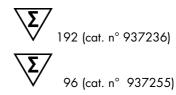
QlAsymphony® DSP DNA Istruzioni per l'uso (Manuale)



Versione 1



Per uso diagnostico in vitro

QlAsymphony DSP DNA Mini Kit

QIAsymphony DSP DNA Midi Kit





937236, 937255

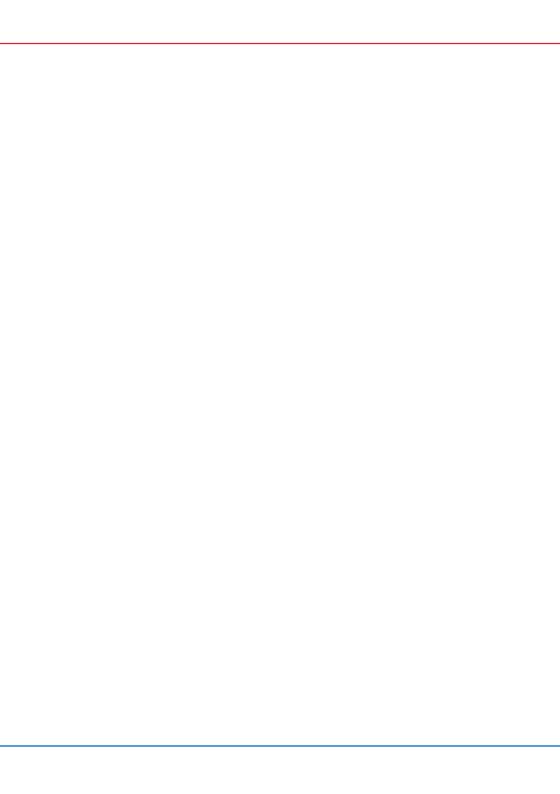


QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 40724 Hilden GERMANIA



1069185IT





Contiene

Uso previsto	3
Sommario e spiegazione	3
Principi della procedura	4
Materiali in dotazione	7
Contenuto del kit	7
Materiali necessari ma non in dotazione	7
Avvertenze e precauzioni	8
Conservazione e manipolazione dei reagenti	12
Componenti del kit	13
Prelievo e preparazione dei campioni	14
Procedura	15
Purificazione automatizzata sul sistema QIAsymphony SP	15
Protocollo: Purificazione del DNA	22
Controllo di qualità	26
Limitazioni	26
Simboli	27
Guida alla risoluzione dei problemi	29
Appendice: quantificazione e determinazione della purezza del DNA	32
Quantificazione del DNA	32
Purezza del DNA	33
Informazioni per ali ordini	34

Uso previsto

Il kit QIAsymphony DSP DNA Mini e il kit QIAsymphony DSP DNA Midi utilizzano la tecnologia a particelle magnetiche per procedure automatizzate di isolamento e purificazione del DNA da campioni biologici.

Questi prodotti sono rivolti ad utenti professionisti, quali tecnici e medici esperti in tecniche di biologia molecolare.

Il sistema QIAsymphony DSP DNA è studiato per l'uso diagnostico in vitro.

Sommario e spiegazione

I kit QIAsymphony DSP DNA sono studiati per essere utilizzati esclusivamente in combinazione con il sistema QIAsymphony SP. I kit QIAsymphony DSP DNA forniscono reagenti per procedure completamente automatizzate e simultanee di purificazione del DNA totale da sangue intero umano, buffy coat, tessuti e tessuti FFPE, ed anche DNA virale da sangue intero umano. Tuttavia le caratteristiche di prestazione non sono state accertate per ogni specie virale, tessuto o tessuto FFPE e devono quindi essere convalidate dall'utente. La tecnologia a particelle magnetiche consente di purificare gli acidi nucleici di alta qualità che sono privi di proteine, nucleasi e altre impurità. Gli acidi nucleici purificati sono pronti per essere utilizzati direttamente in applicazioni a valle, quali l'amplificazione o altre reazioni enzimatiche. Il sistema QIAsymphony SP esegue tutte le fasi della procedura di purificazione. In una singola sessione possono essere processati fino a 96 campioni, in lotti di 24 campioni. Il protocolli per il tessuto e il tessuto FFPE richiedono un pretrattamento manuale del campione.

Principi della procedura

La tecnologia QIAsymphony abbina la velocità e l'efficienza della purificazione degli acidi nucleici basata sulla silice alla pratica manipolazione delle particelle magnetiche (Figura 1, seguente). La procedura di purificazione è stata studiata in modo da garantire una processazione sicura e riproducibile di campioni potenzialmente infettivi, e comprende 4 fasi: lisi, legame, lavaggio ed eluizione (vedere il diagramma di flusso, pag. 6). L'utente può scegliere fra diversi volumi di eluizione.

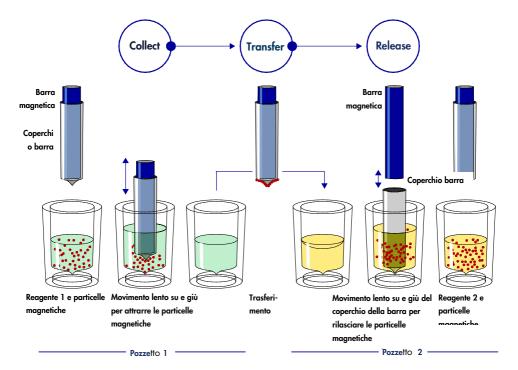
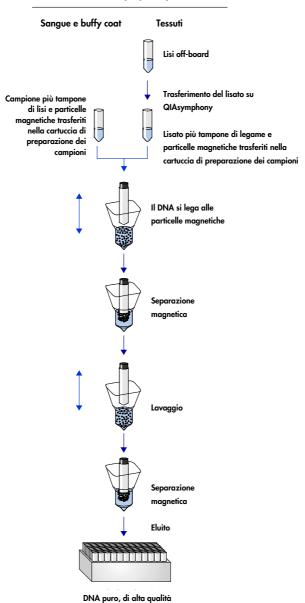


Figura 1. Rappresentazione schematica del principio del sistema QIAsymphony SP. Il sistema QIAsymphony SP processa un campione contenente particelle magnetiche con la seguente procedura: una barra magnetica protetta da un coperchio entra in un pozzetto contenente il campione e attrae le particelle magnetiche. La barra magnetica con coperchio viene posizionata sopra un altro pozzetto e la particelle magnetiche vengono rilasciate. Il sistema QIAsymphony SP utilizza una testa magnetica contenente una serie di 24 barre magnetiche, quindi può processare



Procedura QIAsymphony DSP DNA



Materiali in dotazione

Contenuto del kit

QIAsymp Catalogo	hony DSP DNA Kit n°		Mini 937236	Midi 937255
Numero	di preparazioni		192	96*
RC	Reagent Cartridge (Cartuccia reagenti)†	REAG CART	2	2
ER	Enzyme Rack (Rack per enzima)		2	2
PL	Piercing Lid (Coperchio perforante)		2	2
ATE	Buffer ATE (Tampone ATE) (20 ml) [‡]	ELU BUF	20 ml	20 ml
RSS	Reuse Seal Set (Set Sigillante Riutilizzabile)§		2	2
	Manuale		1	1

^{* *} Per 96 preparazioni (96 x 1000 µl) o 144 preparazioni (144 x 400 µl).

Materiali necessari ma non in dotazione

Quando si opera con sostanze chimiche, occorre indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le rispettive schede tecniche di sicurezza (SDS), reperibili presso il fornitore.

[†] Contiene sali di guanidina. Non compatibile con disinfettanti contenenti agenti sbiancanti. Vedere pag. 8 per le informazioni di sicurezza.

[‡] Contiene azotidrato di sodio come conservante.

[§] Un Set Sigillabile Riutilizzabile contiene 8 Strisce Sigillanti Riutilizzabili.

¹ Vedere a pag. **Fehler! Textmarke nicht definiert.** l'elenco dei simboli con definizioni.

- QIAsymphony SP
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (Cartucce di preparazione dei campioni, cartucce a 8 pozzetti) (cat. n° 997002)
- 8-Rod Covers (Coperchi per 8 barre) (cat. n° 997004)
- Filter-Tips (Puntali con filtro), 200 µl e 1500 µl (cat. n° 990332 e 997024)
- Provette per campione (ad es. provette per campione con tappo a vite da 2 ml, Sarstedt cat. n° 72.693, o senza tappo, Sarstedt cat. n° 72.608 o Sarstedt cat. n° 72.694). Per un elenco dei formati compatibili di provette primarie e secondarie consultare il sito www.qiagen.com/goto/dspdnakits.
- Provette o piastre per eluizione. Per un elenco dei formati compatibili di piastre e
 provette per eluizione consultare il sito www.qiagen.com/goto/dspdnakits.
- Soluzione fisiologica con tampone fosfato (PBS, potrebbe essere necessaria per diluire i campioni)
- Agitatore Vortex
 Opzionale: RNasi A priva di DNasi (per ridurre al minimo il contenuto di RNA)
- Per altri materiali necessari per applicazioni su sangue virale e tessuti consultare le schede dei protocolli sul sito <u>www.qiagen.com/goto/dspdnakits</u>.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico in vitro

Leggere attentamente tutte le istruzioni prima di utilizzare il kit.

Quando si opera con sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le appropriate

schede di sicurezza (SDS). Le schede MSDS, nel pratico e compatto formato PDF, sono disponibili online all'indirizzo www.giagen.com/Support/MSDS.aspx. Qui è possibile trovare, visualizzare e stampare la scheda MSDS per ciascun kit QIAGEN e i relativi componenti.



CAUTION: DO NOT add bleach or acidic solutions directly to the sample preparation waste.

Buffers in the reagent cartridge (RC) contain guanidine salts, which can form highly reactive compounds when combined with bleach. If liquid containing these buffers is spilt, clean with suitable laboratory detergent and water. If the spilt liquid contains potentially infectious agents, clean the affected area first with laboratory detergent and water, and then with 1% (v/v) sodium hypochlorite.

The following hazard and precautionary statements apply to components of QIAsymphony **DSP DNA Kits**

QSB₁



Contiene: Brij 58; guanidine thiocyanate; Isopropanol. Pericolo! Può essere nocivo se ingerito o per contatto con la pelle. Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. Può provocare sonnolenza o vertigini. Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Liquido e vapori facilmente infiammabili. A contatto con acidi libera gas molto tossici. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione di rifiuti autorizzato. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/ fare una doccia. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. - Non fumare. Tenere il recipiente ben chiuso e in luogo ben ventilato. Indossare guanti/ indumenti protettivi/ Proteggere gli occhi/ il viso.

MBS

Attenzione! Provoca una debole irritazione cutanea. In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.

Proteinase K



Contiene: Proteinase K. Pericolo! Provoca una debole irritazione cutanea. Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato. Evitare di respirare la polvere/ i fumi/ i gas/ la nebbia/ i vapori/ gli aerosol. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione di rifiuti autorizzato. In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. IN CASO DI INALAZIONE: se la respirazione è difficile, trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Utilizzare un apparecchio respiratorio.

QSL₁



Contiene: guanidine hydrochloride; maleic acid. Attenzione! Può essere nocivo se ingerito o inalato. Provoca irritazione cutanea. Provoca grave irritazione oculare. Può provocare una reazione allergica cutanea. Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico. Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di riutilizzarli. Indossare guanti/ indumenti protettivi/ Proteggere gli occhi/ il viso.

QSW1



Contiene: ethanol; guanidine hydrochloride; lithium chloride. Attenzione! Può essere nocivo se ingerito. Provoca irritazione cutanea. Provoca grave irritazione oculare. Liquido e vapori infiammabili. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione di rifiuti autorizzato. Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico. Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di riutilizzarli. Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. - Non fumare. Conservare in luogo fresco e ben ventilato. Indossare guanti/ indumenti protettivi/ Proteggere gli occhi/ il viso.

QSW2



Contiene: ethanol. Pericolo! Provoca grave irritazione oculare. Liquido e vapori facilmente infiammabili. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione di rifiuti autorizzato. Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico. Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. - Non fumare. Conservare in luogo fresco e ben ventilato. Indossare guanti/ indumenti protettivi/ Proteggere gli occhi/ il viso.

Conservazione e manipolazione dei reagenti

I kit QIAsymphony DSP DNA devono essere conservati in posizione verticale a temperatura ambiente (15–25°C). Le particelle magnetiche nelle cartucce reagenti (RC) rimangono attive se conservate a questa temperatura. Se conservato correttamente, il kit è stabile fino alla data di scadenza riportata sulla rispettiva scatola.

Nota: L'etichetta applicata sulla scatola del kit QIAsymphony DSP DNA indica la data di scadenza del kit. Il file dei risultati documenta la data di scadenza solo per la cartuccia reagenti (RC).

Componenti del kit

I kit QIAsymphony DSP DNA contengono soluzione di proteinasi K pronta per l'uso, che può essere conservata a temperatura ambiente.

Non conservare le cartucce reagenti (RC) a temperature inferiori a 15°C.

Eventuali cartucce reagenti (RC) utilizzate solo parzialmente possono essere conservate per una durata massima di 4 settimane, consentendo un efficiente riutilizzo dei reagenti e una processazione dei campioni più flessibile. Se una cartuccia reagenti (RC) è utilizzata solo parzialmente, riposizionare il coperchio sul recipiente contenente le particelle magnetiche e sigillare la cartuccia reagenti (RC) con le Strisce Sigillanti Riutilizzabili in dotazione subito dopo il termine del protocollo per evitare l'evaporazione.

Per evitare l'evaporazione dei reagenti, la cartuccia reagenti (RC) deve rimanere aperta al massimo per 15 ore (compreso il tempo di processazione) ad una temperatura ambiente massima di 30°C.

La processazione di lotti con un numero ridotto di campioni (<24) aumenta sia il tempo che la cartuccia reagenti (RC) rimane aperta sia i volumi di tampone necessari, riducendo potenzialmente il numero totale di preparazioni possibili per cartuccia.

Evitare di esporre le cartucce reagenti (RC) ai raggi UV (ad es. quelli utilizzati per la decontaminazione), in quanto tale esposizione può causare un invecchiamento accelerato delle cartucce reagenti (RC) e dei tamponi.

Prelievo e preparazione dei campioni

Evitare la formazione di schiuma all'interno o sui campioni. In base al materiale iniziale utilizzato, può essere necessario pre-trattare i campioni.

I campioni devono essere termostatati a temperatura ambiente (15–25°C) prima di avviare la procedura.

Per maggiori informazioni sulla procedura automatizzata (nonché sulle provette per campioni utilizzabili per determinati protocolli) e sui pretrattamenti specifici dei campioni, consultare la rispettiva scheda del protocollo disponibile sul sito www.giagen.com/goto/dspdnakits.

Procedura

Purificazione automatizzata sul sistema QIAsymphony SP

Il sistema QlAsymphony SP consente di eseguire una preparazione automatizzata dei campioni in modo semplice e pratico. I campioni, i reagenti, i materiali di consumo e gli eluiti vengono separati in diversi cassetti. Caricare i campioni, i reagenti forniti nelle speciali cartucce e i materiali di consumo preposizionati su rack nel corrispondente cassetto prima di cominciare la processazione. Avviare il protocollo e rimuovere il DNA purificato dal cassetto "Eluate" (Eluito) dopo la processazione. Per le istruzioni di funzionamento consultare i rispettivi manuali d'uso in dotazione con lo strumento.

Nota: Non è obbligatoria una manutenzione opzionale per garantire il corretto funzionamento dello strumento, ma è vivamente consigliata per ridurre il rischio di contaminazione.

La gamma dei protocolli disponibili è in costante espansione. È possibile scaricare gratuitamente i nuovi protocolli QIAGEN disponibili dal sito www.giagen.com/goto/dspdnakits.

Caricamento delle cartucce reagenti (RC) nel cassetto "Reagents and Consumables" (Reagenti e materiali di consumo)

I reagenti per la purificazione del DNA sono contenuti in un'innovativa cartuccia reagenti (RC) (Figura 2). Ciascun recipiente della cartuccia reagenti (RC) contiene un particolare reagente, vale a dire particelle magnetiche, tampone di lisi, tampone di lavaggio oppure tampone di eluizione. Le cartucce reagenti (RC) utilizzate solo parzialmente possono essere richiuse con le Strisce Sigillanti Riutilizzabili per consentire un riutilizzo successivo della cartuccia ed evitare la produzione di scarti a causa dei reagenti rimasti al termine della procedura di purificazione.

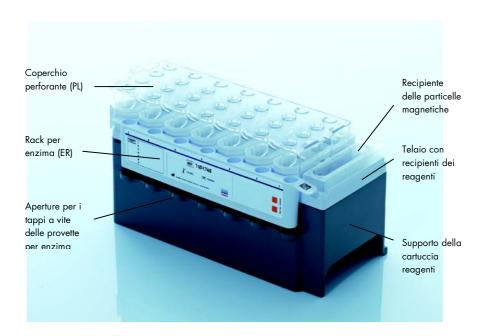


Figura 2. Cartuccia reagenti QIAsymphony (RC). La cartuccia reagenti (RC) contiene tutti i reagenti necessari per l'esecuzione del protocollo

Prima di avviare la procedura, accertarsi che le particelle magnetiche siano completamente risospese. Rimuovere il recipiente delle particelle magnetiche dal telaio della cartuccia reagenti, agitarlo vigorosamente su Vortex per almeno 3 minuti e riposizionarlo nel telaio della cartuccia reagenti prima dell'uso. Collocare la cartuccia reagenti (RC) sul relativo supporto. Collocare il rack per enzima (ER) sul supporto della cartuccia reagenti. Prima di utilizzare una cartuccia reagenti (RC) per la prima volta, posizionare il coperchio perforante (PL) sulla cartuccia reagenti (RC) (Figura 2, precedente).

Nota: Il coperchio perforante (PL) presenta parti acuminate. Fare attenzione quando lo si posiziona sulla cartuccia reagenti (RC). Accertarsi di posizionare il coperchio perforante (PL) sulla cartuccia reagenti (RC) nel senso corretto.

Dopo aver tolto il coperchio del recipiente delle particelle magnetiche e aperto le provette del rack per enzima (i tappi a vite possono essere conservati nelle apposite aperture, vedere Figura 2 sopra), si procede caricando la cartuccia reagenti (RC) nel cassetto "Reagents and Consumables".

Le cartucce reagenti (RC) utilizzate solo parzialmente possono essere conservate fino al successivo utilizzo; vedere la sezione "Conservazione e manipolazione dei reagenti", pag. 12.

Caricamento della plastica da laboratorio nel cassetto "Reagents and Consumables"

Caricare le cartucce per la preparazione dei campioni, i coperchi per 8 barre (entrambi preposizionati su rack in box unitari) e i puntali con filtro monouso (puntali da 200 µl forniti in rack blu, puntali da 1500 µl forniti in rack grigi) nel cassetto "Reagents and Consumables".

Nota: Accertarsi che i coperchi dei box unitari vengano rimossi prima di caricare i box stessi nel cassetto "Reagents and Consumables".

Nota: I puntali sono provvisti di filtri per impedire la cross-contaminazione.

Le aperture del rack per puntali sulla stazione di lavoro QIAsymphony SP possono essere occupate da qualsiasi tipo di rack per puntali. Il sistema QIAsymphony SP identificherà il tipo di puntali caricati durante la scansione di inventario.

Nota: Non rifornire i rack per puntali o i box unitari con le cartucce per la preparazione dei campioni o con i coperchi per 8 barre prima di avviare l'esecuzione di un altro protocollo. Il sistema QIAsymphony SP è in grado di utilizzare rack per puntali e box unitari parzialmente utilizzati.

Per i materiali di consumo necessari consultare la rispettiva scheda del protocollo disponibile nel sito <u>www.qiagen.com/goto/dspdnakits</u>. Per informazioni sugli ordini della plastica da laboratorio vedere pag. 34.

Caricamento del cassetto "Waste" (Materiali di scarto)

Le cartucce per la preparazione dei campioni e i coperchi per 8 barre utilizzati per l'esecuzione di un protocollo vengono riposti su rack in box unitari vuoti nel cassetto "Waste". Accertarsi che il cassetto "Waste" contenga sufficienti box unitari vuoti per la plastica da laboratorio prodotta durante l'esecuzione del protocollo.

Nota: Accertarsi che i coperchi dei box unitari vengano rimossi prima di caricare i box nel cassetto "Waste". Se si utilizzano i box dei coperchi per 8 barre per raccogliere sia le cartucce per la preparazione dei campioni usate che i coperchi per 8 barre usati, accertarsi che venga rimosso lo spaziatore nei box.

Sul lato anteriore del cassetto "Waste" attaccare un sacchetto per raccogliere i puntali con filtro usati.

Nota: Il sistema non verifica la presenza di un sacchetto per lo smaltimento dei puntali. Accertarsi che il sacchetto per lo smaltimento dei puntali sia correttamente attaccato prima di avviare l'esecuzione di un protocollo. Per maggiori informazioni consultare i manuali d'uso in dotazione con lo strumento. Svuotare il sacchetto per lo smaltimento dei puntali dopo la processazione di max. 96 campioni per evitare un intasamento dei puntali.

Un contenitore raccoglie i residui liquidi prodotti durante la procedura di purificazione. Il cassetto "Waste" si chiude solo se il contenitore per i residui liquidi è inserito. Smaltire i residui liquidi in conformità con le normative di sicurezza e ambientali locali vigenti in materia. Non autoclavare il contenitore di scarico pieno. Svuotare il contenitore per i residui liquidi dopo aver processato al massimo 96 campioni.

Caricamento del cassetto "Eluate" (Eluito)

Caricare il rack per eluizione necessario nel cassetto "Eluate". Dato che la conservazione a lungo termine degli eluiti nel cassetto "Eluate" può comportare l'evaporazione degli eluiti, si raccomanda vivamente di utilizzare l'adattatore di raffreddamento: utilizzare solo "Elution slot 1" (Apertura per eluizione 1) con il corrispondente adattatore di raffreddamento.

Scansione di inventario

Prima di avviare la procedura, lo strumento controlla che nei corrispondenti cassetti siano stati caricati sufficienti materiali di consumo per il/i lotto/i in coda.

Preparazione dei campioni

I kit QIAsymphony DSP DNA sono idonei per procedure completamente automatizzate di purificazione del DNA totale da sangue intero umano, buffy coat, tessuti e tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE), nonché DNA virale da sangue intero umano (Tabella 1, pag. 21).

Evitare la formazione di schiuma all'interno o sui campioni. In base al materiale iniziale utilizzato, può essere necessario pre-trattare i campioni. I campioni devono essere termostatati a temperatura ambiente (15–25°C) prima di avviare la procedura. Il protocolli per il tessuto e il tessuto FFPE richiedono un pretrattamento manuale del campione.

Per maggiori informazioni sulla procedura automatizzata (nonché sulle provette per campioni utilizzabili per determinati protocolli) e sui pretrattamenti specifici dei campioni,

consultare la rispettiva scheda del protocollo disponibile nel sito www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Resa del DNA purificato

Le rese del DNA dipendono dal tipo di campione, dal numero di cellule nucleate presenti nel campione, dalla qualità del materiale di partenza e dal protocollo utilizzato per isolare il DNA. Un'eluizione con volumi ridotti aumenta la concentrazione finale del DNA nell'eluito, ma riduce leggermente la resa totale del DNA. Si consiglia di utilizzare un volume di eluizione adeguato all'applicazione a valle prevista. I kit QIAsymphony DSP DNA eseguono la procedura di purificazione sia sull'RNA che sul DNA se entrambi sono presenti nel campione. Per ridurre al minimo il contenuto di RNA nel campione, aggiungere RNasi A al campione nella fase indicata nel rispettivo protocollo di pretrattamento. Per ulteriori informazioni consultare le schede del protocollo sul sito www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Conservazione del DNA

Il DNA purificato può essere conservato a 2–8°C per max. 5 giorni. Per una conservazione a lungo termine, conservare a –20°C o –80°C.

Tabella 1. Panoramica del protocollo

Campione	Volume del campione (µl)	Volume di eluizione (μΙ)	Kit	Protocollo QIAsymphony SP
Sangue intero	200 400 1000	50, 100, 200 100, 200, 400 200, 400, 500	Mini Midi Midi	Blood 200 DSP Blood 400 DSP Blood 1000 DSP
Buffy coat	200 400	200, 300, 400 200, 400	Mini Midi	DNA Buffy Coat 200 DSP DNA Buffy Coat 400 DSP
Sangue virale	200	60, 85, 110, 165	Mini	VirusBlood200 DSP
Tessuto	200 200	50, 100, 200,400 100, 200, 400	Mini Mini	Tissue LC 200 DSP Tissue HC 200 DSP

Punti importanti prima di iniziare

- Acquisire esperienza con l'uso del sistema QIAsymphony SP. Per le istruzioni di funzionamento consultare i rispettivi manuali d'uso in dotazione con lo strumento.
- Non è obbligatoria una manutenzione opzionale per garantire il corretto funzionamento dello strumento, ma è vivamente consigliata per ridurre il rischio di contaminazione.
- Prima di avviare la procedura, leggere la sezione "Principi della procedura" a pag. 4.
- Acquisire familiarità con la scheda del protocollo riguardante la procedura che si desidera utilizzare (<u>www.qiagen.com/goto/dspdnakits</u>).
- Prima di utilizzare una cartuccia reagenti per la prima volta, controllare che i tamponi QSL1 e QSB1 non contengano un precipitato. Se necessario, rimuovere i recipienti contenenti i tamponi QSL1 e QSB1 dalla cartuccia reagenti e incubarli per 30 minuti a 37°C, agitandoli di tanto in tanto per sciogliere il precipitato. Accertarsi di riposizionare correttamente i recipienti. Se la cartuccia reagenti è già stata perforata, accertarsi che i recipienti vengano sigillati con le Strisce Sigillanti Riutilizzabili, quindi incubare l'intera cartuccia reagenti per 30 minuti a 37°C, agitando di tanto in tanto in un bagnomaria.*

^{*} Assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati periodicamente secondo le disposizioni del produttore.

• Evitare di agitare energicamente la cartuccia reagenti (RC) per prevenire la formazione di schiuma che può causare problemi di rilevamento del livello del liquido.

Prima di iniziare

- Prima di avviare la procedura, accertarsi che le particelle magnetiche siano completamente risospese. Agitare vigorosamente su Vortex il recipiente contenente le particelle magnetiche per almeno 3 minuti prima del primo utilizzo.
- Accertarsi che il coperchio perforante venga collocato sulla cartuccia reagenti e che il
 coperchio del recipiente delle particelle magnetiche venga rimosso oppure, se si utilizza
 una cartuccia reagenti già parzialmente utilizzata, accertarsi che le Strisce Sigillanti
 Riutilizzabili siano state rimosse.
- Accertarsi che le provette per enzima siano aperte.
- Se i campioni sono provvisti di codici a barre, orientare i campioni nel portaprovette in modo che i codici a barre siano rivolti verso il corrispondente lettore sul lato sinistro del sistema QIAsymphony SP.
- Per informazioni sulle provette compatibili con un determinato protocollo, consultare il corrispondente elenco della plastica da laboratorio (disponibile nel sito www.qiagen.com/goto/dspdnakits).
- Per informazioni sui volumi minimi dei campioni nelle provette primarie e secondarie per un determinato protocollo, consultare il corrispondente elenco della plastica da laboratorio (disponibile sul sito www.qiagen.com/goto/dsphandbooks). Questa scheda indica anche le provette che possono essere utilizzate per i vari protocolli.

Protocollo: Purificazione del DNA

Si illustra di seguito un protocollo generale per l'impiego dei kit QIAsymphony DSP DNA. Informazioni dettagliate su ogni protocollo, inclusi volumi e provette da utilizzare, sono riportate sulle rispettive schede che si possono scaricare dal sito www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

- 1. Chiudere tutti i cassetti e il coperchio
- 2. Accendere il sistema QIAsymphony SP e attendere finché non appare il messaggio Sample Preparation (Preparazione campioni) sullo schermo e finché la procedura di inizializzazione non è terminata.

L'interruttore di alimentazione è collocato nell'angolo inferiore sinistro dello strumento.

- 3. Registrarsi nello strumento.
- 4. Accertarsi che il cassetto "Waste" sia correttamente inserito ed eseguire una scansione di inventario del cassetto "Waste", incluso lo scivolo dei puntali e i residui liquidi. Se necessario, sostituire il sacchetto per lo smaltimento dei puntali.
- 5. Caricare il rack per eluizione necessario nel cassetto "Eluate".

Non caricare una piastra a 96 pozzetti nello "Elution slot 4" (Apertura per eluizione 4). Utilizzare "Elution slot 1" con il corrispondente adattatore di raffreddamento. Se si utilizza una piastra a 96 pozzetti, accertarsi che la piastra sia orientata correttamente, in quanto un posizionamento errato rischia di creare confusione nei campioni nel test a valle.

Se si utilizza il rack per microprovette di eluizione CL, rimuovere il fondo ruotando il rack fino a fare fuoriuscire il fondo.

- 6. Caricare la/e cartuccia/e reagenti e i materiali di consumo richiesti nel cassetto "Reagents and Consumables".
- 7. Eseguire una scansione di inventario del cassetto "Reagents and Consumables".
- 8. Collocare i campioni nell'apposito portacampioni e caricarli nel cassetto "Sample" (Campioni).

IMPORTANTE: Per applicazioni VirusBlood200, la/e provetta/e contenente/i la miscela di controllo interno-tampone ATE deve/devono essere posta/e nell'apertura A del cassetto "Sample".

Per ulteriori informazioni sulla preparazione della miscela e l'utilizzo di un controllo interno, consultare la scheda del protocollo corrispondente (disponibile sul sito www.giagen.com/goto/dspdnakits).

9. Utilizzando il touch screen, inserire le informazioni necessarie per ogni lotto di campioni da processare.

Vanno inserite le seguenti informazioni:

Informazioni del campione (in base ai rack per campioni utilizzati).

Protocollo da eseguire (Set di Controllo del Test).

Volume di eluizione e posizione di uscita.

Per applicazioni VirusBlood200: provetta/e contenente/i controllo/i interno/i

Dopo aver inserito le informazioni sul lotto, lo stato passa da "LOADED" (Caricato) a "QUEUED" (In coda). Non appena un lotto viene messo in coda, appare il pulsante "Run" (Esegui).

10. Premere il pulsante "Run" per avviare la procedura di purificazione.

Tutte le fasi di processazione sono completamente automatizzate. Al termine del protocollo, lo stato del lotto passa da "RUNNING" (In esecuzione) a "COMPLETED" (Completo).

- 11. Estrarre il rack per eluizione contenente gli acidi nucleici purificati dal cassetto "Eluate".
- 12.11 DNA è pronto per essere utilizzato o può essere conservato a 2–8°C, –20°C o 80°C.

Si consiglia di rimuovere la piastra per eluizione dal cassetto "Eluate" subito dopo il termine del protocollo. In base alla temperatura e al grado di umidità, le piastre per eluizione rimaste nel sistema QIAsymphony SP dopo il termine del protocollo possono subire il fenomeno di condensa o evaporazione.

In linea generale le particelle magnetiche non vengono trascinate negli eluiti. In caso di trascinamento, le particelle magnetiche negli eluiti non influenzano gran parte delle applicazioni a valle.

Se le particelle magnetiche devono essere rimosse prima di eseguire le applicazioni a valle, si consiglia innanzitutto di collocare le provette o le piastre contenenti gli eluiti a contatto con un magnete adeguato e poi di trasferire gli eluiti in una provetta pulita (vedere l'appendice, pag. 32).

Per ogni piastra per eluizione vengono creati file di risultati.

- 13.Se una cartuccia reagenti è stata utilizzata solo parzialmente, sigillarla con le Strisce Sigillanti Riutilizzabili e chiudere le provette contenenti la proteinasi K con i tappi a vite subito dopo il termine del protocollo per evitare l'evaporazione.
 - Nota: Per maggiori informazioni sulla conservazione delle cartucce reagenti (RC) parzialmente utilizzate, vedere la sezione "Conservazione e manipolazione dei reagenti", pag. 12.
- 14. Smaltire le provette dei campioni usate , come pure i materiali di scarto in conformità con le disposizioni di sicurezza locali vigenti in materia.
 - Vedere pagina Fehler! Textmarke nicht definiert. per le informazioni di sicurezza.
- 15. Pulire lo strumento QIA symphony SP.
 - Seguire le istruzioni per la manutenzione riportate nei manuali d'uso in dotazione con lo strumento. Accertarsi di pulire regolarmente le protezioni dei puntali per minimizzare il rischio di cross-contaminazione.
- 16. Chiudere i cassetti e spegnere lo strumento QIA symphony SP.

Controllo di qualità

In conformità con il Sistema di Gestione della Qualità certificato ISO di QIAGEN, ogni lotto del kit QIAsymphony DSP DNA Mini e del kit QIAsymphony DSP DNA Midi è stato testato in base a specifiche predefinite per garantire la costante qualità del prodotto.

Limitazioni

L'efficacia del sistema è stata stabilita da studi di valutazione delle prestazioni purificando DNA totale da sangue intero umano, buffy coat, tessuti e tessuti FFPE, ed anche DNA virale da sangue intero umano.

È responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni del sistema per qualunque procedura utilizzata in laboratorio che non sia coperta dagli studi di valutazione delle prestazioni QIAGEN.

Per ridurre al minimo il rischio di un impatto negativo sui risultati diagnostici, è necessario ricorrere ad appropriati controlli delle applicazioni a valle. Per un'ulteriore convalida consigliamo di attenersi alle linee guida della Conferenza Internazionale sull'Armonizzazione dei Requisiti Tecnici (ICH) riportate in ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (Convalida dei Metodi Analitici: Testo e Metodologia).

Eventuali risultati diagnostici generati dal sistema devono essere interpretati in combinazione con gli esiti di altri esami clinici o di laboratorio.

Simboli

Nelle presenti istruzioni per l'uso sono utilizzati i simboli riportati nella tabella seguente.

Simbolo	Definizione
<u>Σ</u>	Contenuto sufficiente per <n> test</n>
\subseteq	Data di scadenza
IVD	Dispositivo medico per diagnostica in vitro
REF	Numero di catalogo
LOT	Codice del lotto
MAT	Numero di materiale
COMP	Componenti
NUM	Numero
Rn	R indica la revisione delle istruzioni per l'uso (manuale) e n il numero di revisione
VOL	Volume
1	Limite di temperatura
	Produttore
USE	Da utilizzarsi esclusivamente con

Simbolo	Definizione
EC REP	Fare riferimento alle informazioni fornite nel manuale
	Confiene
CONT	Numero di pozzetto
WELL	Isopropanolo
REAG CART	Proteinasi K
ELU BUF	Tiocianato di guanidina
IPA	Idrocloruro di guanidina
PROTK	Etanolo
GITC	Acido maleico
GuHCL	BRU 58
ЕЮН	Cloruro di litio
MALEIC ACID	Global Trade Item Number
BRIJ 58	Attenzione
LiCI	Spigoli vivi
GTIN	Volume
	Limite di temperatura
\triangle	Produttore

Guida alla risoluzione dei problemi

Questa guida alla risoluzione dei problemi può essere utile per chiarire eventuali dubbi che possano presentarsi. Per maggiori informazioni, consultare anche la pagina relativa alle domande frequenti (FAQ) nel nostro servizio assistenza tecnica: www.ajagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Gli addetti del servizio di assistenza tecnica QIAGEN sono sempre lieti di rispondere a qualsiasi domanda possiate avere in relazione alle informazioni o ai protocolli presenti in questo manuale, oppure alle tecnologie per campioni e test (per le informazioni sui contatti, vedere sul retro oppure visitare il sito www.qiagen.com).

Commenti e suggerimenti

Gestione generale

Messaggio d'errore visualizzato sul touch screen Se appare un messaggio d'errore durante una qualsiasi fase del protocollo, consultare i manuali d'uso in dotazione con lo strumento.

Precipitato nel recipiente del reagente della cartuccia aperta

a١ Evaporazione dei tamponi

Un'eccessiva evaporazione può causare un aumento della concentrazione di sali nei tamponi. Eliminare la cartuccia reagenti (RC). Accertarsi di sigillare i recipienti dei tamponi di una cartuccia reagenti (RC) utilizzata solo parzialmente con le Strisce Sigillanti Riutilizzabili se i tamponi non vengono utilizzati per la purificazione.

Ы Conservazione della cartuccia reagenti (RC) La conservazione della cartuccia reagenti (RC) ad una temperatura inferiore ai 15°C può provocare la formazione di precipitati. Se necessario, rimuovere i recipienti contenenti i tamponi QSL1 e QSB1 dalla cartuccia reagenti (RC) e incubarli in un bagnomaria *per 30 minuti a 37°C, agitandoli di tanto in tanto per sciogliere il precipitato. Accertarsi di riposizionare correttamente il recipiente. Se la cartuccia reagenti (RC) è già stata perforata, accertarsi che il recipiente venga sigillato con una Striscia Sigillante Riutilizzabile, quindi incubare l'intera cartuccia reagenti (RC) in un bagnomaria* per 30 minuti a 37°C, agitando di tanto in tanto.

Bassa resa del DNA

^{*} Assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati periodicamente secondo le disposizioni del produttore.

Commenti e suggerimenti

a) Particelle magnetiche non Prima di avviare la procedura, accertarsi che le particelle magnetiche siano

u _j	risospese completamente	completamente risospese. Agitare su Vortex per almeno 3 minuti prima dell'uso.
b)	Campioni congelati di sangue o di buffy coat non correttamente miscelati dopo lo scongelamento	Scongelare i campioni di sangue o di buffy coat con una leggera agitazione per garantirne un'accurata miscelazione.
c)	Lisi dei campioni incompleta	Prima dell'uso verificare che i tamponi QSL1 e QSB1 non contengano precipitati. Se necessario, rimuovere i recipienti contenenti i tamponi QSL1 e QSB1 dalla cartuccia reagenti (RC) e incubarli in bagno d'acqua per 30 minuti a 37°C agitandoli di tanto in tanto per sciogliere il precipitato. Se la cartuccia reagenti (RC) è già stata perforata, accertarsi che i recipienti vengano sigillati con le Strisce Sigillanti Riutilizzabili, quindi incubare l'intera cartuccia reagenti (RC) per 30 minuti a 37°C, agitando di tanto in tanto in un bagnomaria*
d)	Digestione incompleta dei campioni di tessuto	Assicurarsi che il tessuto venga completamente digerito allungando il tempo di incubazione con proteinasi K.
e)	Ostruzione del puntale per pipetta a causa di materiale insolubile	Il materiale insolubile non è stato rimosso dal campione prima di avviare la procedura di purificazione QlAsymphony. Se necessario, utilizzare procedure di pretrattamento, come descritto nelle corrispondenti schede dei protocolli, ad esempio per campioni di materiali viscosi. Le schede dei protocolli sono disponibili nel sito www.qiagen.com/goto/dspdnakits .
f)	Preparazione di un buffy coat di scarsa qualità con l'uso del protocollo per buffy coat	Accertarsi che la frazione di leucociti venga efficacemente raccolta.

g) Conta leucocitaria bassa nel campione di sangue intero usato come materiale di partenza per la preparazione del buffy coat Se si utilizza il protocollo per buffy coat, aumentare il volume di sangue intero utilizzato e mantenere costante il volume dei leucociti raccolti.

h) Lisi incompleta dei tessuti

Se il lisato contiene materiale insolubile, allungare il tempo di incubazione con proteinasi K.

 i) Pellet dissolto durante il pretrattamento FFPE con xilene/etanolo Osservare accuratamente i campioni durante il pretrattamento.

Commenti e suggerimenti

DNA insufficiente utilizzato nelle applicazioni a valle

a) DNA insufficiente Quantificare il DNA purificato usando uno spettrofotometro per determinare nell'applicazione a valle l'assorbanza a 260 nm (vedere l'appendice a pag. 32).*

b) DNA in eccesso L'eccesso di DNA può inibire alcune reazioni enzimatiche. Quantificare il nell'applicazione a valle DNA purificato usando uno spettrofotometro per determinare l'assorbanza a 260 nm (vedere l'appendice a pag. 32).*

Basso rapporto A_{260}/A_{280} per il DNA purificato

Valore di assorbanza a 320 nm non sottratto dai valori di assorbanza ottenuti a 260 nm e 280 nm

Per correggere la presenza di particelle magnetiche nell'eluito, è consigliabile prendere un valore di assorbanza a 320 nm sottraendolo dai valori di assorbanza ottenuti a 260 nm e 280 nm (vedere l'appendice a pag. 32).*

^{*} Assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati periodicamente secondo le disposizioni del produttore.

Appendice: quantificazione e determinazione della purezza del DNA

Quantificazione del DNA

La concentrazione del DNA dovrebbe essere determinata misurando con uno spettrofotometro l'assorbanza a 260 nm (A_{260}). I valori di assorbanza a 260 nm dovrebbero rientrare in un intervallo compreso tra 0,1 e 1,0 per essere precisi. Un'assorbanza di 1 unità a 260 nm corrisponde a 50 μ g di DNA per millilitro ($A_{260} = 1 = 50 \mu$ g/ml).

Usare un tampone ATE per diluire i campioni e per calibrare lo spettrofotometro.

Il rapporto tra i valori dell'assorbanza a 260 nm e 280 nm fornisce una stima della purezza del DNA (vedere "Purezza del DNA" a pag. 33).

Misurare l'assorbanza a 320, 280 e 260 nm. Sottrarre il valore di assorbanza ottenuto a 320 nm dal valore ottenuto a 260 e 280 nm per correggere la possibile presenza di un valore di fondo.

Per calcolare la concentrazione e la resa del DNA usare la seguente formula: Concentrazione del campione di DNA = $50 \mu g/ml \times (A_{260} - A_{320}) \times fattore di diluizione. Quantità totale di DNA purificato = concentrazione x volume di campione in millilitri.$

In caso di trascinamento delle particelle magnetiche nell'eluito e di possibile influenza sull'applicazione a valle (ad es. il DNA purificato deve essere analizzato mediante sequenziamento capillare fluorescente), la provetta contenente l'eluito dovrebbe essere innanzitutto applicata ad un apposito separatore magnetico e l'eluito successivamente trasferito in una provetta pulita (vedere in basso).

Se le particelle magnetiche devono essere rimosse, applicare la provetta contenente il DNA ad un apposito separatore magnetico (ad es. QIAGEN 12-Tube Magnet, cat. n° 36912) finché la particelle magnetiche non si saranno separate. Se il DNA è in micropiastre, applicare la micropiastra ad un adequato separatore magnetico (ad es. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, cat. n° 36915) finché le particelle magnetiche non si saranno separate. Qualora il separatore magnetico non fosse disponibile, centrifugare la provetta contenente il DNA per 1 minuto alla massima velocità in una microcentrifuga per sedimentare le eventuali particelle magnetiche rimaste.

Nota: Per una quantificazione accurata del DNA mediante assorbanza a 260 nm, si consiglia di diluire il campione nel tampone di eluizione corrispondente. La diluizione del campione in acqua può produrre valori non precisi. Il tampone di eluizione presenta un'elevata assorbanza a 220 nm, il che può portare ad alti livelli di assorbanza di fondo se lo spettrofotometro non viene correttamente azzerato. L'evaporazione degli eluiti aumenta potenzialmente il rischio di impatto sulla misurazione, soprattutto quando si utilizzano piccole quantità di eluiti non diluiti. I kit QIAsymphony DSP DNA sono corredati di un tampone di eluizione extra in un flacone separato per ignorare lo spettrofotometro.

Purezza del DNA

La purezza si stabilisce calcolando il rapporto fra l'assorbanza corretta a 260 nm e l'assorbanza corretta a 280 nm; ad es. $(A_{260} - A_{320})/(A_{280} - A_{320})$. Il DNA puro ha un rapporto $A_{260} - A_{280}$ di 1,7-1,9.

33

Informazioni per gli ordini

Prodotto	Contiene	Cat. n°
QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)	Include 2 cartucce reagenti, rack per enzima e accessori	937236
QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (96)	Include 2 cartucce reagenti, rack per enzima e accessori	937255
Prodotti correlati		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	Tampone ATL, 4 x 50 ml, da utilizzare con i protocolli per tessuti QIAsymphony	939016
Deparaffinization Solution (1 x 50 ml)	Soluzione di deparaffinazione, 1 x 50 ml, da utilizzare con i protocolli per tessuti QIAsymphony	939018
Accessory Trough (10)	Recipienti accessori da utilizzare con il sistema QIAsymphony SP	997012
Reagent Cartridge Holder (2)	Supporto per cartuccia reagenti da utilizzare con il sistema QIAsymphony SP	997008
Tube Insert, 2 ml, v2, sample carrier, Qsym	Adattatore per provetta secondaria (per provette con tappo a vite da 2 ml) da utilizzare con il portaprovette del sistema QIAsymphony	9242083
Tube Insert, 11 mm, Revision, sample carrier, Qsym	Adattatore per provetta primaria (11 mm) da utilizzare con il portaprovette QIAsymphony	9242057
Tube Insert, 13 mm, sample carrier, Qsym	Adattatore per provetta primaria (13 mm) da utilizzare con il portaprovette QIAsymphony	9242058
Cooling Adapter, 2 ml, V2,	Adattatore di raffreddamento per	9020674

Qsym	provette con tappo a vite da 2 ml. Da utilizzare nel cassetto "Eluate" del sistema QlAsymphony.	
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Adattatore di raffreddamento per rack EMT. Da utilizzare nel cassetto "Eluate" del sistema QIAsymphony.	9020730
ample Prep Cartridges, 8-well (336)	Cartucce per la preparazione dei campioni a 8 pozzetti da utilizzare con il sistema QIAsymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	Coperchi per 8 barre da utilizzare con il sistema QIAsymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Puntali con filtro monouso, su rack; (8 x 128). Da utilizzare con il sistema QIAcube® e QIAsymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Puntali con filtro monouso, su rack; (8 x 128). Da utilizzare con il sistema QIAsymphony SP/AS.	997024
Tip Disposal Bags (15)	Sacchetti per lo smaltimento dei puntali da utilizzare con il sistema QIAsymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Magnete per la separazione delle particelle magnetiche in 12 provette da 1,5 ml o 2 ml.	36912
96-Well Magnet Type A	Magnete per la separazione delle particelle magnetiche in pozzetti di piastre a 96 pozzetti, 2 micropiastre FB a 96 pozzetti	36915
S-Blocks (24)	Blocchi a 96 pozzetti con pozzetti da 2,2 ml , 24 per scatola	19585
Reuse Seal Set (20)	Set sigillabili riutilizzabili per sigillare le cartucce reagenti QIAsymphony utilizzate solo parzialmente.	997006

Elution Microtubes CL (24 x 96)	Provette in polipropilene non sterili (capacità massima di 0,85 ml, capacità di conservazione inferiore a 0,7 ml, capacità di eluizione di 0,4 ml); 2304 in rack da 96; include strisce sigillanti	19588
QIAsymphony SP	Modulo per la preparazione dei campioni QIAsymphony, garanzia di 1 anno sulle parti e sulla funzionalità di laboratorio.	9001297

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti consultare il manuale del kit QIAGEN specifico. I manuali dei kit e i manuali d'uso QIAGEN sono disponibili nel sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza tecnica QIAGEN o al proprio distributore locale.

Pagina lasciata vuota intenzionalmente

Contratto di licenza per i kit QIAsymphony DSP DNA

L'uso di questo prodotto implica l'accettazione da parte dell'acquirente o dell'utente del prodotto dei seguenti termini:

- 1. Questo prodotto può essere utilizzato esclusivamente in conformità ai protocolli forniti insieme al prodotto e al presente manuale e soltanto con i componenti contenuti nel kit. QIAGEN non concede alcuna licenza, in relazione a qualunque proprietà intellettuale, per l'uso o l'aggiunta dei componenti del kit ad altri componenti non contenuti nel kit, ad eccezione di quanto descritto nei protocolli forniti insieme al prodotto, nel presente manuale e nei protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com. Alcuni di questi protocolli aggiuntivi sono stati forniti da utenti QIAGEN per altri utenti QIAGEN. Tali protocolli non sono stati completamente testati ad all'AGEN. QIAGEN non garantisce in alcun modo che non violino i diritti di terze parti.
- 2. Se non espressamente dichiarato nelle licenze, QIAGEN non garantisce in alcun modo che questi kit e/o il relativo impiego non violino i diritti di terze parti.
- 3. Il presente kit ed i relativi componenti sono concessi in licenza per l'impiego monouso e non possono essere riutilizzati, ripristinati o rivenduti.
- 4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
- 5. 5. L'acquirente e l'utente del kit concordano nel non consentire a nessuno di intervenire o consentire ad altri di realizzare o contribuire a realizzare azioni proibite. QIACEN può imporre presso qualunque tribunale i divieti del presente Contratto di Licenza Limitato, e recupererà tutte le spese di indagine e spese legali, comprese le parcelle degli avvocati, in qualunque azione per imporre il presente Contratto di Licenza Limitato o qualsiasi diritto di proprietà intellettuale correlato al kit e/o ai suoi componenti.

Per le condizioni di licenza aggiornate, consultare il sito www.qiagen.com.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony®, QIAcubb® (Gruppo QIAGEN); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). I marchi, i nomi registrati, ecc. utilizzati nel presente documento, anche se non contrassegnati specificamente come tali, vanno considerati protetti dalla legge. 08/2015 HB-0977-004

© 2012-2015 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

