e gli oggetti venuti a contatto con i campioni devono essere decontaminati o smaltiti come materiale potenzialmente infettivo.

## Informazioni di emergenza 24 ore su 24

Assistenza in caso di emergenza chimica o incidente disponibile 24 ore al giorno da:

CHEMTREC

**USA e Canada** ■ Tel: 1-800-424-9300

**Al di fuori di USA e Canada** ■ Tel: +1-703-527-3887  
(chiamate a carico accettate)

## Controllo di qualità

In conformità con il Sistema di Gestione della Qualità di QIAGEN, dotato di certificazione ISO, ogni lotto di *virotype* BVDV RT-PCR è stato sottoposto a test sulla base di specifiche tecniche predefinite, in modo da garantire la costante qualità del prodotto.

## Introduzione

La diarrea virale bovina (Bovine Viral Diarrhoea, BVD) e la malattia delle mucose (Mucosal Disease, MD) sono causate dal virus della diarrea virale bovina (Bovine Viral Diarrhoea Virus, BVDV I, II), un virus con RNA a filamento singolo. Appartiene al gene Pestivirus, come i classici virus della peste suina classica e della Border Disease negli ovini.

La BVD è una malattia del bestiame che ha rilevanza economica. A seconda dello stato immunitario degli animali, le infezioni da BVDV possono innescare sintomi gastrointestinali e respiratori di gravità variabile. Possono verificarsi inoltre problemi riproduttivi dovuti all'infezione transplacentare del feto, che può portare ad aborti, malformazioni congenite e, in caso di infezione anteriore all'immunocompetenza, a vitelli con infezione persistente o viremia. Soltanto l'infezione prenatale genera animali con infezione persistente, mentre l'infezione postnatale causa viremia transitoria, che comprende la produzione di anticorpi neutralizzanti.

Gli animali con infezione persistente non riconosciuta sono responsabili della diffusione del virus BVDV, in quanto emettono dosi elevatissime del virus durante la loro intera vita. In questo modo possono infettare animali femmine gravide che, a loro volta, possono dare la luce a nuovi animali con infezione persistente. La via maestra per sconfiggere la malattia consiste nell'identificare precocemente gli animali con infezione persistente.

## Principio

La reazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction, PCR) si basa sull'amplificazione di regioni specifiche del genoma del patogeno. Nella PCR Real-time (RT-PCR), il prodotto amplificato viene rivelato usando coloranti fluorescenti. Tali coloranti vengono in genere associati alle sonde oligonucleotidiche che si legano in modo specifico al prodotto amplificato. Monitorando le intensità della fluorescenza durante una seduta PCR (ovvero, in tempo reale) è possibile rilevare il prodotto che si accumula senza dover riaprire le provette di reazione successivamente.

Il kit *virotype* BVDV RT-PCR contiene tutti i reagenti necessari per la rilevazione dell'RNA di BVDV, inclusi un controllo positivo e un controllo negativo. Con questo kit, sia la trascrizione inversa che la reazione PCR avvengono nella stessa provetta di reazione, abbattendo il rischio di contaminazione.

Un controllo interno esclude la possibilità che vengano generati risultati falsi positivi. Il kit utilizza due combinazioni specifiche di primer/sonda: una per i Pestivirus che emettono fluorescenza FAM™, l'altra per il controllo interno che emette fluorescenza HEX™.

## Estrazione dell'RNA

Il kit *virotype* BVDV RT-PCR è una soluzione ad elevata sensibilità per la rilevazione dell'RNA del virus della diarrea virale bovina in campioni di sangue, plasma, siero, latte e tessuto auricolare (singoli o in pool) da bestiame.

È preferibile utilizzare plasma con EDTA, in quanto l'RNA virale presenta una degradazione minima in presenza di EDTA. In virtù dell'elevata sensibilità di questo test, è possibile analizzare pool costituiti da 50 campioni singoli di sangue, plasma o siero, pool costituiti da 100 campioni singoli di latte e pool costituiti da 25 campioni singoli di tessuto auricolare. Le dimensioni ottimali del pool dipendono comunque dalle prevalenze regionali del virus BVDV e dall'età degli animali. Prima della RT-PCR, l'RNA virale deve essere estratto dal materiale di origine. QIAGEN propone una vasta gamma di prodotti idonei all'estrazione dell'RNA da campioni veterinari.

- QIAamp<sup>®</sup> *cador*<sup>®</sup> Pathogen Mini Kit
- QIAamp Viral RNA Mini Kit
- RNeasy<sup>®</sup> Fibrous Tissue Mini Kit

Se la RT-PCR non viene eseguita immediatamente dopo l'estrazione, è possibile conservare l'RNA a  $-20^{\circ}\text{C}$  o, sul lungo periodo, a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Per una preparazione rapida dei campioni di tessuto auricolare (diametro 2–3 mm) senza estrazione dell'RNA, QIAGEN suggerisce l'uso di *virotype* Tissue Lysis Reagent. I lisati di tessuto auricolare devono essere conservati a  $-20^{\circ}\text{C}$  o, fino a 12 ore, a  $2-8^{\circ}\text{C}$ .

È possibile automatizzare l'estrazione dell'RNA utilizzando kit basati sulla tecnologia su colonna spin con QIAcube<sup>®</sup>.

## Strumenti e reagenti non forniti

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le schede di sicurezza sul prodotto (SDS) disponibili presso il fornitore.

- Pipette
- Puntali per pipette privi di nucleasi, resistenti alla contaminazione da aerosol e dotati di filtri
- Provette sterili Eppendorf® da 1,5 ml
- Centrifuga da tavolo con rotore per provette da 1,5 ml
- Dispositivo di raffreddamento o ghiaccio
- Rotor-Gene® Q o ciclatore Real-time con piastra a 96 pozzetti con canali fluorescenti appropriati
- Software Rotor-Gene Q versione 1.7.94 o successiva, o software idoneo per ciclatore con piastra a 96 pozzetti
- Strisce di provette e tappi da 0,1 ml, per l'uso con Rotor-Gene Q (n. catalogo 981103 o 981106) o micro-piastra ottica a 96 pozzetti con pellicola adesiva ottica o coperchio per il ciclatore Real-time con piastra a 96 pozzetti scelto

## Note importanti

### Precauzioni generali

L'utente deve prestare sempre attenzione alle seguenti precauzioni:

- Utilizzare puntali per pipette privi di nucleasi e dotati di filtri.
- Conservare ed estrarre il materiale positivo (campioni, controlli positivi e ampliconi) separatamente da tutti gli altri reagenti; aggiungere questi componenti alla miscela di reazione in un'area del laboratorio separata fisicamente.
- Scongelare tutti i componenti su ghiaccio prima di iniziare il saggio.
- Dopo avere scongelato i componenti, miscelarli capovolgendoli e centrifugare brevemente.
- Non utilizzare i componenti del kit del test dopo la data di scadenza.
- Tenere campioni e controlli su ghiaccio o in un blocco di raffreddamento durante l'allestimento delle reazioni.

### Controllo negativo

È necessario includere in ogni seduta PCR almeno una reazione di controllo negativo. Ciò permette di valutare la contaminazione della reazione. Si noti che l'RNA del controllo interno verrà rilevato nel controllo negativo, in quanto è contenuto nella miscela di reazione come controllo di amplificazione (vedere più avanti il paragrafo "Controllo interno").

## Controllo positivo

Quando la PCR viene eseguita su campioni sconosciuti, è consigliabile includere nella seduta PCR una reazione di controllo positivo, in modo tale da includere un campione nel quale è nota la presenza dell'RNA virale ricercato. Il controllo positivo serve per dimostrare se il saggio del patogeno funziona, ad esempio se la miscela di reazione è stata allestita correttamente. Utilizzare 5 µl del controllo positivo fornito con il kit *virotype* BVDV RT-PCR per verificare la corretta amplificazione del target.

## Controllo interno

Per praticità, l'RNA del Controllo interno è contenuto nei reagenti forniti. Ciò elimina la necessità di aggiungere il Controllo interno ad ogni singolo campione durante l'allestimento della reazione. Il Controllo interno permette all'utente di monitorare l'inibizione PCR.

# **Protocollo: RT-PCR Real-time per l'identificazione del virus della diarrea bovina virale**

## **Punti importanti prima di iniziare**

- Prima di iniziare, leggere le "Note importanti" da pagina 13.
- Includere almeno un controllo positivo (Positive Control) e un controllo negativo (Negative Control) per seduta PCR.
- Prima di iniziare la procedura, leggere attentamente il protocollo e accertarsi di avere dimestichezza con il funzionamento del ciclatore per PCR Real-time scelto.
- L'RNA è instabile. Eseguire il protocollo senza interruzioni.

## **Prima di iniziare**

- Scongela tutti i reagenti su ghiaccio e al riparo dalla luce.
- Conservare i reagenti su ghiaccio durante l'allestimento della PCR.
- Rimuovere la Miscela enzimatica dal congelatore a  $-20^{\circ}\text{C}$  appena prima dell'uso. Lasciare in ghiaccio. Riportare la temperatura a  $-20^{\circ}\text{C}$  subito dopo l'uso.
- Prima dell'uso, centrifugare brevemente i reagenti.

## Procedura

### 1. Preparare la soluzione Master Mix facendo riferimento alla Tabella 1.

La soluzione Master Mix contiene tutti i componenti necessari per la PCR, tranne il campione. Preparare almeno un 10% di Master Mix in più rispetto al volume necessario per il numero totale di test PCR da eseguire.

Per conoscere il volume di Master Mix necessario per il numero di reazioni, fare riferimento alla Tabella 1.

**Tabella 1. Preparazione della soluzione Master Mix**

Componente	1	24	96	480
Miscela PCR (tappo giallo)	19,75 µl	493,75 µl	1896 µl	9480 µl
Miscela enzimatica (tappo verde)	0,25 µl	6,25 µl	24 µl	120 µl
<b>Volume totale</b>	20 µl	500 µl	1920 µl	9600 µl

### 2. Pipettare 20 µl della soluzione Master Mix in ogni provetta di reazione. Quindi aggiungere 5 µl di RNA campione (Tabella 2).

Includere le reazioni di controllo positivo e di controllo negativo.

Controllo positivo: utilizzare 5 µl di controllo positivo (Positive Control) invece dell'RNA campione.

Controllo negativo: utilizzare 5 µl di controllo negativo (Negative Control) invece dell'RNA campione.

**Tabella 2. Preparazione della miscela di reazione**

Componente	Volume
Master Mix	20 µl
Campione	5 µl
<b>Volume totale</b>	<b>25 µl</b>

- 3. Chiudere le provette di reazione con i relativi tappi.**
- 4. Impostare i filtri per i coloranti reporter e quencher nel software del termociclatore basandosi sulla Tabella 3. Selezionare i canali verde e giallo sul Rotor-Gene Q.**

**Tabella 3. Impostazioni del filtro per reporter e quencher**

Componente	Reporter	Quencher
BVDV/campione sconosciuto	<b>FAM</b>	TAMRA™
Controllo interno	<b>HEX/JOET™*</b>	TAMRA
Riferimento passivo†	ROX™	–

\* Usare l'opzione appropriata per il termociclatore in uso.

† Riferimento interno per l'uso con i sistemi di rilevazione delle sequenze Applied Biosystems® ABI PRISM®.

**5. Eseguire il protocollo per RT-PCR Real-time facendo riferimento alla Tabella 4.**

**Tabella 4. Protocollo per RT-PCR Real-time**

Temperatura	Durata	Numero di cicli
50°C	20 min	1
95°C	15 min	1
95°C	30 s	
57°C <sup>‡</sup>	45 s	40
68°C	45 s	

<sup>‡</sup> Raccolta dei dati di fluorescenza.

## Analisi e interpretazione dei dati

### Interpretazione dei risultati

Perché il saggio sia valido, il controllo positivo deve produrre un segnale in entrambi i canali FAM ed HEX con un valore  $C_T^* < 36$ . Il controllo negativo non deve generare un segnale nel canale FAM.

I seguenti risultati sono possibili se si lavora con campioni sconosciuti. I possibili risultati dei campioni sono riassunti anche nella Tabella 5 a pagina 21.

### **Il campione è positivo al virus BVDV, e il saggio è valido, se sono rispettati i seguenti criteri:**

- Il campione genera un segnale in entrambi i canali FAM ed HEX<sup>†</sup>
- Il controllo positivo genera un segnale in entrambi i canali FAM ed HEX
- Il controllo negativo genera un segnale nel canale HEX con un valore  $C_T < 36$
- Il controllo negativo non genera un segnale nel canale FAM

Si noti che concentrazioni molto elevate di RNA di BVDV nel campione possono determinare una riduzione del segnale HEX o l'assenza del segnale HEX, a causa della competizione con il controllo interno. Se il valore  $C_T$  della fluorescenza FAM è minore di 30, è molto probabile che il campione provenga da un animale con infezione persistente.

\* Ciclo soglia ( $C_T$ ): ciclo in cui il tracciato dell'amplificazione interseca la soglia, ovvero quando ha luogo il primo aumento rilevabile della fluorescenza.

† Verde e giallo sul Rotor-Gene Q.

**Il campione è negativo al virus BVDV, e il saggio è valido, se sono rispettati i seguenti criteri:**

- Il campione genera un segnale nel canale JEX ma non nel canale FAM
- Il controllo positivo genera un segnale in entrambi i canali FAM ed HEX
- Il controllo negativo genera un segnale nel canale HEX
- Il controllo negativo non genera un segnale nel canale FAM

Un segnale HEX positivo significa che la PCR è riuscita, in quanto il controllo interno è stato amplificato.

**I risultati sono inconcludenti, e il saggio non è valido, se si verificano le seguenti condizioni:**

- Il campione non genera nessun segnale né nel canale FAM, né nel canale HEX

Se non viene rilevato nessun segnale nei canali FAM (patogeno) ed HEX (controllo interno), il risultato è inconcludente. L'assenza di un segnale per il controllo interno indica l'inibizione della PCR e/o altre anomalie di funzionamento.

Per verificare se c'è inibizione, si consiglia di diluire 1:5 l'RNA campione in acqua priva di nucleasi.

Verificare che vi sia un segnale fluorescente nel canale FAM per la reazione del controllo positivo (Positive Control). L'assenza di un segnale per il controllo positivo indica un errore, che può essere dovuto ad un allestimento sbagliato della soluzione Master Mix o a condizioni di ciclaggio non corrette.

**Tabella 5. Tabella di interpretazione dei risultati\***

Risultato per il campione	Reporter	
	FAM (patogeno)	HEX (IC)
BVDV positivo	X	X
BVDV positivo (positivo forte)	X	
BVDV negativo		X
Risultato inconcludente		

\* L'interpretazione dei risultati dei campioni può avvenire a condizione che vengano eseguite le reazioni di controllo positivo e negativo. Il controllo positivo deve generare un segnale in entrambi i canali FAM ed HEX. Il controllo negativo deve generare un segnale nel canale HEX. Per una spiegazione completa dei possibili risultati dei campioni, fare riferimento a "Analisi e interpretazione dei dati" a pagina 19.

## **Guida alla risoluzione dei problemi**

Gli esperti del supporto tecnico QIAGEN sono sempre disponibili per rispondere a qualsiasi domanda riguardante le informazioni e i protocolli descritti in questo manuale o le tecnologie relative a campioni e analisi (per le informazioni sui contatti, vedere il retro di copertina o visitare il sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Informazioni per gli ordini

Prodotto	Contenuto	N° di catalogo
<i>virotype</i> BVDV RT-PCR Kit (24)	Per 24 reazioni: Miscela PCR, Miscela enzimatica, Controllo positivo, Controllo negativo	280373
<i>virotype</i> BVDV RT-PCR Kit (96)	Per 96 reazioni: Miscela PCR, Miscela enzimatica, Controllo positivo, Controllo negativo	280375
<i>virotype</i> BVDV RT-PCR Kit (480)	Per 480 reazioni: Miscela PCR, Miscela enzimatica, Controllo positivo, Controllo negativo	280377
<b>Prodotti correlati</b>		
<i>virotype</i> TLR (25 ml)	25 ml di reagente per la lisi dei tessuti	289991
<i>virotype</i> TLR (100 ml)	100 ml di reagente per la lisi dei tessuti	289992
<i>virotype</i> TLR (250 ml)	250 ml di reagente per la lisi dei tessuti	289993
<i>virotype</i> BTV RT-PCR Kit (96)*	Per 96 reazioni: Miscela PCR, Miscela enzimatica, Controllo positivo, Controllo negativo	280435
<i>virotype</i> BTV pan/8 RT-PCR Kit (96)*	Per 96 reazioni: Master Mix, Controllo positivo, Controllo negativo	280445

\* Kit disponibili anche in altri formati; vedere [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

<b>Prodotto</b>	<b>Contenuto</b>	<b>N° di catalogo</b>
<i>virotype</i> CSFV RT-PCR Kit (96)*	Per 96 reazioni: Master Mix, Controllo positivo, Controllo negativo	281805
<i>virotype</i> PRRSV RT- PCR Kit (96)*	Per 96 reazioni: Master Mix, Controllo positivo, Controllo negativo	282305
<i>virotype</i> Influenza A RT-PCR Kit (96)*	Per 96 reazioni: Master Mix, Controllo positivo, Controllo negativo	282605
<i>virotype</i> SBV RT-PCR Kit (96)*	Per 96 reazioni: Master Mix, Controllo positivo, Controllo negativo	281605
<i>bactotype</i> Mycoplasma Mg/Ms PCR Kit (96)*	Per 96 reazioni: Master Mix, Controllo positivo, Controllo negativo	288105
QIAamp <i>cador</i> Pathogen Mini Kit (50)*	Per 50 preparazioni: 50 colonne QIAamp Mini Spin, Carrier RNA, Proteinasi K, Provette da raccolta (2 ml), Buffer privi di RNasi	54104

\* Kit disponibili anche in altri formati; vedere [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

<b>Prodotto</b>	<b>Contenuto</b>	<b>N° di catalogo</b>
QIAamp Viral RNA Mini Kit (50)*	Per 50 preparazioni di RNA: 50 colonne QIAamp Mini Spin, Carrier RNA, Provette da raccolta (2 ml), Buffer privi di RNasi	52904
RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (50)	50 colonne RNeasy Mini Spin, Provette da raccolta (1,5 ml e 2 ml), Proteinasi K, DNasi I priva di RNasi, Reagenti e Buffer privi di RNasi	74704
QIAcube (230 V)	Stazione di lavoro robotizzata per la purificazione automatizzata di DNA, RNA o proteine con i kit su colonna spin QIAGEN, garanzia di 1 anno su parti di ricambio e manodopera	9001293
Piattaforma Rotor-Gene Q 5plex	Ciclatore per PCR Real-time con 5 canali (verde, giallo, arancione, rosso, cremisi), computer portatile, software, accessori, garanzia di 1 anno su parti di ricambio e manodopera	9001570

\* Kit disponibili anche in altri formati; vedere [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

QIAGEN dispone di una serie di kit ELISA e di kit per PCR Real-time e RT-PCR Real-time per la rilevazione di patogeni animali. Visitare [www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing](http://www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing) per ulteriori informazioni sui prodotti *bactotype*<sup>®</sup>, *cador*, *cattletype*<sup>®</sup>, *flocktype*<sup>®</sup>, *pigtype*<sup>®</sup> e *virotype*.

Per le informazioni aggiornate sulla licenza e le clausole di esclusione della responsabilità per i singoli prodotti, consultare il manuale del kit QIAGEN specifico o il manuale utente. I manuali dei kit QIAGEN possono essere scaricati dal sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) o richiesti al servizio di assistenza tecnica QIAGEN o al distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *bactotype*®, *cador*®, *cattletype*®, *flocktype*®, *pigtype*®, RNeasy®, Rotor-Gene®, *virotype*® (Gruppo QIAGEN); Applied Biosystems®, ABI PRISM®, FAM™, HEX™, JOE™, ROX™, TAMRA™ (Applied Biosystems Corporation o relative sussidiarie). Eppendorf® (Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH). I marchi registrati, i marchi di fabbrica ecc. utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, non devono essere considerati non protetti dalla legge.

Acquistando il presente prodotto si acquisisce il diritto all'uso dello stesso per eseguire l'amplificazione e la rilevazione delle sequenze di acidi nucleici nell'ambito della diagnostica veterinaria in vitro. L'acquisto non costituisce concessione di licenze generali o di altre licenze di nessun altro tipo, salvo questo specifico diritto all'uso.

#### Contratto di licenza limitata per il kit *virotype* BVDV RT-PCR

L'utilizzo di questo prodotto comporta per l'acquirente o l'utente del prodotto l'accettazione dei seguenti termini:

1. Il prodotto può essere utilizzato esclusivamente in conformità ai protocolli forniti insieme al prodotto e al relativo manuale e soltanto con i componenti contenuti nel rispettivo kit. QIAGEN non concede nessuna licenza, nell'ambito della sua proprietà intellettuale, per l'utilizzo o l'integrazione dei componenti di questo kit con qualsiasi componente non incluso in questo kit, fatta eccezione per i protocolli forniti con il prodotto, il presente manuale e i protocolli aggiuntivi disponibili sul sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Alcuni protocolli aggiuntivi sono stati messi a punto da utenti QIAGEN a beneficio degli utenti QIAGEN. Si tratta di protocolli che non sono stati collaudati o ottimizzati da QIAGEN. QIAGEN non offre nessuna garanzia in merito alla violazione di eventuali diritti di terzi.
2. Al di là delle licenze espressamente dichiarate, QIAGEN non fornisce nessuna garanzia che questo kit e/o l'uso o gli usi dello stesso non costituiscano violazione dei diritti di terzi.
3. Questo kit e i relativi componenti sono concessi in licenza per un unico uso e non possono essere riutilizzati, rinnovati o rivenduti.
4. QIAGEN nega espressamente qualsiasi altra licenza, esplicita o implicita, ad eccezione delle licenze espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del kit acconsentono a non intraprendere e a non permettere a nessun altro di intraprendere qualsiasi iniziativa che possa determinare o agevolare qualunque azione di cui si fa divieto sopra. QIAGEN farà valere i divieti di questo Contratto di licenza limitata presso qualsiasi foro e otterrà il risarcimento di tutte le spese sostenute a scopo di indagine e consulenza legale, ivi comprese le parcelle degli avvocati, con riferimento a qualsiasi causa legale intentata per fare rispettare questo Contratto di licenza limitata o qualsiasi altro diritto di proprietà intellettuale correlato a questo kit e/o ai relativi componenti.

Per i termini di licenza aggiornati, visitare il sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2013 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

---

[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

Australia ■ [techservice-au@qiagen.com](mailto:techservice-au@qiagen.com)

Austria ■ [techservice-at@qiagen.com](mailto:techservice-at@qiagen.com)

Belgium ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

Brazil ■ [suportetecnico.brasil@qiagen.com](mailto:suportetecnico.brasil@qiagen.com)

China ■ [techservice-cn@qiagen.com](mailto:techservice-cn@qiagen.com)

Denmark ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

Finland ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

France ■ [techservice-fr@qiagen.com](mailto:techservice-fr@qiagen.com)

Germany ■ [techservice-de@qiagen.com](mailto:techservice-de@qiagen.com)

Hong Kong ■ [techservice-hk@qiagen.com](mailto:techservice-hk@qiagen.com)

India ■ [techservice-india@qiagen.com](mailto:techservice-india@qiagen.com)

Ireland ■ [techservice-uk@qiagen.com](mailto:techservice-uk@qiagen.com)

Italy ■ [techservice-it@qiagen.com](mailto:techservice-it@qiagen.com)

Japan ■ [techservice-jp@qiagen.com](mailto:techservice-jp@qiagen.com)

Korea (South) ■ [techservice-kr@qiagen.com](mailto:techservice-kr@qiagen.com)

Luxembourg ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

Mexico ■ [techservice-mx@qiagen.com](mailto:techservice-mx@qiagen.com)

The Netherlands ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

Norway ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

Singapore ■ [techservice-sg@qiagen.com](mailto:techservice-sg@qiagen.com)

Sweden ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

Switzerland ■ [techservice-ch@qiagen.com](mailto:techservice-ch@qiagen.com)

UK ■ [techservice-uk@qiagen.com](mailto:techservice-uk@qiagen.com)

