

Novembre 2022

Istruzioni per l'uso (Manuale) di EZ1[®] DSP Virus Kit



48

Versione 5



Per uso diagnostico in vitro
Per l'uso con gli strumenti BioRobot[®] EZ1 DSP,
EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL
Per l'uso con lo strumento EZ2[®] Connect MDx
(con software versione 1.1 o successiva)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANIA



R2

1129846IT

Contenuto

| | |
|--|----|
| Uso previsto | 4 |
| Utente previsto | 4 |
| Descrizione e principio | 5 |
| Sommario e spiegazioni | 6 |
| Materiali in dotazione..... | 8 |
| Contenuto del kit..... | 8 |
| Componenti del kit | 9 |
| Materiale necessario ma non in dotazione | 10 |
| Avvertenze e precauzioni | 12 |
| Informazioni sulla sicurezza..... | 13 |
| Precauzioni | 14 |
| Informazioni di emergenza..... | 14 |
| Smaltimento..... | 15 |
| Conservazione e manipolazione dei reagenti | 16 |
| Stabilità durante l'uso | 17 |
| Conservazione e manipolazione dei campioni..... | 18 |
| Campioni di plasma e siero..... | 18 |
| Campioni di feci | 20 |
| Tamponi nasofaringei raccolti in UTM..... | 20 |
| Campioni di liquido cerebrospinale (CSF) | 20 |
| Campioni di batteri Gram-positivi..... | 21 |
| Volumi di eluizione e manipolazione degli eluiti | 21 |

| | |
|--|----|
| Conservazione di acidi nucleici virali/DNA batterico | 21 |
| Procedura | 22 |
| Utilizzo degli strumenti EZ2 Connect MDx..... | 22 |
| Lavorare con gli strumenti EZ1 | 29 |
| Preparazione dell'RNA trasportatore (CARRIER) | 36 |
| Uso di un controllo interno (Internal Control, IC)..... | 37 |
| Protocollo: Pretrattamento delle feci | 39 |
| Protocollo: pretrattamento per l'isolamento del DNA genomico dei batteri Gram-positivi ... | 41 |
| Protocollo: Purificazione degli acidi nucleici virali e del DNA batterico utilizzando l'EZ2 Connect MDx.... | 42 |
| Protocollo: Purificazione degli acidi nucleici virali e del DNA batterico utilizzando gli strumenti EZ1 | 51 |
| Controllo qualità..... | 57 |
| Limitazioni | 58 |
| Caratteristiche delle prestazioni..... | 59 |
| Guida alla risoluzione dei problemi..... | 60 |
| Simboli..... | 63 |
| Informazioni di contatto..... | 67 |
| Appendice A: Messaggi sul display su strumenti EZ1/EZ2 | 68 |
| Appendice B: calcolo del numero di controlli interni (Internal Control, IC)..... | 89 |
| Appendice C: Foglio campione da utilizzare con il sistema EZ1 DSP Virus..... | 93 |
| Informazioni per gli ordini | 95 |
| Cronologia delle revisioni del documento | 97 |

Uso previsto

L'EZ1 DSP Virus Kit utilizza la tecnologia a particelle magnetiche per l'isolamento e la purificazione automatizzata degli acidi nucleici virali e/o del DNA batterico da campioni biologici.

L'EZ1 DSP Virus Kit è destinato alla diagnostica in vitro.

Utente previsto

Questo prodotto è rivolto a utenti professionisti, quali tecnici e medici esperti in tecniche di biologia molecolare.

Descrizione e principio

La tecnologia a particelle magnetiche abbina la velocità e l'efficienza della purificazione degli acidi nucleici a base di silice al pratico trattamento delle particelle magnetiche. Il metodo della purificazione è stato concepito per garantire un trattamento sicuro e riproducibile di campioni potenzialmente infetti. La procedura di purificazione comprende 4 fasi: lisi, legame, lavaggio ed eluzione (vedere le sezioni seguenti e il diagramma di flusso a pagina 7). Il pretrattamento del campione è obbligatorio per le feci. Fare riferimento al protocollo di pretrattamento per il rispettivo materiale campione.

Lisi con proteinasi K

La proteolisi di campioni viene eseguita in condizioni altamente denaturanti a temperatura elevate. La lisi viene eseguita in presenza di proteinasi K e di un tampone di lisi, che insieme garantiscono la digestione delle proteine del rivestimento virale e l'inattivazione delle nucleasi.

Legame con particelle magnetiche

Il tampone di legame viene aggiunto ai campioni lisati per adeguarsi alle condizioni di legame. I lisati sono completamente mischiati alle particelle magnetiche per consentire un perfetto assorbimento degli acidi nucleici virali e del DNA batterico alla superficie di silice. Le condizioni del sale e del pH garantiscono che le proteine ed altri contaminanti, che possono inibire la PCR ed altre reazioni enzimatiche downstream, non si leghino alla particelle magnetiche.

Lavaggio degli acidi nucleici legati

Mentre gli acidi nucleici virali e il DNA batterico rimangono legati alle particelle magnetiche, i contaminanti vengono rimossi efficacemente durante una sequenza di 3 fasi di lavaggio, seguita da una fase di risciacquo e asciugatura all'aria.

Eluizione di acidi nucleici puri

Acidi nucleici virali e DNA batterico altamente puri vengono eluiti nel tampone di eluizione (AVE) in una singola fase. Gli acidi nucleici purificati possono essere sia utilizzati immediatamente in applicazioni downstream, sia conservati per il futuro.

Sommario e spiegazioni

L'EZ1 DSP Virus Kit fornisce una procedura automatizzata per la purificazione simultanea degli acidi nucleici virali e del DNA batterico dai seguenti materiali campione utilizzando strumenti EZ1 o EZ2 Connect MDx:

- Siero e plasma
- Liquido cerebrospinale (CSF)
- Feci
- Tamponi nasofaringei raccolti in UTM

Il kit può essere utilizzato per purificare gli acidi nucleici da un'ampia gamma di virus a DNA ed RNA, nonché DNA batterico. Tuttavia l'efficacia del kit per ogni specie patogena estratta da uno qualsiasi dei materiali campione non è garantita e deve essere convalidata 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 all'uso per la rilevazione altamente sensibile negli esami downstream, quale l'amplificazione. Gli strumenti EZ1 (EZ1 Advanced, BioRobot EZ1 DSP e EZ1 Advanced XL) ed EZ2 Connect MDx eseguono tutte le fasi della procedura di preparazione dei campioni per un massimo di 6 campioni (utilizzando EZ1 Advanced o BioRobot EZ1 DSP; entrambi fuori produzione), per un massimo di 14 campioni (utilizzando EZ1 Advanced XL) o per un massimo di 24 campioni (utilizzando EZ2 Connect MDx) in un singolo processo.

Procedura EZ1 DSP Virus

Siero, plasma, CSF, feci e tamponi rinofaringei raccolti in UTM



Lisi con proteinasi K e
tampone di lisi



Particelle magnetiche e tampone
di legame aggiunti ai lisati



Gli acidi nucleici si legano alle
particelle magnetiche



Separazione
magnetica



Tre fasi di lavaggio seguite
da risciacquo e asciugatura
all'aria



Separazione
magnetica



Eluito con tampone di eluizione
(AVE)



Acidi nucleici virali e/o DNA batterico purificati di
alta qualità

Materiali in dotazione

Contenuto del kit

| | | | |
|-------------------------------|--|--|--------------|
| EZ1 DSP Virus Kit | | | (48) |
| Numero di catalogo | | | 62724 |
| Numero di preparazioni | | | 48 |
| RCV | Reagent Cartridge, Virus 350 µL*† (Cartuccia reagenti, virus da 350 µL*†) | REAG CART VIRUS | 48 |
| DTH | Disposable Tip Holders (Porta-puntali monouso) | DISP TIP HOLD | 50 |
| DFT | Disposable Filter-Tips (Puntali con filtro monouso) | DISP FILT TIP | 50 |
| ST | Sample Tubes (2 mL) (Provette per campioni (2 mL)), senza base | SAMP TUBE | 2 x 50 |
| ET | Elution Tubes (1.5 mL) (Provette di eluizione (1,5 mL)) | ELU TUBE | 2 x 50 |
| CARRIER | Carrier RNA (RNA trasportatore) | CAR RNA | 310 µg |
| AVE | Elution Buffer† (Tampone di eluizione) | ELU BUF | 3 x 2 mL |
| | Q-Card‡ | | 1 |
| | Istruzioni per l'uso |  | 1 |

* Contiene sale di guanidina. Non compatibile con disinfettanti contenenti candeggina. Vedere pagina 13 per Informazioni sulla sicurezza.

† Contiene azide di sodio come conservante.

‡ Le informazioni contenute nel codice a barre sulla Q-Card sono necessarie per il tracciamento dei dati dei reagenti utilizzando gli strumenti EZ1 Advanced, EZ1 Advanced XL ed EZ2 Connect MDx.

Componenti del kit

I componenti principali del kit contenenti principi attivi sono spiegati di seguito.

Tabella 1. Reagenti forniti contenenti principi attivi

| Reagente | Componenti | Concentrazione (p/p) [%] |
|--------------------------------|----------------------|---------------------------------|
| RCV (Cartuccia reagenti virus) | Etanolo | Tra ≥ 70 e < 90 |
| | Isopropanolo | Tra ≥ 70 e < 90 |
| | Guanidina tiocianato | Tra ≥ 30 e < 50 |
| | Guanidina cloridrato | Tra ≥ 30 e < 50 |
| | Proteinasi K | Tra ≥ 1 e < 10 |
| | Cloruro di litio | Tra ≥ 1 e < 10 |

Materiale necessario ma non in dotazione

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, è opportuno indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le rispettive schede tecniche di sicurezza, (Safety Data Sheet, SDS) reperibili presso il fornitore.

Tutti i protocolli

- Pipette* e puntali per pipette sterili senza RNasi
- Provette di reazione (solo per tipi di campioni specifici)
- Tessuto di carta soffice
- Acqua
- 70% di etanolo (per le procedure di pulizia)
- Facoltativo: Vortexer* (se devono essere miscelati campioni)
- Optional: microcentrifuga* (se si devono rimuovere le particelle magnetiche dagli eluiti)

Per il pretrattamento delle feci

- Buffer ASL (n. cat. 19082)
- Agitatore Vortex
- Agitatore termico* o Bagno d'acqua a 70°C*

Per l'isolamento del DNA genomico da batteri Gram-positivi

- Lisozima, Tris-HCl, EDTA, Triton X-100
- Agitatore termico* o Bagno d'acqua a 37°C*
- Centrifuga (in grado di funzionare a 5000 x g)

* Assicurarsi che gli strumenti siano stati controllati, sottoposti a manutenzione e calibrati regolarmente in base alle indicazioni del produttore.

Per gli utenti di BioRobot EZ1

- Strumento BioRobot EZ1 DSP* (fuori produzione)
- EZ1 DSP Virus Card (n. cat. 9017707)

Per gli utenti di EZ1 Advanced

- Strumento EZ1 Advanced*(fuori produzione)
- EZ1 Advanced DSP Virus Card (n. cat. 9018306)

Per gli utenti di EZ1 Advanced XL

- Strumento EZ1 Advanced XL* (n. cat. 9001492)
- EZ1 Advanced XL DSP Virus Card (n. cat. 9018703)

Per utenti di EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL

- Per il monitoraggio dei campioni, è richiesto uno dei seguenti dispositivi:
 - PC (incluso monitor) con software EZ1 Advanced Communicator (software fornito con strumenti EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL)
 - Stampante
 - Per ulteriori dettagli, consultare il rispettivo manuale dello strumento

Utenti dell'EZ2 Connect MDx

- Strumento EZ2 Connect MDx* (n. cat. 9003230)

* Assicurarsi che gli strumenti siano stati controllati, sottoposti a manutenzione e calibrati regolarmente in base alle indicazioni del produttore

* Assicurarsi che gli strumenti siano stati controllati, sottoposti a manutenzione e calibrati regolarmente in base alle indicazioni del produttore.

Avvertenze e precauzioni

Tenere presente che potrebbe essere richiesto di consultare le norme locali per la segnalazione al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità di regolamentazione del Paese dell'utente e/o del paziente di gravi incidenti verificatisi in relazione al dispositivo.

Per uso diagnostico in vitro.

Leggere attentamente tutte le istruzioni prima di utilizzare il kit.

Tenere presenti i seguenti rischi residui:

- Durante l'utilizzo di provette secondarie (provette per campioni , "ST"), assicurarsi che gli ID campione non vengano confusi durante il trasferimento dell'ID campione dalla provetta primaria a quella secondaria.
- Gli ID campione possono anche essere inseriti manualmente (per i dettagli fare riferimento ai manuali utente dello strumento EZ1 o EZ2). Se vengono inseriti manualmente dati di ID errati, può verificarsi una correlazione errata tra campione e paziente.

Informazioni sulla sicurezza

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, è opportuno indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le corrette schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS). Queste sono disponibili online in formato PDF all'indirizzo www.qiagen.com/safety, dove è possibile visualizzare e stampare le schede SDS per ciascun kit QIAGEN® e i relativi componenti.

AVVERTENZA Rischio di lesioni personali



NON aggiungere candeggina o soluzioni acide direttamente alle sostanze di scarto della preparazione dei campioni.

- Alcuni tamponi nelle cartucce reagenti (RCV) contengono guanidina cloridrato oppure guanidina isotiocianato, che possono formare dei composti altamente reattivi se abbinati a sbiancanti.
- Se si rovescia il liquido di questi tamponi, pulire con acqua e idoneo detergente da laboratorio. Qualora del liquido contenente agenti potenzialmente infetti fosse versato su uno strumento EZ1 o EZ2, disinfettare lo strumento usando i reagenti descritti nel manuale utente relativo allo strumento EZ1 o EZ2.
- Le cartucce reagenti rotte o che perdono liquido (RCV) devono essere smaltite in conformità alle norme di sicurezza vigenti a livello locale. Non utilizzare cartucce reagenti (RCV) danneggiate, né altri componenti del kit danneggiati, in quanto il loro utilizzo potrebbe comportare prestazioni ridotte del kit, lesioni all'utente o danni allo strumento.
- QIAGEN non ha testato i residui liquidi generati dal processo EZ1 DSP Virus per verificare la presenza di materiali residui infetti. La contaminazione dei liquidi di scarico da parte di materiali infetti residui è improbabile ma non può essere esclusa completamente. Pertanto, i liquidi di scarico residui devono essere considerati infetti e vanno smaltiti in conformità alle normative di sicurezza locali vigenti in materia.
- I campioni sono potenzialmente infettivi. Smaltire campioni e materiali di scarto dell'esame nel rispetto delle procedure di sicurezza locali.

Precauzioni

Ai componenti dell'EZ1 DSP Virus Kit sono associate le seguenti informazioni su rischi e misure precauzionali:

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



Contiene: etanolo, guanidina cloridrato, guanidina tiocianato, isopropanolo, cloruro di litio e proteinasi K. Pericolo! Liquido e vapore altamente infiammabile. Nocivo se ingerito o inalato. Può essere nocivo in caso di contatto con la pelle. Provoca gravi ustioni alla pelle e lesioni oculari. Se inalato, può causare sintomi di asma e allergia o difficoltà respiratorie. Può essere irritante per le vie respiratorie. Può provocare sonnolenza o vertigini. Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. A contatto con acidi libera gas molto tossico. Conservare lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici molto calde. Non fumare. Evitare di respirare le polveri/i fumi/i gas/il prodotto nebulizzato/i vapori/gli aerosol. Indossare guanti/abbigliamento protettivo/protezione per gli occhi/la faccia. Indossare una protezione per la respirazione. **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 esposizione o di possibile esposizione:** Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Portare la persona all'aria aperta e mantenerla tranquilla in posizione confortevole per la respirazione. Lavare gli indumenti contaminati prima di riutilizzarli. Conservare in luogo ben ventilato. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto ufficialmente approvato per lo smaltimento dei rifiuti.

Informazioni di emergenza

CHEMTEC

USA e Canada 1-800-424-9300

Al di fuori di Stati Uniti e Canada +1 703-527-3887

Smaltimento

I materiali di scarto contengono campioni e reagenti. Tali materiali di scarto possono contenere materiali tossici o infettivi, pertanto devono essere smaltiti opportunamente.

Smaltire come rifiuto pericoloso nel rispetto delle normative locali e nazionali. Questo vale anche per i prodotti non utilizzati.

Non smaltire i rifiuti liquidi nelle fognature.

Seguire le raccomandazioni contenute nella scheda tecnica di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS).

Consultare le normative di sicurezza locali per le corrette procedure di smaltimento. Vedi anche "Avvertenze e precauzioni", a partire dalla pagina 12.

Per maggiori informazioni, consultare le corrette schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS). Le schede SDS in formato PDF sono disponibili online all'indirizzo www.qiagen.com/safety. Qui è possibile reperire, visualizzare e stampare la scheda SDS per ciascun kit QIAGEN e i relativi componenti.

Conservazione e manipolazione dei reagenti

Conservare le cartucce reagenti (RCV) in verticale a temperatura ambiente (15–25°C). Le particelle magnetiche nelle cartucce reagenti (RCV) rimangono attive se conservate a questa temperatura. Non congelare le cartucce reagenti (RCV). Se conservate correttamente, le cartucce reagenti (RCV) sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla Q-Card e sulla scatola del kit e sul codice a barre della RCV.

L'RNA trasportatore (CARRIER) liofilizzato è stabile fino alla data di scadenza sulla scatola del kit, se stoccato a temperatura ambiente.

Durante la conservazione a temperatura ambiente si possono formare precipitati nel tampone di pretrattamento ASL. Incubare il flacone a 50-56°C per 15-20 minuti e agitarlo manualmente due volte entro questo periodo di incubazione.

- ❗ Non utilizzare l'EZ1 DSP Virus Kit o il Buffer ASL una volta scaduto. Evitare l'esposizione dell'RCV o del Buffer ASL alla luce UV (ad es., utilizzata per la decontaminazione), in quanto potrebbe causare un invecchiamento accelerato dei tamponi.
- ❗ Non utilizzare cartucce reagenti (RCV) se danneggiate o già aperte.
- ❗ Non rimuovere la pellicola dalle cartucce reagenti. Sarà forata automaticamente dallo strumento.

Stabilità durante l'uso

Le cartucce reagenti (RCV) sono esclusivamente monouso e non forniscono stabilità durante l'uso.

La soluzione madre ricostituita di RNA trasportatore (CARRIER) ha una concentrazione di 1 ng/ μ l ed è stabile fino a 4 settimane se conservata a 2-8°C.

Il tampone di pretrattamento ASL è stabile fino a 6 mesi dopo la prima apertura/il primo utilizzo del flacone, quando viene richiuso e conservato a temperatura ambiente (15-25°C).

-  Si raccomanda di annotare la data di prima apertura/primo utilizzo del flacone di tampone ASL sul flacone, per garantire che non superi la stabilità durante l'uso.
-  Se la durata di conservazione del kit residua è inferiore a 6 mesi, il tampone ASL non può essere utilizzato dopo la data di scadenza.

Conservazione e manipolazione dei campioni

Durante la procedura di pretrattamento e le preparazioni successive, i campioni devono essere maneggiati in modo appropriato per impedire che vengano confusi.

La procedura di purificazione è ottimizzata per l'uso con 100, 200 o 400 µl di volumi di campione.

- ❗ Non utilizzare volumi di campioni inferiori o superiori a 100, 200 o 400 µl, in quanto ciò potrebbe causare problemi di prestazioni o danneggiare lo strumento.

La stabilità del campione dipende molto da vari fattori e si riferisce alla specifica applicazione downstream. È stato stabilito per l'EZ1 DSP Virus Kit in combinazione con applicazioni downstream esemplari. È responsabilità dell'utente consultare le istruzioni per l'uso della specifica applicazione downstream utilizzata nel proprio laboratorio e/o convalidare l'intero flusso di lavoro per stabilire condizioni di conservazione appropriate.

- ❗ Per le raccomandazioni generali di raccolta, trasporto e conservazione, fare riferimento alle linee guida CLSI MM13-A approvate "Raccolta, trasporto, preparazione e conservazione di campioni per metodi molecolari". Inoltre, durante la preparazione, la conservazione, il trasporto e la manipolazione generale dei campioni devono essere seguite le istruzioni del produttore per il dispositivo/kit di raccolta dei campioni utilizzato.

Campioni di plasma e siero

Per la raccolta del sangue, seguire le istruzioni del produttore relative alle provette di raccolta del sangue (Blood Collection Tubes, BCT) utilizzate. In particolare devono essere prese in considerazione le istruzioni per il corretto posizionamento della BCT durante la raccolta ematica, il volume di riempimento richiesto e le istruzioni per una miscelazione e un'inversione delicate della BCT dopo la raccolta ematica.

Nota: la miscelazione errata e/o insufficiente dei campioni di sangue può essere una delle variabili pre-esame più importanti. A meno che gli additivi nelle provette di raccolta ematica non siano miscelati in modo omogeneo con il campione, la qualità virale dell'acido nucleico può essere compromessa, il che può influire sulla validità e sull'affidabilità dei risultati dell'esame.

È possibile usare i campioni di sangue trattati con EDTA oppure citrato come anticoagulante per la preparazione del plasma. I campioni di plasma e siero possono essere sia freschi che congelati, a condizione che non siano stati ricongelati dopo lo scongelamento.

Per l'esame dell'acido nucleico virale si raccomanda di iniziare la preparazione plasmatica dei campioni di sangue mediante centrifugazione immediatamente dopo il trasporto (massimo 2 ore a temperatura ambiente). In caso di ritardo, le provette di raccolta ematica con EDTA e citrato possono essere conservate a 4°C per un massimo di 6 ore fino alla centrifugazione e alla preparazione del plasma. I campioni di siero devono essere conservati a temperatura ambiente per un massimo di 2 ore fino alla centrifugazione. Le condizioni e la durata della conservazione devono essere documentate.

Dopo la preparazione del plasma e del siero, per una conservazione più prolungata si raccomanda di conservare aliquote dei campioni a una temperatura compresa tra -20°C e -80°C. Scongela aliquote di campione congelate a 25°C per 30-90 minuti. Capovolgere le provette per campioni almeno 10 volte ed elaborare immediatamente i campioni quando si sono equilibrati a temperatura ambiente. Non ricongelare le aliquote dopo lo scongelamento. Un congelamento-scongelo ripetuto causa la denaturazione e la precipitazione delle proteine, con conseguente riduzione dei titoli virali e batterici e quindi delle rese di acidi nucleici virali e DNA batterico. Se nei campioni sono visibili dei crioprecipitati, centrifugare a 6800 x g per 3 minuti ± 30 secondi, trasferire i supernatanti per rinfrescare le provette senza disturbare i pellet e avviare subito il processo di purificazione. Questo passaggio non ridurrà i titoli virali, ma i titoli batterici potrebbero essere influenzati.

Campioni di feci

Dopo la raccolta, conservare e trasportare i campioni di feci a 2-8°C. Per l'estrazione di acidi nucleici virali o batterici dalle feci è raccomandato un volume di campione di 200 µl. Prima dell'estrazione si deve eseguire un pretrattamento sullo strumento EZ1 o EZ2 (vedere pagina 39 per "Protocollo: Pretrattamento delle feci").

Per le raccomandazioni generali di raccolta, trasporto e conservazione, fare riferimento alle linee guida CLSI MM13-A approvate "Raccolta, trasporto, preparazione e conservazione di campioni per metodi molecolari".

Tamponi nasofaringei raccolti in UTM

I tamponi nasofaringei raccolti in UTM possono essere trasportati a temperatura ambiente.

Per le raccomandazioni generali di raccolta, trasporto e conservazione, fare riferimento alle linee guida CLSI MM13-A approvate "Raccolta, trasporto, preparazione e conservazione di campioni per metodi molecolari".

Campioni di liquido cerebrospinale (CSF)

Per gli studi sul DNA, i campioni di liquido cerebrospinale devono essere trasportati a 2-8°C. Per gli studi sull'RNA, i campioni di liquido cerebrospinale devono essere trasportati congelati su ghiaccio secco.

Per le raccomandazioni generali di raccolta, trasporto e conservazione, fare riferimento alle linee guida CLSI MM13-A approvate "Raccolta, trasporto, preparazione e conservazione di campioni per metodi molecolari".

Campioni di batteri Gram-positivi

Per l'estrazione del DNA di batteri Gram-positivi difficili da lisare, prima dell'estrazione può essere eseguita un'ulteriore fase di pre-lisi comprendente la digestione del lisozima sullo strumento EZ1 o EZ2 Connect MDx (vedere pagina 41, "Protocollo: pretrattamento per l'isolamento del DNA genomico dei batteri Gram-positivi").

Volumi di eluizione e manipolazione degli eluiti

La fase finale della procedura di purificazione è l'eluizione degli acidi nucleici virali e del DNA batterico in un volume finale di 60, 90, 120 o 150 µl.

Se il materiale campione è costituito da feci, si consiglia di scegliere un volume di eluizione di 120-150 µl.

Se gli eluiti ottenuti dalle feci sono torbidi, centrifugare a piena velocità (20.000 x g) per 3 minuti per renderli trasparenti. Questo trattamento migliorerà le prestazioni degli eluiti torbidi nelle applicazioni downstream.

Conservazione di acidi nucleici virali/DNA batterico

Per una conservazione a breve termine fino a 24 ore, si consiglia di conservare gli acidi nucleici virali o il DNA batterico purificati a 2-8°C. Per una conservazione a lungo termine superiore a 24 ore, si consiglia di conservare a -80°C per un massimo di 12 mesi o -20°C per un massimo di 12 settimane. La stabilità degli acidi nucleici potrebbe essere diversa per la specifica applicazione downstream utilizzata e deve essere autoconvalidata dall'utente.

La stabilità dell'eluuto dipende molto da vari fattori e si riferisce alla specifica applicazione downstream. È stato stabilito per l'EZ1 DSP DNA Virus Kit in combinazione con applicazioni downstream esemplari. È responsabilità dell'utente consultare le istruzioni per l'uso della specifica applicazione downstream utilizzata nel proprio laboratorio e/o convalidare l'intero flusso di lavoro per stabilire condizioni di conservazione appropriate.

Procedura

L'EZ1 DSP Virus Kit può essere utilizzato su più tipi di strumenti:

- L'EZ2 Connect MDx
- L'EZ1 Advanced XL and EZ1 Advanced (fuori produzione)
- Il BioRobot EZ1 DSP (fuori produzione)

Utilizzo degli strumenti EZ2 Connect MDx

Le caratteristiche principali degli strumenti EZ2 Connect MDx includono:

- Purificazione automatica degli acidi nucleici di alta qualità da 1 a 24 i campioni per processo
- Protocolli preinstallati pronti all'uso
- Cartucce reagenti riempite in precedenza e sigillate per una preparazione facile, rapida e sicura
- Un lettore di codici a barre esterno, che viene utilizzato per leggere ID campione e ID kit (Q-card)
- Interfaccia grafica utente (Graphical User Interface, GUI)
- Una fotocamera interna, utilizzata per i controlli di carico automatici e la lettura del codice a barre della cartuccia reagenti
- Lampada UV per supportare la decontaminazione delle superfici del piano di lavoro

Ulteriori caratteristiche di EZ2 Connect MDx includono:

- Connettività LIMS e QIASphere (LAN o WiFi tramite porte USB)
- Gestione utenti estesa

- ❗ La decontaminazione UV aiuta a ridurre l'eventuale contaminazione da patogeni delle superfici del piano di lavoro dell'EZ2 Connect MDx. L'efficace inattivazione dei patogeni deve essere determinata per ciascun organismo specifico e dipende, ad esempio, dallo spessore dello strato e dal tipo di campione. QIAGEN non può garantire la totale eradicazione di specifici agenti patogeni.

Procedura operativa EZ2 Connect MDx

Prima di procedere, si consiglia di familiarizzare con le caratteristiche dello strumento come descritto nel *Manuale utente EZ2 Connect MDx* (che può essere trovato nella scheda delle risorse della pagina del prodotto su www.qiagen.com).

- ❗ La cappa dell'EZ2 Connect MDx deve rimanere chiusa e si bloccherà automaticamente mentre lo strumento è in funzione. Aprire la cappa solo se richiesto nelle istruzioni per l'uso. Il piano di lavoro dello strumento EZ2 Connect MDx si sposta durante il funzionamento dello strumento. Non aprire mai la cappa dell'EZ2 Connect MDx mentre lo strumento è in funzione.

Per preparare un processo protocollo, chiudere la cappa e accendere lo strumento. Per le applicazioni MDx, scegliere la modalità IVD al momento dell'accesso. Premere la scheda Setup (Preparazione) nella schermata iniziale e scansionare il codice a barre monodimensionale sulla Q-card fornita con l'EZ1 DSP Virus kit (Figura 1) premendo il pulsante Scan (Scansiona). I protocolli dedicati vengono visualizzati automaticamente quando si esegue la scansione della Q-card.

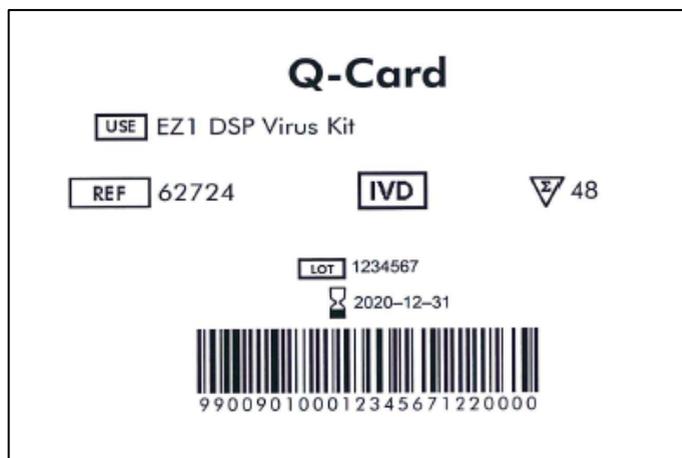


Figura 1. Esempio di Q-Card.

Il software EZ2 Connect MDx guiderà attraverso la procedura di preparazione del processo protocollo.

Cartucce reagenti (RCV)

I reagenti per purificare gli acidi nucleici da un singolo campione sono contenuti in una singola cartuccia reagenti (RCV) (Figura 2). La maggior parte dei pozzetti della cartuccia (RCV) contiene un particolare reagente, ad esempio particelle magnetiche, tampone di lisi, tampone di lavaggio oppure tampone di eluizione privo di RNasi (AVE). Visto che ogni pozzetto contiene soltanto la quantità di reagente richiesta, si evita di generare dei residui addizionali relativi alla rimanenza di reagente presente al termine della fase di purificazione.

Le cartucce reagenti (RCV) in dotazione all'EZ1 DSP Virus kit sono riempite in precedenza con tutti i reagenti necessari per purificare gli acidi nucleici virali e il DNA batterico, ad eccezione dell'RNA trasportatore (CARRIER). L'RNA trasportatore (CARRIER) e i controlli interni (Internal Control, IC) (opzionali) vengono aggiunti in una provetta all'esterno della cartuccia reagenti (RCV).



Figura 2. Cartuccia reagenti (RCV). Cartuccia reagenti (RCV) sigillata e preriempita dell'EZ1 DSP Virus Kit.



Figura 3. Rack cartucce reagenti. Il rack delle cartucce stesso è contrassegnato da una freccia che indica la direzione nella quale devono essere caricate le cartucce reagenti (RCV).

Piano di lavoro

Il piano di lavoro degli strumenti EZ2 Connect MDx è il punto in cui l'utente carica i campioni e i componenti dell'EZ1 DSP Virus Kit (Figura 4 e Figura 5).

I dettagli sulla preparazione del piano di lavoro vengono visualizzati sul touch screen dell'interfaccia grafica utente (Graphical User Interface, GUI).

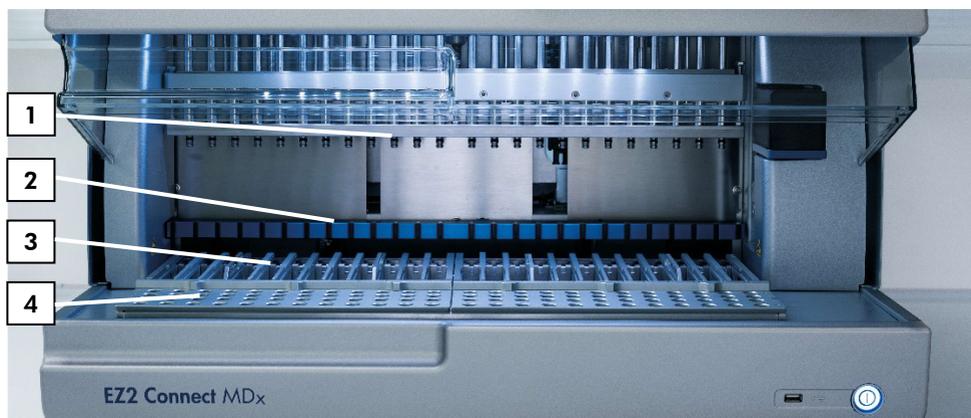


Figura 4. Panoramica di uno strumento EZ2 Connect MDx. (1) Testa di pipettaggio, (2) modulo magnete, (3) rack cartucce e (4) rack puntali (supporto per materiale da laboratorio).



Figura 5. Piano di lavoro di uno strumento EZ2 Connect MDx. (1) Blocco riscaldante con provette da 2 ml (ST) nelle cartucce reagenti (RCV) per la lisi. (2) Provette per campioni (ST) (2 ml) caricate nella fila A. (3) Provetta (ET) (1,5 ml) contenente RNA trasportatore (CARRIER) e controllo interno (Internal Control, IC) (se usato) in tampone di eluizione (AVE), caricato nella fila B. (4) Porta-puntali monosw (DTH) contenenti puntali con filtro monosw (DFT) caricate nella fila C. (5) Provette di eluizione (ET) (1.5 ml) caricate nella fila D.

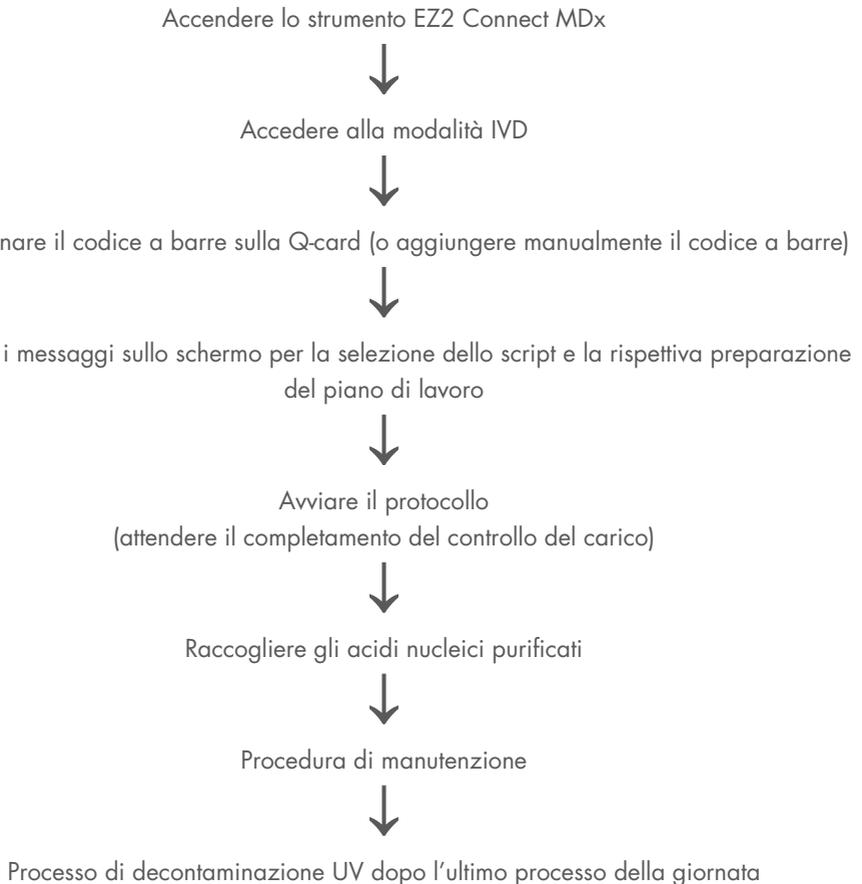
Monitoraggio dati con EZ2 Connect MDx

L'EZ2 Connect MDx consente il monitoraggio completo di numerosi dati per aumentare il controllo e l'affidabilità del processo. L'ID utente viene monitorato tramite l'accesso al software. Il numero di lotto e la data di scadenza dell'EZ1 DSP Virus Kit vengono inseriti all'inizio del protocollo tramite il codice a barre della Q-Card o manualmente utilizzando il touch screen. Le informazioni sul campione e le impostazioni del processo vengono immesse durante la preparazione del protocollo. Alla fine del processo del protocollo viene automaticamente generato un file referto. Nella sezione "Data" (Dati) dell'interfaccia grafica utente (Graphical User Interface, GUI), i report di processo possono essere scaricati su una chiavetta USB (sempre in entrambi i formati di file ".pdf" e ".xml").

Se è stata stabilita la connettività WiFi/LAN per lo strumento EZ2 Connect MDx, le informazioni su processo e campione possono essere elaborate direttamente tramite LIMS (se configurato).

Per ulteriori dettagli sulla preparazione dello strumento EZ2 Connect MDx, vedere il *Manuale utente EZ2 Connect MDx* (che può essere trovato nella scheda delle risorse della pagina del prodotto su www.qiagen.com).

Flusso di lavoro del sistema EZ1 DSP Virus su EZ2 Connect MDx



Lavorare con gli strumenti EZ1

Le caratteristiche principali degli strumenti EZ1 includono:

- Purificazione di acidi nucleici di alta qualità da 1 a 6 (BioRobot EZ1 DSP e EZ1 Advanced) o da 1 a 14 (EZ Advanced XL) campioni per processo
- Ingombro minimo per limitare lo spazio occupato in laboratorio
- Card EZ1 DSP preprogrammate contenenti protocolli pronti all'uso
- Cartucce reagenti riempite in precedenza e sigillate per una preparazione facile, rapida e sicura
- Automazione completa della purificazione degli acidi nucleici

Le caratteristiche aggiuntive del sistema EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL comprendono:

- Lettura dei codici a barre e monitoraggio dei campioni
- Monitoraggio dei dati del kit con la Q-Card contenuta nel kit
- Lampada UV per supportare la decontaminazione delle superfici del piano di lavoro

 La decontaminazione UV aiuta a ridurre l'eventuale contaminazione da patogeni delle superfici del piano di lavoro EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL. L'efficace inattivazione dei patogeni deve essere determinata per ciascun organismo specifico e dipende, ad esempio, dallo spessore dello strato e dal tipo di campione. QIAGEN non può garantire la totale eradicazione di specifici agenti patogeni.

Card EZ1 DSP, EZ1 Advanced DSP ed EZ1 Advanced XL DSP

Il protocollo EZ1 DSP Virus per la purificazione degli acidi nucleici virali e del DNA batterico è memorizzato sulle card EZ1 preprogrammate (card a circuito integrato). L'utente inserisce semplicemente una card EZ1 Advanced XL DSP nel sistema EZ1 Advanced XL, una EZ1 Advanced DSP Card nel sistema EZ1 Advanced o una EZ1 DSP Card* nello strumento BioRobot EZ1 DSP, e lo strumento è pronto a eseguire il protocollo (Figura 6 e Figura 7).



Figura 6. Preparazione agevolata del protocollo tramite le card EZ1 DSP. Inserimento di una EZ1 Card, preprogrammata con il protocollo, nello strumento EZ1.

- ❗ Lo strumento deve essere acceso solo dopo aver inserito una EZ1 Card ed essersi assicurati che EZ1 Card sia completamente inserita! Altrimenti si verificherà una perdita di dati essenziali dello strumento con conseguente errore di memoria. Le card EZ1 non devono essere sostituite mentre lo strumento è acceso.



Figura 7. Card completamente inserita nella slot per EZ1 Card.

Cartucce reagenti (RCV)

I reagenti per purificare gli acidi nucleici da un singolo campione sono contenuti in una singola cartuccia reagenti (RCV) (Figura 8 e Figura 9). La maggior parte dei pozzetti della cartuccia (RCV) contiene un particolare reagente, ad esempio particelle magnetiche, tampone di lisi, tampone di lavaggio oppure tampone di eluizione privo di RNasi (AVE). Visto che ogni pozzetto contiene soltanto la quantità di reagente richiesta, si evita di generare dei residui addizionali relativi alla rimanenza di reagente presente al termine della fase di purificazione.

Le cartucce reagenti (RCV) in dotazione all'EZ1 DSP Virus kit sono riempite in precedenza con tutti i reagenti necessari per purificare gli acidi nucleici virali e il DNA batterico, ad eccezione dell'RNA trasportatore (CARRIER). L'RNA trasportatore (CARRIER) e i controlli interni (Internal Control, IC) (opzionali) vengono aggiunti in una provetta all'esterno della cartuccia reagenti (RCV).



Figura 8. Cartuccia reagenti (RCV). Una RCV sigillata e preriempita dell'EZ1 DSP Virus Kit.



Figura 9. Caricamento del rack per cartucce reagenti. Il rack delle cartucce stesso è contrassegnato da una freccia che indica la direzione nella quale devono essere caricate le cartucce reagenti (RCV).

Piano di lavoro

Il piano di lavoro degli strumenti EZ1 è il punto in cui l'utente carica i campioni e i componenti dell'EZ1 DSP Virus Kit (Figura 10).

I dettagli relativi alla preparazione del piano di lavoro vengono visualizzati sul display fluorescente a vuoto (Vacuum Fluorescent Display, VFD) di EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL o sul display a cristalli liquidi (Liquid-crystal Display, LCD) del pannello di comando BioRobot EZ1 DSP quando l'utente avvia la preparazione del piano di lavoro.

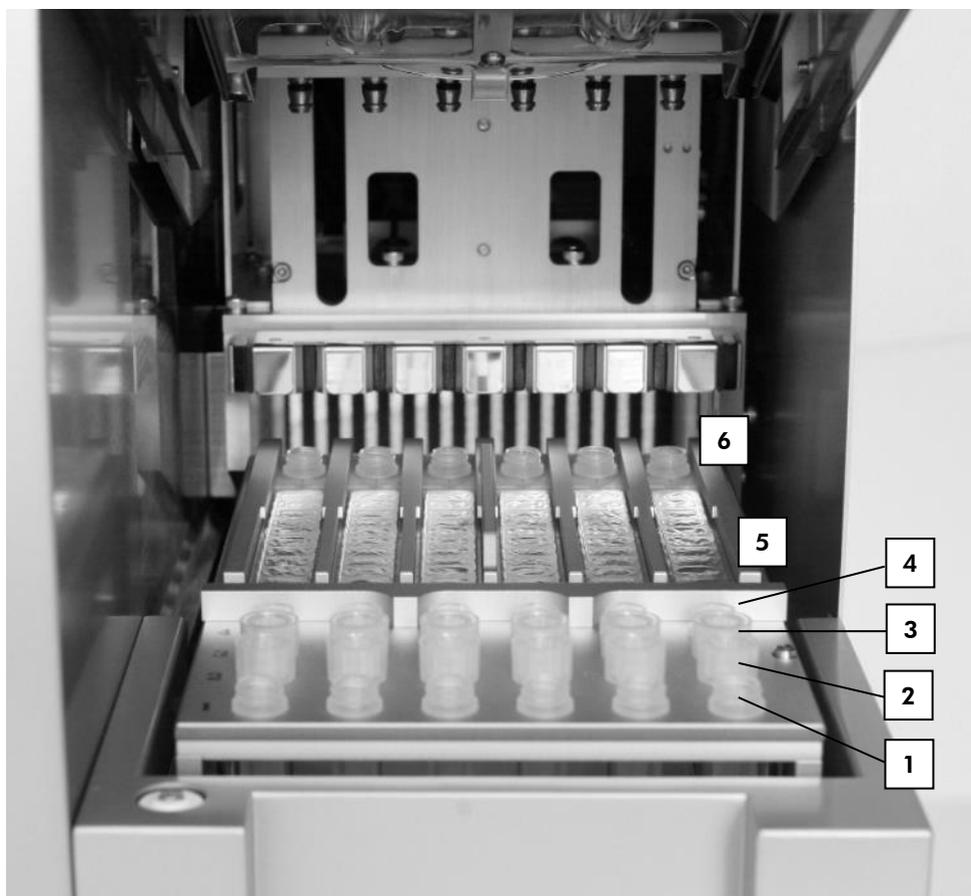


Figura 10. Piano di lavoro di uno strumento EZ1. (1) Provette di eluizione (ET) (1,5 ml) caricate nella fila 1. (2) Porta puntali monouso (DTH) contenenti puntali con filtro monouso (DFT) caricati nella fila 2. (3) Provetta (ET) (1,5 ml) contenente RNA trasportatore (CARRIER) e controllo interno (Internal Control, IC) (se utilizzato) in tampone di eluizione (AVE), caricati nella fila 3. (4) Provette per campioni (ST) (2 ml) caricate nella fila 4. (5) Cartucce reagenti (RCV) caricate nel rack delle cartucce. (6) Blocco riscaldante con provette da 2 ml (ST) nelle cartucce reagenti per la lisi.

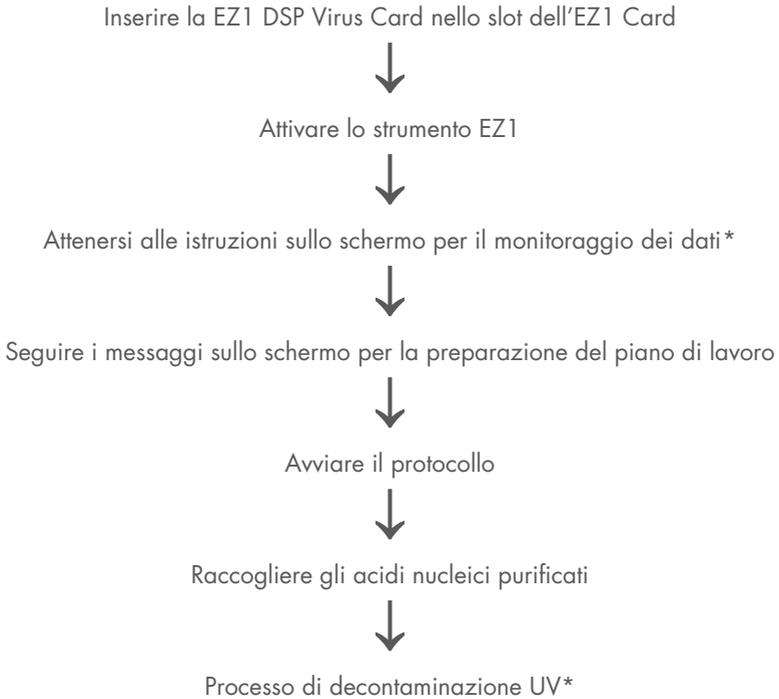
Monitoraggio dei dati con EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL consentono il monitoraggio di numerosi dati per aumentare il controllo e l'affidabilità del processo. Il numero di lotto e la data di scadenza del kit EZ1 vengono inseriti all'inizio del protocollo tramite il codice a barre della Q-Card. Un ID utente e il codice a barre della Q-Card possono essere inseriti manualmente tramite la tastiera o mediante scansione dei codici a barre usando l'apposito lettore manuale. Le informazioni relative a campioni ed esame e le note possono anche essere inserite all'inizio del protocollo. Alla fine di ciascun processo del protocollo viene automaticamente generato un file referto. Il sistema EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL può memorizzare fino a 10 file referti e i dati possono essere trasferiti a un PC o direttamente alla stampante.

- ❗ Per il monitoraggio dei dati, iniziare sempre a caricare i campioni in posizione A sull'EZ1 Advanced e in posizione 1 sull'EZ1 Advanced XL. Posizionare i campioni rimanenti in modo consecutivo nelle posizioni aperte successive sul piano di lavoro.

Per ulteriori dettagli sul monitoraggio dei dati, consultare il rispettivo manuale utente, che si può trovare nella scheda delle risorse della pagina del prodotto su www.qiagen.com.

Flusso di lavoro del sistema EZ1 DSP Virus su EZ1



* Solo EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL.

Preparazione dell'RNA trasportatore (CARRIER)

L'RNA trasportatore (CARRIER) svolge due funzioni durante il processo di purificazione. In primo luogo potenzia il legame degli acidi nucleici virali e del DNA batterico sulla superficie di silice delle particelle magnetiche, soprattutto se il campione contiene pochissime molecole target. In secondo luogo, l'aggiunta di grosse quantità di RNA trasportatore (CARRIER) riduce le possibilità di degradazione virale dell'RNA nell'eventualità rara che la Rnasi non sia denaturata dai sali caotropici e dai detergenti nel tampone di lisi. Se l'RNA trasportatore (CARRIER) non viene aggiunto alla reazione, il recupero del DNA o dell'RNA virale e o del DNA batterico potrebbe ridursi.

L'RNA trasportatore (CARRIER) liofilizzato in dotazione al kit è sufficiente per preparare 48 campioni. La concentrazione dell'RNA trasportatore (CARRIER) utilizzato nella procedura di purificazione consente all'EZ1 DSP Virus Kit di essere utilizzato come sistema di purificazione generico, compatibile con molti diversi sistemi di amplificazione e adatto a purificare gli acidi nucleici da una vasta gamma di batteri e di virus a DNA ed RNA. Comunque, i sistemi di amplificazione variano in efficienza in funzione della quantità totale degli acidi nucleici presenti nella reazione. Gli eluiti ottenuti con l'EZ1 DSP Virus Kit contengono gli acidi nucleici virali e l'RNA trasportatore (CARRIER), e in ogni eluito la quantità di RNA trasportatore (CARRIER) eccede notevolmente rispetto alla quantità di acidi nucleici virali e batterici. Per ottenere il massimo livello di sensibilità nelle reazioni di amplificazione, potrebbe rendersi necessario regolare la quantità di soluzione di RNA trasportatore (CARRIER) aggiunta.

Sciogliere accuratamente l'RNA trasportatore (CARRIER) liofilizzato in un tampone di eluizione (AVE) da 310 µl, dividerlo in aliquote di dimensioni adatte e conservare a 2-8°C. La soluzione madre CARRIER ricostituita ha una concentrazione di 1 ng/µl ed è stabile fino a 4 settimane.

Per ogni campione elaborato, diluire 3.6 µl di una soluzione madre contenente l'RNA trasportatore (CARRIER) per un volume totale di 60 µl con l'uso del tampone di eluizione (AVE) (e/o una soluzione con controllo interno). Un volume di 50 µl di questa soluzione contenente RNA trasportatore-tampone di eluizione (CARRIER-AVE) è trasferito dallo strumento EZ1/EZ2 alla miscela di lisi, corrispondente a un RNA trasportatore (CARRIER) di 3 µg.

Se si desidera usare un controllo interno (Internal Control, IC), vedere la sezione "Uso di un controllo interno (Internal Control, IC)" qui di seguito.

Nota: Il processo di purificazione viene ottimizzato in modo che 3 µg di RNA trasportatore (CARRIER) venga aggiunto per singolo campione. Se una diversa quantità di RNA trasportatore (CARRIER) dimostra di essere migliore per uno specifico sistema di amplificazione, cambiare il volume della soluzione madre contenente l'RNA trasportatore (CARRIER) miscelata al tampone di eluizione (AVE) oppure usare un diversa concentrazione di soluzione madre. Il volume totale della soluzione contenente RNA trasportatore-tampone di eluizione (CARRIER-AVE) dovrebbe essere di 60 µl, di cui 50 µl trasferiti alla miscela di lisi. L'uso di differenti quantità di RNA trasportatore (CARRIER) deve essere collaudato per ogni particolare tipo di campione e di esame downstream.

Uso di un controllo interno (Internal Control, IC)

L'uso dell'EZ1 DSP Virus Kit in combinazione con sistemi di amplificazione disponibili sul mercato potrebbe richiedere l'introduzione di un controllo interno (Internal Control, IC) nella procedura di purificazione per monitorare l'efficienza della preparazione dei campioni.

Il controllo interno del DNA oppure dell'RNA dovrebbe essere abbinato alla soluzione madre contenente l'RNA trasportatore (CARRIER) (3,6 µl) in un'unica miscela. Per ogni campione, il controllo all'interno della miscela contenente l'RNA trasportatore (CARRIER-controllo interno) dovrebbe avere un volume di 60 µl, di cui 50 µl trasferiti alla miscela di lisi. Questa quantità corrisponde a 3 µl di soluzione madre contenente RNA trasportatore (CARRIER) più 47 µl di tampone di eluizione (AVE) e/o soluzione con controllo interno.

- i** Non aggiungere il controllo interno (Internal Control, IC) direttamente nel campione. Utilizzare l'IC solo in combinazione con la soluzione CARRIER in un'unica miscela.

Fare riferimento alle istruzioni del produttore per accertare la quantità di controllo interno (Internal Control, IC) ottimale per le specifiche applicazioni downstream. L'uso di un quantità diversa da quella raccomandata potrebbe ridurre l'efficacia dell'amplificazione. Per accertare la quantità di controllo interno (Internal Control, IC) richiesto per il protocollo EZ1 DSP Virus bisogna considerare il volume di eluito. Per istruzioni dettagliate su come calcolare il volume corretto di controllo interno (Internal Control, IC), vedere "calcolo del numero di controlli interni", pagina 89.

I controlli interni (Internal Control, IC) non rientrano nella fornitura dell'EZ1 DSP Virus Kit.

Protocollo: Pretrattamento delle feci

Questo protocollo è destinato al pretrattamento di campioni di feci solide e liquide prima della purificazione degli acidi nucleici (pagina 42 per strumenti EZ2 Connect MDx e pagina 51 per strumenti EZ1).

Procedura

1. Sospendere 100 mg di feci solide o liquide in un Buffer ASL di 900 µl.

Il tampone ASL deve essere ordinato separatamente, vedere Informazioni per gli ordini, pagina 95.



Se si utilizza una quantità di feci inferiore o superiore, la quantità di Buffer ASL deve essere regolata per mantenere un rapporto di diluizione di 1: 10 (p/v). L'uso di 30 mg di feci è un requisito minimo per ottenere almeno 200 µl di volume del campione dopo il pretrattamento per l'estrazione con lo strumento EZ1/EZ2.

2. Agitare in vortex vigorosamente il campione per 1-2 minuti o fino a quando la sospensione non è omogenea.



Se si lavora con feci altamente solide, la procedura di risospensione può essere prolungata, oppure cercare di rompere il campione pipettando su e giù. Per facilitare il pipettaggio, potrebbe essere necessario tagliare l'estremità del puntale per pipetta. Alcune particelle possono rimanere insolubili e verranno rimosse durante il passaggio successivo.

3. Incubare il campione per 10 minuti a temperatura ambiente sul banco per consentire la sedimentazione di particelle di feci di grandi dimensioni.
4. Trasferire almeno 400 µl di supernatante dalla parte superiore della sospensione in una nuova provetta con tappo a vite da 1,5 ml senza carryover di particelle di feci di grandi dimensioni.

❗ Assicurarsi che nessuna particella di feci solida venga trasferita con il supernatante nello strumento EZ1. Particelle di feci di grandi dimensioni nel campione possono portare all'ostruzione del puntale con filtro dello strumento EZ1/EZ2.

5. Incubare il campione per 10 minuti a 70°C in bagno d'acqua* o termo-agitatore.*

6. Procedere al protocollo di purificazione (pagina 42 o 51).

❗ Per i campioni di feci, si consiglia di utilizzare un volume di campione di 200 µl per l'estrazione e un volume di 120-150 µl per l'eluizione. Volumi di campioni più elevati e volumi di eluizione inferiori possono comportare una ridotta sensibilità delle applicazioni downstream.

❗ Se gli eluiti ottenuti dalle feci sono torbidi, si raccomanda di centrifugare a piena velocità (20.000 x g) per 3 minuti per renderli trasparenti. Ciò non avrà un impatto negativo sugli eluiti trasparenti, ma migliorerà le prestazioni degli eluiti torbidi nelle applicazioni downstream.

* Assicurarsi che gli strumenti siano stati controllati, sottoposti a manutenzione e calibrati regolarmente in base alle indicazioni del produttore.

Protocollo: pretrattamento per l'isolamento del DNA genomico dei batteri Gram-positivi

È possibile migliorare l'estrazione del DNA per alcuni batteri Gram-positivi tramite pretrattamento enzimatico prima di trasferire il campione nello strumento EZ1/EZ2 Connect MDx. Questo protocollo non è idoneo per l'uso con campioni di feci.

Procedura:

1. Sedimentare i batteri centrifugando per 10 minuti a 5000 x g.
2. Sospendere il pellet batterico in 180 µl della soluzione enzimatica (20 mg/ml di lisozima; 20 mM di Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM di EDTA; 1,2% Triton X-100) in una provetta con tappo a vite da 2 ml.
3. Mettere in bagno d'acqua* o termo-agitatore* e incubare almeno per 30 minuti a 37°C.
4. Centrifugare brevemente la provetta per eliminare le gocce dall'interno del tappo.
5. Procedere al protocollo di purificazione (pagina 42 o 51).

* Assicurarsi che gli strumenti siano stati controllati, sottoposti a manutenzione e calibrati regolarmente in base alle indicazioni del produttore.

Protocollo: Purificazione degli acidi nucleici virali e del DNA batterico utilizzando l'EZ2 Connect MDx

Punti importanti prima di iniziare

- Se si usa per la prima volta EZ1 DSP Virus Kit, leggere “Conservazione e manipolazione dei reagenti”, “Conservazione e manipolazione dei campioni” e “Utilizzo degli strumenti EZ2 Connect MDx” a partire da pagina 16.
- Le cartucce reagenti (RCV) contengono sale di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono sbiancanti. Manipolare rispettando le misure di sicurezza e indossando guanti protettivi. Vedere pagina 12 per Informazioni sulla sicurezza.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15-25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo la ricezione del kit, verificare che i componenti non siano danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCV) oppure i componenti del kit si sono danneggiati, contattate i servizi tecnici QIAGEN oppure il distributore di zona. In caso di fuoriuscita di liquidi, fare riferimento a “Avvertenze e precauzioni” (pag. 12). Non utilizzare cartucce reagenti (RCV) né altri componenti del kit danneggiati, in quanto il loro utilizzo potrebbe comportare prestazioni ridotte del kit, lesioni all'utente o danni allo strumento. Non rimuovere la pellicola dalla RCV.

Operazioni da eseguire prima di iniziare

- Preparare siero, plasma, liquido cerebrospinale o tamponi rinofaringei in UTM come descritto in “Conservazione e manipolazione dei campioni”, pagina 18. Se sono visibili dei crioprecipitati nei campioni scongelati, centrifugare a 6800 x g per 3 minuti, trasferire i supernatanti per rinfrescare le provette senza disturbare i pellet e avviare subito la procedura di purificazione.

- Preparare i campioni di feci secondo le modalità descritte in “Conservazione e manipolazione dei campioni”, pagina 18, e “Protocollo: Pretrattamento delle feci”, pagina 39.
- Per l’isolamento del DNA dai batteri Gram-positivi, preparare i campioni come descritto in “Protocollo: pretrattamento per l’isolamento del DNA genomico dei batteri Gram-positivi” (pagina 41).
- Preparare una soluzione madre contenente l’RNA trasportatore (CARRIER) (con controllo interno opzionale) prima di utilizzarla per la prima volta. Disciogliere l’RNA trasportatore (CARRIER) liofilizzato in 310 µl di tampone di eluzione (AVE) (contenuto nel kit) e miscelarlo con il controllo interno (Internal Control, IC) (opzionale) come descritto in “Preparazione dell’RNA trasportatore (CARRIER)” (pagina 36) e “Uso di un controllo interno (Internal Control, IC)” (pagina 37).

Procedura

1. Per ogni campione, preparare una soluzione di RNA trasportatore da 60 µl contenente 3,6 µl di RNA trasportatore (CARRIER) disciolto (con controllo interno [Internal Control, IC] opzionale) in una provetta (ET) da 1,5 ml (in dotazione). Miscelare con cura pipettando la soluzione per 10 volte. Non utilizzare il vortex.

La provetta (ET) da 1,5 ml è caricata nella fila B, come specificato nelle istruzioni visualizzate sullo schermo.



Accertarsi che la soluzione contenente l’RNA trasportatore (CARRIER) sia sul fondo della provetta (ET) da 1,5 ml, in modo che possa essere trasferita la quantità appropriata dallo strumento EZ2 Connect MDx.

2. Equilibrare fino a 24 campioni a temperatura ambiente (15-25°C) e trasferire il campione da 100, 200 o 400 µl in provette per campioni (ST) da 2 ml (senza base, fornite con il kit), prima di caricarlo sul piano di lavoro. In caso d’uso di campioni congelati, scongelarli e portarli a temperatura ambiente, quindi miscelare bene agitando mediante vortex.

Un volume di campione di 200 µl è raccomandato per l'estrazione di acidi nucleici virali/batterici dalle feci. Per il pretrattamento dei campioni, fare riferimento al protocollo di pretrattamento appropriato.

- ① Utilizzare solo provette (ST) da 2 ml (senza base) fornite con il kit.
- ① Non ricongelare i campioni scongelati né conservare i campioni per oltre 6 ore a 2-8°C, perché ciò comporta delle rese notevolmente ridotte degli acidi nucleici virali o del DNA batterico.
- ① Evitare il trasferimento di materiale di occlusione nelle provette per campioni. Ciò può portare all'annullamento della procedura e a una possibile collusione dello strumento.
- ① Non usare campioni con volumi superiori a 100, 200 o 400 µl. Dopo la lisi ed il legame degli acidi nucleici virali o del DNA batterico con le particelle magnetiche, si trasferisce una porzione del lisato nella provetta per campioni (ST). Non riutilizzare il materiale del campione rimasto nella provetta (ST).

3. Accendere lo strumento EZ2 Connect MDx.

L'interruttore di alimentazione è collocato nella parte anteriore destra dello strumento.

4. Accedere allo strumento scegliendo la modalità IVD del software. Immettere l'ID utente e la password.

Il software EZ2 Connect MDx guiderà attraverso la procedura di preparazione del processo protocollo. Il processo viene avviato toccando il pulsante SCAN (Scansiona) o LIMS sulla scheda di preparazione.

- ① Per impostare un processo utilizzando la funzione/il pulsante LIMS, fare riferimento al *Manuale utente EZ2 Connect MDx*.

5. Premere Scan (Scansiona) e toccare il campo visualizzato nella schermata successiva. Effettuare la scansione del codice a barre monodimensionale sulla Q-Card fornita con il kit.

Effettuando la scansione del codice a barre monodimensionale sulla Q-Card, il tipo di protocollo viene selezionato automaticamente.

-  Se non si riesce a effettuare la scansione del codice a barre della Q-Card, lo si può digitare tramite l'interfaccia utente.
-  La scansione della Q-card è possibile solo se tutte le procedure di manutenzione richieste sono state finalizzate. In caso contrario, avviare la procedura di manutenzione prima di eseguire la scansione della Q-card.
-  Non utilizzare una RCV scaduta, in quanto ciò comporterà una compromissione delle prestazioni; i campioni verranno contrassegnati come non validi.

6. Toccare Next (Avanti) per continuare.

Nota: Per tornare alla schermata Setup (Preparazione), toccare Back (Indietro) o Cancel (Annulla).

7. Scegliere i diversi parametri di protocollo toccando la casella accanto a ciascuna opzione di parametro.

8. Toccare Next (Avanti) per continuare.

9. Per selezionare le posizioni dei campioni, toccare le file pertinenti nel diagramma del piano di lavoro o toccare i numeri di fila corrispondenti sotto il diagramma. Le posizioni selezionate sono evidenziate. Per selezionare o deselezionare tutte le posizioni, toccare il pulsante di commutazione Select all (Seleziona tutto).

-  Dopo aver selezionato almeno una posizione di campione, il pulsante Next (Avanti) è abilitato.

10. Toccare Next (Avanti) per continuare.

11. Immettere gli ID campione, manualmente o utilizzando lo scanner di codici a barre portatile.

-  Quando si utilizza lo scanner di codici a barre, assicurarsi che il codice a barre utilizzato sia di tipo e qualità appropriati per essere letto dallo scanner.

- ❗ Gli ID dei campioni possono essere modificati manualmente toccando l'ID e utilizzando la tastiera su schermo.
- ❗ Gli ID dei campioni devono essere univoci. Il pulsante Next (Avanti) non è attivo fino a quando non sono stati immessi ID campione univoci per tutti i campioni.
- ❗ Controllare l'ID del campione per verificarne la correttezza prima di procedere con la preparazione.

12. Toccare Next (Avanti) per continuare.

13. Aprire lo sportello dello strumento e rimuovere sia i rack delle cartucce che i rack dei puntali (noti anche come supporti per materiale da laboratorio) dallo strumento. Posizionarli in modo sicuro sul banco. Per rimuovere un rack di puntali, afferrare entrambi i lati del rack e tirare delicatamente verso l'alto.

❗ A seconda delle posizioni scelte per i campioni, rimuovere i rack dal lato sinistro e/o destro del piano di lavoro.

❗ Non scambiare i rack delle cartucce e i rack dei puntali tra strumenti diversi.

14. Capovolgere le cartucce reagenti (RCV) 4 volte per miscelare le particelle magnetiche. Vedere "Operazioni da eseguire prima di iniziare" prima di utilizzare la RCV.

15. Posizionare la RCV nel rack cartucce, premere la cartuccia fino a quando non scatta in posizione.

16. Posizionare una provetta per campioni (ST) vuota (senza base; fornita con il kit) nel pozzetto 11 di ciascuna RCV caricata.

❗ Assicurarsi che la provetta per campioni (ST) vuota sia caricata senza coperchio.

La provetta vuota è necessaria per la fase di lisi del protocollo. Lo strumento EZ2 Connect MDx non rileva la presenza della provetta.

17. Una volta che tutte le RCV sono state preparate, posizionare entrambi i rack di cartucce sul piano di lavoro.

- ① Assicurarsi che i rack siano posizionati nella posizione corretta e che i numeri di posizione siano incisi sul rack. La numerazione va da 1 a 24 da sinistra a destra.

18. Toccare Next (Avanti) per continuare.

19. Caricare le provette di CARRIER (IC) (provette di eluizione, ET, da 1,5 ml; fornite con il kit) nella fila B del rack dei puntali ("supporto per materiale da laboratorio").

Vedere "Preparazione dell'RNA trasportatore (CARRIER)" (pagina 36) e "Appendice B: calcolo del numero di controlli interni (Internal Control, IC)" (pagina 89) per i dettagli sulla preparazione della miscela di CARRIER (IC).

- ① Assicurarsi che le provette di eluizione (ET) da 1,5 ml contenenti un volume sufficiente di CARRIER (IC) siano caricate senza coperchio.

20. Posizionare i puntali nel porta-puntali e caricarli nella fila C del rack.

- ① Quando si preparano i puntali e il porta-puntali, toccare la parte superiore dei puntali solo con i guanti.

21. Caricare le provette di eluizione (ET) da 1,5 ml nella fila D del rack.

- ① Assicurarsi che le provette di eluizione siano caricate senza coperchio.

22. Caricare le provette per campioni (ST) da 2 ml (senza base) contenenti un campione da 100, 200 o 400 µl (in base al parametro di protocollo selezionato) nella fila A del rack.

- ① Assicurarsi che le provette per campioni siano caricate nelle posizioni corrette come selezionato nel passaggio 11. Facoltativo: Utilizzare il modello da "Appendice C: Foglio campione da utilizzare con il sistema EZ1 DSP Virus" per monitorare l'ID e l'orientamento del campione.

- ① Assicurarsi che le provette per campioni siano caricate senza coperchio.

- ① Assicurarsi che le provette per campioni contengano il volume corretto di materiale campione. Il controllo del carico non rileva se è stato caricato il volume di campione corretto.
 - ① Evitare la formazione di schiuma o bolle sulla parte superiore del campione o sul bordo delle provette per campioni, in quanto ciò potrebbe comportare errori di controllo del carico.
 - ① Avviare immediatamente il protocollo dopo aver posizionato i campioni sul piano di lavoro, poiché il tempo di conservazione prolungato a bordo dello strumento può portare all'evaporazione o influire sulla stabilità a bordo.
23. Una volta caricate tutte le provette e i puntali, posizionare ogni rack per puntali (rack sinistro e destro) sul piano di lavoro e chiudere la cappa.
- ① Assicurarsi che i rack siano posti nella posizione corretta e che i numeri di posizione siano incisi sul rack. La numerazione va da 1 a 24 da sinistra a destra. Posizionare sempre entrambi i rack per puntali sul piano di lavoro indipendentemente dalle posizioni del campione utilizzate.
24. Toccare Next (Avanti) per continuare.
25. Controllare le informazioni su schermo della panoramica della preparazione del processo per il protocollo, il volume di campione ed eluizione e il numero di campioni corretti.
26. Se tutte le informazioni sono corrette, toccare Start (Avvia) Per procedere con il processo del protocollo.
- ① Per apportare modifiche, toccare Return (Ritorna) per tornare alla preparazione del processo.
27. Adesso verrà eseguito il controllo del carico. Il protocollo verrà avviato automaticamente dopo che il corretto completamento del controllo del carico.
- ① Attendere che il controllo del carico sia stato completato correttamente prima di lasciare lo strumento incustodito. In caso di problemi al controllo del carico (ad es., a causa di errori durante la preparazione del piano da lavoro), il processo non verrà avviato e sarà necessario l'intervento dell'operatore. Se lo strumento rimane incustodito per un periodo di tempo prolungato, la stabilità dei campioni e dei reagenti può essere compromessa.

Procedere con la fase 30 dopo aver effettuato il controllo del carico.

28. Se il controllo del carico non riesce, viene visualizzata la schermata "Load check failed" (Controllo del carico non riuscito). I posizionamenti di materiale da laboratorio errati sono contrassegnati in rosso. Toccare le rispettive colonne per i dettagli sull'errore di controllo del carico.
- ❗ Controllare visivamente il caricamento delle posizioni evidenziate sul piano da lavoro. Non ripetere più volte un controllo del carico non riuscito senza prima completare l'ispezione visiva.
 - ❗ Per informazioni dettagliate sulle limitazioni e gli errori del controllo del carico, fare riferimento alla sezione *Manuale utente EZ2 Connect MDx*.
29. Una volta confermato il corretto caricamento del piano di lavoro, toccare Next (Avanti) nella schermata "Load the tip rack" (Carica rack puntali). Viene visualizzata la schermata "Run setup selection overview" (Panoramica selezione della preparazione processo), dove adesso è disponibile un pulsante Skip load check (Salta controllo carico). Toccare Skip load check (Salta controllo carico) o Start (Avvia) per procedere con il processo del protocollo.
- ❗ Quando si sceglie l'opzione Skip load check (Salta controllo carico), è responsabilità dell'operatore verificare visivamente il corretto posizionamento di TUTTI i materiali di consumo in TUTTE le posizioni del piano di lavoro.
Importante: Il controllo del carico ignorato verrà registrato nel referto di processo e tutti i campioni verranno contrassegnati come non validi.
 - ❗ Importante: Se il controllo del carico non riesce la seconda volta, rimuovere campioni e CARRIER (IC) dal piano di lavoro, chiudere le provette e conservarli in condizioni appropriate. Ricalibrare la fotocamera e contattare l'assistenza tecnica QIAGEN per ulteriore supporto.
30. Dopo aver completato con successo il controllo del carico, l'avanzamento del processo e il tempo trascorso del processo vengono visualizzati nella schermata "Protocol run in progress" (Processo protocollo in esecuzione).
31. Quando il protocollo è terminato correttamente, viene visualizzata la schermata "Protocol run completed" (Processo protocollo completato).

32. Aprire la cappa, rimuovere con cura i rack puntali e posizzionarli sul banco. In primo luogo, rimuovere il DNA/RNA purificato dalla fila D. Evitare di toccare altre provette mentre si rimuovono le singole provette di eluizione (ET). Chiudere le provetta di eluizione con i coperchi forniti con il kit.
- ❗ Rimuovere e conservare immediatamente gli eluiti al termine del processo.
33. Smaltire i rifiuti di preparazione dei campioni dalla fila A*. Smaltire i porta-puntali e i puntali, nonché le provette CARRIER (IC).
- ❗ Seguire le norme di sicurezza locali per lo smaltimento dei rifiuti.
34. Rimuovere i rack delle cartucce e smaltire RCV e provetta del pozzetto 11.
- ❗ Rimuovere e smaltire la provetta dal pozzetto 11 di ogni cartuccia prima di rimuovere la RCV. In caso contrario, la RCV non può essere rimossa dal rack delle cartucce.
 - ❗ Seguire le norme di sicurezza locali per lo smaltimento dei rifiuti (vedere anche "Avvertenze e precauzioni", pagina 12).
35. Seguire le istruzioni "Manutenzione dopo il processo" e toccare la casella di controllo successiva.
- ❗ Il perforatore è affilato! Si raccomanda l'uso di due guanti.
 - ❗ Per ulteriori procedure di manutenzione, fare riferimento al *Manuale utente EZ2 Connect MDx*.
36. Premere il pulsante Finish (Fine) per creare il referto del processo e tornare alla schermata iniziale. Il tempo di completamento del processo e lo stato di manutenzione non vengono trasferiti al referto del processo finché non viene premuto il pulsante Finish (Fine).
37. Dopo l'ultimo processo di ogni giornata, eseguire la procedura di manutenzione giornaliera seguita dalla decontaminazione UV.
38. Eseguire la procedura di manutenzione settimanale, se necessario, dopo la manutenzione giornaliera.

* I residui dei campioni contengono sale di guanidina e pertanto non sono compatibili con gli sbiancanti. Vedere pagina 12 per Informazioni sulla sicurezza.

Protocollo: Purificazione degli acidi nucleici virali e del DNA batterico utilizzando gli strumenti EZ1

Punti importanti prima di iniziare

- Se si usa per la prima volta EZ1 DSP Virus Kit, leggere “Conservazione e manipolazione dei reagenti”, “Conservazione e manipolazione dei campioni” e “Lavorare con gli strumenti EZ1” a partire da pagina 16.
- Le cartucce reagenti (RCV) contengono sale di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono sbiancanti. Manipolare rispettando le misure di sicurezza e indossando guanti protettivi. Vedere pagina 12 per Avvertenze e precauzioni.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15-25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo la ricezione del kit, verificare che i componenti non siano danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCV) oppure i componenti del kit si sono danneggiati, contattate i servizi tecnici QIAGEN oppure il distributore di zona. In caso di fuoriuscita di liquidi, fare riferimento a “Avvertenze e precauzioni” (pag. 12). Non utilizzare cartucce reagenti (RCV) né altri componenti del kit danneggiati, in quanto il loro utilizzo potrebbe comportare prestazioni ridotte del kit, lesioni all’utente o danni allo strumento. Non rimuovere la pellicola dalla RCV.
- In alcune fasi della procedura, è possibile effettuare 2 scelte. Scegliere ▲ se si usa il sistema EZ1 Advanced oppure EZ1 Advanced XL. Scegliere ■ se si usa il BioRobot EZ1 DSP.

Operazioni da eseguire prima di iniziare

- Preparare siero, plasma, liquido cerebrospinale o tamponi rinofaringei in UTM come descritto in “Conservazione e manipolazione dei campioni”, pagina 18. Se sono visibili dei crioprecipitati nei campioni scongelati, centrifugare a 6800 x g per 3 minuti, trasferire i supernatanti per rinfrescare le provette senza disturbare i pellet e avviare subito la procedura di purificazione.

- Preparare i campioni di feci secondo le modalità descritte in “Conservazione e manipolazione dei campioni”, pagina 18, e “Protocollo: Pretrattamento delle feci”, pagina 39.
- Per l’isolamento del DNA dai batteri Gram-positivi, preparare i campioni come descritto in “Protocollo: pretrattamento per l’isolamento del DNA genomico dei batteri Gram-positivi” (pagina 41)
- Preparare una soluzione madre contenente l’RNA trasportatore (CARRIER) (con controllo interno opzionale) prima di utilizzarla per la prima volta. Disciogliere l’RNA trasportatore (CARRIER) liofilizzato in 310 µl di tampone di eluizione (AVE) (contenuto nel kit) e miscelarlo con il controllo interno (Internal Control, IC) (opzionale) come descritto in “Preparazione dell’RNA trasportatore (CARRIER)” e “Uso di un controllo interno (Internal Control, IC)”, pagine 36–37.

Procedura

1. Per ogni campione, preparare una soluzione da 60 µl contenente 3.6 µl di RNA trasportatore (CARRIER) disciolto (con controllo interno opzionale) in una provetta da 1,5 ml (ET) (in dotazione). Miscelare con cura pipettando la soluzione per 10 volte. Non utilizzare il vortex.

La provetta (ET) da 1,5 ml è caricata nella fila 3, come specificato nelle istruzioni visualizzate sullo schermo.



Accertarsi che la soluzione contenente l’RNA trasportatore (CARRIER) sia sul fondo della provetta (ET) da 1,5 ml, in modo che possa essere trasferita la quantità appropriata dallo strumento EZ1.

2. Equilibrare i campioni a temperatura ambiente (15-25°C) e trasferire il campione da 100, 200 o 400 µl in provette per campioni (ST) da 2 ml (senza base, fornite con il kit), prima di caricarlo sul piano di lavoro. In caso d’uso di campioni congelati, scongelarli e portarli a temperatura ambiente, quindi miscelare bene agitando mediante vortex.

Un volume di campione di 200 µl è raccomandato per l'estrazione di acidi nucleici virali/batterici dalle feci. Per il pretrattamento dei campioni, fare riferimento al protocollo di pretrattamento appropriato.

- ① Utilizzare solo provette (ST) da 2 ml (senza base) fornite con il kit.
- ① Non ricongelare i campioni scongelati né conservare i campioni per oltre 6 ore a 2-8°C, perché ciò comporta delle rese notevolmente ridotte degli acidi nucleici virali o del DNA batterico.
- ① Evitare il trasferimento di materiale di occlusione nelle provette per campioni. Ciò può portare all'annullamento della procedura e all'arresto anomalo dello strumento.
- ① Non usare campioni con volumi superiori a 100, 200 o 400 µl. Dopo la lisi e il legame degli acidi nucleici virali o del DNA batterico alle particelle magnetiche, si trasferisce una porzione del lisato alla provetta per campioni (ST) per inattivare i residui. Non riutilizzare il materiale campione rimasto nella provetta per campioni (ST).

3. Inserire ▲ l'EZ1 Advanced DSP Virus Card completamente nello slot dell'EZ1 Advanced Card dell'EZ1 Advanced, o l'EZ1 Advanced XL DSP Virus Card completamente nello slot dell'EZ1 Advanced XL Card dell'EZ1 Advanced XL, o ■ l'EZ1 DSP Virus Card completamente nello slot dell'EZ1 Card del BioRobot EZ1 DSP.

4. Attivare lo strumento EZ1.

L'interruttore di alimentazione è collocato nella parte posteriore sinistra dello strumento.

5. Premere START (Avvia) per avviare la preparazione del piano di lavoro del protocollo EZ1 DSP Virus.

6. Seguire le istruzioni sullo schermo per la preparazione del piano di lavoro, la selezione delle variabili del protocollo e il ▲ monitoraggio dei dati.

- ① Avviare immediatamente il protocollo dopo aver posizionato i campioni sul piano di lavoro, poiché il tempo di conservazione prolungato a bordo dello strumento può portare all'evaporazione.

7. Aprire lo sportello dello strumento.
8. Capovolgere le cartucce reagenti (RCV) 4 volte per miscelare le particelle magnetiche.
9. Caricare le cartucce reagenti nel rack delle cartucce e premere la cartuccia fino a quando non scatta in posizione.

 Se vi sono meno di 6 (BioRobot EZ1 DSP, EZ1 Advanced) o 14 (EZ1 Advanced XL) cartucce reagenti (RCV), possono essere caricate sul rack in qualsiasi ordine. Comunque, quando si caricano le altre provette da laboratorio, assicurarsi che queste ultime seguano lo stesso ordine.

 ▲: Per il monitoraggio dei dati, iniziare sempre a caricare i campioni in posizione A sull'EZ1 Advanced e in posizione 1 sull'EZ1 Advanced XL. Posizionare i campioni rimanenti in modo consecutivo nelle posizioni aperte successive sul piano di lavoro.

 ▲: Quando si sceglie l'opzione di monitoraggio dati, verificare che l'ID campione segua lo stesso ordine dei campioni sul piano di lavoro per evitare di confondere i dati.

10. Posizionare una provetta (ST) da 2 ml vuota (senza base; fornita con il kit) nel pozzetto 11 di ciascuna RCV.

 Assicurarsi che la provetta per campioni (ST) vuota sia caricata senza coperchio.

La provetta vuota è necessaria per la fase di lisi del protocollo.

11. Seguire le istruzioni sullo schermo per l'ulteriore preparazione del piano di lavoro. È necessaria la preparazione delle provette di eluizione, di puntali e porta-puntali, provette CARRIER (IC) e provette per campioni.

 Quando si preparano i puntali e il porta-puntali, toccare la parte superiore dei puntali solo con i guanti.

 Assicurarsi che le provette di eluizione (provette ET da 1,5 ml) siano caricate senza coperchio.

- ① Assicurarsi che le provette per campioni siano caricate nelle posizioni corrette come selezionato nel passaggio 9.
Facoltativo: Utilizzare il modello da "Appendice C: Foglio campione da utilizzare con il sistema EZ1 DSP Virus" per monitorare l'ID e l'orientamento del campione.
- ① Assicurarsi che le provette per campioni siano caricate senza coperchio.
- ① Assicurarsi che le provette per campioni contengano il volume corretto di materiale campione.
- ① Evitare la formazione di schiuma o bolle sulla parte superiore del campione o sul bordo delle provette per campioni.
- ① Avviare immediatamente il protocollo dopo aver posizionato i campioni sul piano di lavoro, poiché il tempo di conservazione prolungato a bordo dello strumento può portare all'evaporazione.

12. Caricare nello strumento il rack delle cartucce e il rack dei puntali preparati.

- ① Non scambiare i rack delle cartucce e i rack dei puntali tra strumenti diversi.

13. Chiudere lo sportello dello strumento.

14. Premere START per avviare il protocollo.

15. Al termine del protocollo, sul display compare il messaggio "Protocol finished" (Protocollo concluso).

▲ Premere ENT (Invio) per generare il file di referto.

▲ EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL possono memorizzare fino a 10 file di referto. I file di referto possono essere stampati direttamente tramite la stampante collegata oppure trasferiti su computer.

16. Aprire lo sportello dello strumento, rimuovere con cura il rack per puntali e posizionarlo sul banco.

17. Rimuovere le provette di eluizione (ET) contenenti gli acidi nucleici virali purificati e/o il DNA batterico dalla fila 1. Evitare di toccare altre provette durante la rimozione delle singole provette di eluizione. Chiudere le ET con i coperchi forniti con il kit.

 Rimuovere e conservare immediatamente gli eluiti dal piano di lavoro al termine del processo.

18. Smaltire i residui per la preparazione dei campione. * Scartare i porta-puntali e i puntali, nonché le provette CARRIER (IC).

19. Rimuovere i rack delle cartucce e smaltire l'RCV inclusa la provetta del pozzetto 11.

 Seguire le norme di sicurezza locali per lo smaltimento dei rifiuti (vedere anche "Avvertenze e precauzioni", pagina 12).

20. ▲ Raccomandato: Seguire le istruzioni sullo schermo per eseguire la decontaminazione UV delle superfici del piano di lavoro.

21. Eseguire periodicamente la manutenzione, ad es. il processo UV, come descritto nel manuale utente fornito con lo strumento EZ1.

La manutenzione ordinaria deve avvenire alla fine di ciascuna esecuzione del protocollo. Essa prevede la pulizia del perforatore e delle superfici del piano di lavoro.

 Il perforatore è affilato! Si raccomanda l'uso di due guanti.

 Per ulteriori procedure di manutenzione, fare riferimento al *Manuale utente EZ1 Advanced XL*.

22. Per eseguire un altro protocollo, premere START (Avvia), eseguire le fasi 1 e 2 del protocollo, quindi seguire il protocollo dalla fase 5. Altrimenti premere STOP due volte per tornare alla prima schermata del display, chiudere lo sportello dello strumento e spegnere lo strumento EZ1.

Le fasi 3 e 4 non servono quando si esegue un altro protocollo. Saltare queste fasi.

* I residui dei campioni contengono sale di guanidina e pertanto non sono compatibili con la candeggina. Per Avvertenze e precauzioni, vedere pagina 12.

Controllo qualità

In conformità al Sistema di gestione della qualità con certificazione ISO della QIAGEN, ciascun lotto di EZ1 DSP Virus Kit viene testato con le specifiche predefinite per garantire una qualità del prodotto costante.

Limitazioni

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.

Le prestazioni del sistema sono state stabilite in studi di valutazione delle prestazioni utilizzando plasma, siero, CSF, feci e tamponi rinofaringei in UTM, per l'isolamento di acidi nucleici virali e DNA batterico e applicazioni esemplari downstream. Poiché le prestazioni complessive dipendono in larga misura dall'applicazione downstream, è responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni dell'intero flusso di lavoro diagnostico, compresa la preparazione dei campioni e l'applicazione downstream specifica.

Per ridurre al minimo il rischio di un impatto negativo sui risultati diagnostici, è necessario ricorrere ad adeguati controlli delle applicazioni downstream. Per un'ulteriore convalida, si consiglia 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.

Caratteristiche delle prestazioni

Le caratteristiche delle prestazioni applicabili sono disponibili nella scheda delle risorse della pagina del prodotto all'indirizzo www.qiagen.com.

Guida alla risoluzione dei problemi

Questa guida alla risoluzione dei problemi può essere utile per risolvere eventuali situazioni problematiche. Per maggiori informazioni, consultare anche la pagina relativa alle domande frequenti (Frequently Asked Questions, FAQ) nel nostro servizio di assistenza tecnica: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Gli esperti dei Servizi tecnici QIAGEN sono sempre disponibili per rispondere a qualsiasi domanda riguardante informazioni e/o protocolli presentati in questo manuale o le tecnologie per campioni ed esami (per i dati di contatto visitare il sito www.qiagen.com).

Commenti e suggerimenti

Manipolazione in generale

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Messaggio di errore sul display dello strumento | Consultare il manuale utente fornito con lo strumento EZ1 o EZ2. |
| b) | File di referto non stampato (per EZ1) | Verificare se la stampante è collegata a EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL tramite la porta seriale "PC/Printer". Verificare se la porta seriale è impostata per l'uso con una stampante. |
| c) | File di referto non inviato al PC (per EZ1) | Verificare se il PC è collegato a EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL tramite la porta seriale "PC/Printer". Verificare se la porta seriale è impostata per l'uso con un PC. |
| d) | ID Q-Card errato inserito (per EZ1) | Se è stato inserito l'ID errato al posto dell'ID della Q-Card, EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL non accetterà l'ID e richiederà l'ID della Q-Card fino a quando non verrà inserito l'ID corretto. Premere STOP due volte per andare al menu principale. |
| e) | ID Q-Card errato inserito (per EZ2 Connect MDx) | Se è stato inserito l'ID errato al posto dell'ID della Q-Card, EZ2 Connect MDx non visualizzerà il protocollo corretto da utilizzare. Immettere l'ID della Q-card corretto per il protocollo richiesto da visualizzare. L'EZ2 Connect MDx verifica durante il controllo del carico se il protocollo scelto e le cartucce di reagenti caricate si adattano. Se è stato scelto il protocollo sbagliato a causa di un ID Q-Card errato, interrompere il processo e iniziare a configurare il processo dello strumento dall'inizio. |

Bassa resa di acidi nucleici virali e/o DNA batterico purificati

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Particelle magnetiche risospese non completamente | Assicurarsi di risospingere completamente le particelle magnetiche prima di caricare le cartucce reagenti (RCV) nell'apposito rack. |
|----|---|---|

Commenti e suggerimenti

| | | |
|----|---|--|
| b) | Reagente aspirato insufficiente | Dopo aver capovolto le cartucce reagenti (RCV) per risospendere le particelle magnetiche, assicurarsi che i reagenti dell'RCV siano depositati sul fondo dei pozzetti. |
| c) | Volume del campione errato nella provetta per campioni | Assicurarsi di pipettare il volume esatto di campione nella provetta per campioni. |
| d) | Quantità errata di campione trasferito (meno volume trasferito dalla provetta del previsto) | Controllare che le provette per campioni siano quasi vuote dopo il processo. Verificare che il volume di campione selezionato e fornito fosse coerente. Controllare che il materiale di campione rimanente nelle provette non contenga coaguli o precipitati. Controllare lo stato di lubrificazione delle guarnizioni o-ring dell'unità pipettatore (manutenzione settimanale). |
| e) | Reagenti caricati sul piano di lavoro in ordine errato | Assicurarsi che tutte le provette (ET, ST), i porta-puntali (DTH) con i puntali (DFT) siano caricati sul piano di lavoro nel giusto ordine. Ripetere il processo di purificazione con nuovi campioni. |
| f) | RNA trasportatore (CARRIER) non aggiunto | Ricostituire l'RNA trasportatore (CARRIER) liofilizzato in un tampone di eluizione (AVE) di 310 µl. Per ogni campione, usare 3,6 µl di questa soluzione madre contenente l'RNA trasportatore (CARRIER), miscelato con controllo interno (opzionale) e tampone di eluizione (AVE) aggiuntivo a un volume finale di 60 µl, come descritto in "Preparazione dell'RNA trasportatore (CARRIER)" e "Uso di un controllo interno (Internal Control, IC)", pagine 36–37. Ripetere il processo di purificazione con nuovi campioni. |
| g) | Miscelazione RNA trasportatore (CARRIER) e tampone di eluizione (AVE) insufficiente | Miscelare l'RNA trasportatore (CARRIER), il controllo interno (Internal Control, IC) (opzionale) e il tampone di eluizione (AVE) pipettando almeno 10 volte. |
| h) | RNA degradato | L'RNA potrebbe essere stato degradato da Rnasi nei campioni originali. Assicurarsi che i campioni siano lavorati subito dopo averli raccolti o rimossi dallo stato di conservazione. |

Resa insufficiente del DNA e dell'RNA nelle applicazioni downstream

| | | |
|----|--|--|
| a) | Acido nucleico scarso o assente nell'eluato | Per le possibili ragioni, vedere "Bassa resa di acidi nucleici virali e/o DNA batterico purificati" a pagina 60. Aumentare la quantità di eluito aggiunto alla reazione enzimatica downstream, se possibile. |
| b) | Campioni congelati non miscelati correttamente dopo lo scongelamento | Scongelare i campioni a temperatura ambiente (15-25°C) e miscelare mediante vortex a pulsazione per 15 secondi. |
| c) | Acidi nucleici nei campioni già degradati prima della purificazione | Ciò può verificarsi se i campioni sono stati ricongelati dopo essere stati scongelati una volta o conservati a temperatura ambiente per troppo tempo. Usare sempre dei campioni freschi oppure dei campioni scongelati una sola volta. Ripetere il processo di purificazione con nuovi campioni. |

Commenti e suggerimenti

- | | | |
|----|--|--|
| d) | Lisi di campioni insufficiente | Ciò può verificarsi se le cartucce reagenti (RCV) sono state conservate ad elevate temperature per troppo tempo con la conseguente inattivazione della proteinasi K. Ripetere il processo di purificazione con l'uso di nuovi campioni e cartucce reagenti (RCV). |
| e) | Carryover di sale durante l'eluizione | Per ottenere il migliore risultato, assicurarsi che le cartucce reagenti (RCV) siano a 20-30°C. |
| f) | RNA trasportatore (CARRIER) in eccesso o scarso nell'eluio | Determinare la quantità massima di RNA trasportatore (CARRIER) adatta per la reazione di amplificazione. Regolare la concentrazione della soluzione contenente il RNA trasportatore (CARRIER). |
| g) | Troppo eluito nella reazione di amplificazione | Stabilire il massimo volume di eluito adatto per la vostra reazione di amplificazione. Ridurre il volume di eluito aggiunto alla reazione di amplificazione oppure aumentare rispettivamente il volume di eluizione. Un controllo positivo può essere arricchito nell'eluio, se necessario, per accertare l'effetto di eluito sulla reazione di amplificazione. |
| h) | Prestazioni variate degli acidi nucleici purificati negli esami downstream | I componenti del sale e dell'etanolo del tampone di lavaggio 1 oppure del tampone di lavaggio 2 nella cartuccia (RCV) potrebbero essersi separati a causa della conservazione a lungo termine. Capovolgere sempre accuratamente le cartucce (RCV) e assicurarsi che i reagenti dell'RCV siano depositati sul fondo dei pozzetti. |
| i) | Mancanza di sensibilità a causa di sostanze inibitorie | Aumentare il volume di eluizione. Un controllo positivo può essere arricchito nell'eluio, se necessario, per accertare l'effetto del volume di eluizione sulla reazione di amplificazione. Se gli eluiti ottenuti da campioni di feci sono torbidi, si raccomanda di centrifugare a piena velocità (20.000 x g) per 3 minuti per renderli trasparenti. Ciò non avrà un impatto negativo sugli eluiti trasparenti, ma migliorerà le prestazioni degli eluiti torbidi nelle applicazioni downstream. Trasferire l'eluio dopo la centrifugazione in una nuova provetta senza disturbare il pellet. |
| j) | Nuova combinazione di trascrittasi inversa e Taq DNA polimerasi | Se gli enzimi vengono modificati, potrebbe rendersi necessario regolare la quantità di RNA trasportatore (CARRIER) aggiunto al tampone di eluizione (AVE), nonché la quantità di eluito in uso. |
| k) | Carryover di particelle magnetiche | Il carryover di particelle magnetiche negli eluiti non influirà per lo più sulle applicazioni downstream, compresa RT-PCR. Se occorre ridurre al minimo il rischio di carryover tra le particelle magnetiche (ad es., per applicazioni quali real-time PCR), collocare prima le provette contenenti l'eluio in un apposito separatore magnetico per 1 minuto, quindi trasferire gli eluiti in provette pulite. In caso di indisponibilità di un apposito magnete centrifugare la provetta contenente gli eluiti per 1 minuto alla massima velocità in una microcentrifuga per rimuovere qualsiasi particella magnetica residua e trasferire i supernatanti per pulire le provette. |

Simboli

I seguenti simboli compaiono nelle istruzioni per l'uso o su confezioni ed etichette:

| Simbolo | Definizione del simbolo |
|---|--|
|  <N> | Contenuto di reagenti sufficiente per <N> reazioni |
|  | Data di scadenza |
|  | Questo prodotto soddisfa i requisiti del Regolamento europeo 2017/746 per i dispositivi medico-diagnostici in vitro. |
|  | Dispositivo medico-diagnostico in vitro |
|  | Numero di catalogo |
|  | Numero di lotto |
|  | Numero di materiale (vale a dire, etichetta del componente) |
|  | Identificatore univoco del dispositivo |
|  | Componenti |

| Simbolo | Definizione del simbolo |
|---|---|
|  | Contenuto |
|  | Numero |
|  | Volume |
|  | Codice GTIN (Global Trade Item Number) |
| Rn | R sta per revisione delle istruzioni per l'uso e n è il numero di revisione |
|  | Limite di temperatura |
|  | Indirizzo/Produttore legale |
|  | Nota importante |
|  | Consultare le istruzioni per l'uso |
|  | Tenere al riparo dalla luce |
|  | Avvertenza/Cautela |

Simbolo

Definizione del simbolo

| | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|
| USE | Da utilizzarsi esclusivamente con |
| REAG CART VIRUS | RCV: Reagent Cartridge Virus |
| CAR RNA | CARRIER: RNA trasportatore |
| ELU BUF | AVE: Tampone di eluizione AVE |
| DISP FILT TIP | DFT: Puntali con filtro monouso |
| DISP TIP HOLD | DTH: Porta-puntali monouso |
| SAMP TUBE | ST: Provetta per campioni |
| ELU TUBE | ET: Provetta di eluizione |
| GITC | Guanidina isotiocianato |
| GuHCl | Guanidina cloridrato |
| EtOH | Etanolo |
| IPA | Isopropanolo |
| LiCl | Cloruro di litio |

Simbolo

Definizione del simbolo



Proteinasi K



Abbassare questo lato al momento dell'apertura

Informazioni di contatto

Per assistenza tecnica e ulteriori informazioni, consultare i servizi tecnici QIAGEN all'indirizzo www.qiagen.com/Support, chiamare il numero 00800-22-44-6000, o contattare uno dei reparti di assistenza tecnica QIAGEN o i distributori locali (vedere il retro della copertina o visitare il sito www.qiagen.com).

Appendice A: Messaggi sul display su strumenti EZ1/EZ2

I messaggi visualizzati dal protocollo del software sugli strumenti EZ1 durante la preparazione del piano di lavoro, durante l'esecuzione del protocollo e dopo l'esecuzione del protocollo sono elencati nelle Tabelle da 2 a 4. I numeri dei messaggi elencati nelle tabelle corrispondono ai numeri dei messaggi visualizzati dal software.

Per i messaggi di errore generici sul display dello strumento EZ1, consultare il manuale utente fornito con lo strumento EZ1.

Per i messaggi di errore generici visualizzati sullo strumento EZ2 Connect MDx, consultare il rispettivo manuale utente. Contattare l'assistenza tecnica QIAGEN per supporto nella risoluzione dei problemi.

Tabella 2. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced XL DSP Virus

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL |
|----------------------|-------------------|---|
| Nessuno | Guida | Date/time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup (Data/Ora Avvia: Processo 1: UV 2: Man 3: Test 4: Preparazione) |
| 1 | Guida | EZ1 Advanced XL DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced XL DSP Virus Versione 1.0) |
| 2 | Monitoraggio dati | Enter user ID ENT: Next (Inserisci ID utente Invio: avanti) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 2. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced XL DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL |
|----------------------|-------------------|---|
| 3 | Monitoraggio dati | Enter Q-Card bar code ENT: Next (Inserisci codice a barre Q-Card Invio: avanti) |
| 4 | Guida | Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT: Back (Kit errato! Carica EZ1 DSP Virus Kit Invio: indietro) |
| 5 | Guida | Kit expired MMYY ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Kit scaduto MMAA Invio: usa nuovo kit ESC: interrompi protocollo) |
| 6 | Monitoraggio dati | Use Q-Card data with sample 1 to xx Enter 1 to 14 ENT: Next (Utilizza dati Q-Card con campioni da 1 a xx Immetti da 1 a 14 Invio: avanti) |
| 7 | Guida | Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no (Elaborare più campioni con un altro lotto di kit? Invio: sì ESC: no) |
| 8 | Monitoraggio dati | Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No (Aggiungere ID campione? Invio: sì ESC: no) |
| 9 | Monitoraggio dati | Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next (Immetti ID campione per il n. di campione [x] Invio: avanti) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 2. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced XL DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL |
|----------------------|-------------------|--|
| 10 | Monitoraggio dati | Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No (Controllare gli ID campione) Invio: sì ESC: no) |
| 11 | Monitoraggio dati | ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next (ID 1: ID 2: ID 3: Giù: avanti) |
| 12 | Monitoraggio dati | ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back (ID 4: ID 5: ID 6: Giù: avanti, Su: indietro) |
| 13 | Monitoraggio dati | ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back (ID 7: ID 8: ID 9: Giù: avanti, Su: indietro) |
| 14 | Monitoraggio dati | ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back (ID 10: ID 11: ID 12: Giù: avanti, Su: indietro) |
| 15 | Monitoraggio dati | ID 13: ID 14: ESC: Rescan DOWN: Next, UP: Back (ID 13: ID 14: ESC: ripeti scansione Giù: avanti, Su: indietro) |
| 16 | Monitoraggio dati | Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Aggiungere informazioni sull'esame) Invio: sì, ESC: no) |
| 17 | Monitoraggio dati | Enter assay ID for sample no. [x] ENT: Next (Immetti ID esame per il n. di campione [x]) Invio: avanti) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 2. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced XL DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL |
|----------------------|-------------------|---|
| 18 | Monitoraggio dati | Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No (Controllare gli ID esame? Invio: sì, ESC: no) |
| 19 | Monitoraggio dati | Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Aggiungere note? Invio: sì, ESC: no) |
| 20 | Monitoraggio dati | Enter notes for sample no. [x] ENT: Next (Immetti note per il n. di campione [x] Invio: avanti) |
| 21 | Monitoraggio dati | Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No (Controllare le note? Invio: sì ESC: no) |
| 22 | Selezione | Select sample volume 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl (Seleziona volume campione): 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl |
| 23 | Selezione | Select elution volume 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Seleziona volume di eluizione): 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl |
| 24 | Guida | You have chosen: Sample volume: xxx µl Elution volume: yyy µl ENT: Next, ESC: Back (È stato selezionato: Volume del campione: xxx µl Volume di eluizione: yyy µl Invio: avanti, Esc: indietro) |
| 25 | Guida | Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back (Carica cartucce nelle stesse posizioni del campione Invio: avanti, Esc: indietro) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 2. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced XL DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL |
|----------------------|-------------------|--|
| 26 | Guida | Load empty 2 ml tubes into heating block ENT: Next, ESC: Back (Carica provette vuote da 2.0 ml nel blocco riscaldante Invio: avanti, Esc: indietro) |
| 27 | Guida | Load elution tubes (1.5 ml) into first row ENT: Next, ESC: Back (Carica provette di eluizione (1,5 ml) nella prima fila Invio: avanti, Esc: indietro) |
| 28 | Guida | Load tip holders and tips into second row ENT: Next, ESC: Back (Carica porta-puntali e puntali nella seconda fila Invio: avanti, Esc: indietro) |
| 29 | Guida | Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC into third row ENT: Next, ESC: Back (Carica provette da 1,5 ml contenenti cRNA e IC nella terza fila Invio: avanti, Esc: indietro) |
| 30 | Guida | Load 2 ml tubes with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back (Carica provette da 2 ml con campione in quarta fila Invio: avanti, Esc: indietro) |
| 31 | Guida | Loading finished Close door and press START ESC: Back (Caricamento finito Chiudere lo sportello e premere Avvia Esc: indietro) |
| 32 | Guida | Please close door! ENT: Next (Chiudere lo sportello! Invio: avanti) |
| 33 | Guida | Checking temperature Set: Cur: (Controllo della temperatura Impostato: Reale:) |
| 34 | Stato | Protocol started (Protocollo avviato) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 2. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced XL DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL |
|-----------------------------|--------------------------|--|
| 35 | Stato | Piercing foil [x] of 43 min left (Foglio per la perforazione [x] di 43 min rimasti) |
| 36 | Stato | Collecting elution buffer AVE [x] of 43 min left (Raccolta tampone di eluizione AVE) [x] di 43 min rimasti) |
| 37 | Stato | Collecting cRNA + IC [x] of 43 min left (Raccolta cRNA + IC [x] di 43 min rimasti) |
| 38 | Stato | Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Raccolta tampone di lisi) [x] di 43 min rimasti) |
| 39 | Stato | Collecting Sample [x] of 43 min left (Raccolta campione [x] di 43 min rimasti) |
| 40 | Stato | Collecting Proteinase K [x] of 43 min left (Raccolta proteinasi K [x] di 43 min rimasti) |
| 41 | Stato | Mixing lysate [x] of 43 min left (Miscela lisato [x] di 43 min rimasti) |
| 42 | Stato | 15 min Incubation [x] of 43 min left (15 min di incubazione [x] di 43 min rimasti) |
| 43 | Stato | Tip touch [x] of 43 min left (Toccare il puntale [x] di 43 min rimasti) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 2. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced XL DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL |
|----------------------|-------------------|--|
| 44 | Stato | Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (Raccolta tampone di legame [x] di 43 min rimasti) |
| 45 | Stato | Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Raccolta tampone di lisi [x] di 43 min rimasti) |
| 46 | Stato | Collecting Beads [x] of 43 min left (Raccolta biglie [x] di 43 min rimasti) |
| 47 | Stato | Resuspending Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left (Risospensione biglie in tampone di legame [x] di 43 min rimasti) |
| 48 | Stato | Transferring Lysate [x] of 43 min left (Trasferimento lisato [x] di 43 min rimasti) |
| 49 | Stato | Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (Trasferimento lisato [x] di 43 min rimasti) |
| 50 | Stato | Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left Lavaggio 1 Separazione magnetica [x] di 43 min rimasti) |
| 51 | Stato | Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Lavaggio 2 Separazione magnetica [x] di 43 min rimasti) |
| 52 | Stato | Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Lavaggio 3 Separazione magnetica [x] di 43 min rimasti) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 2. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced XL DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL |
|----------------------|-------------------|--|
| 53 | Stato | Drying Beads [x] of 43 min left (Asciugatura biglie [x] di 43 min rimasti) |
| 54 | Stato | Rinse [x] of 43 min left (Risciacquo [x] di 43 min rimasti) |
| 55 | Stato | Elution [x] of 43 min left (Eluizione [x] di 43 min rimasti) |
| 56 | Guida | Check transfer of cRNA + IC (row 3) ENT: Next (Controlla trasferimento di cRNA + IC (fila 3) Invio: avanti) |
| 57 | Guida | Check transfer of sample (row 4) ENT: Next (Controlla trasferimento di campione (fila 4) Invio: avanti) |
| 58 | Guida | Protocol finished ENT: Next (Controlla trasferimento di campione (fila 4) Invio: avanti) |
| 59 | Monitoraggio dati | Transferring report file Attempt no. (Trasferimento file referto tentativo n.) |
| 60 | Nessuno | |
| Nessuno | Guida | Report file sent Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k. (File di referto inviato Stampa ok? 1: ok 2: non ok) |
| 61 | Guida | Report file sent ENT: Next (File referto inviato Invio: avanti) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 2. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced XL DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL |
|----------------------|-------------------|--|
| 62 | Guida | Report file could not be sent ENT: Resend (Impossibile inviare il file referto Invio: ripeti invio) |
| 63 | Guida | Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (Eseguire processo UV? Invio: sì Esc: no) |
| 64 | Guida | Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next (Rimuovere eluiti e materiali di consumo dal piano di lavoro Invio: avanti) |
| 65 | Guida | UV decontamination: Enter 20-60 min ENT: Next (Decontaminazione UV Inserire 20-60 min Invio: avanti) |
| 66 | Guida | UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back (Il tempo di decontaminazione UV deve essere compreso tra 20-60 min Esc: indietro) |
| 67 | Guida | UV decontamination Total time: min Time left: min (Decontaminazione UV Tempo totale: min Tempo rimasto: min) |
| 68 | Guida | Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (Eseguire manutenzione ordinaria dopo ogni processo Esc: menu principale) |
| 69 | Guida | UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next (Lampada UV prossima alla scadenza Processi UV rimasti Invio: avanti) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 2. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced XL DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL |
|----------------------|-------------------|--|
| 70 | Guida | UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort (Lampade UV scadute Invio: avanti Esc: interrompi) |
| 71 | Guida | Decontamination UV lamps cooling Please stand by (Raffreddamento lampada decontaminazione UV Attendere) |
| 72 | Guida | Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (Eseguire manutenzione ordinaria dopo ogni processo Esc: menu principale) |

Tabella 3. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced DSP Virus

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced |
|----------------------|-------------------|---|
| Nessuno | Guida | Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Data/Orario AVVIO: Processo 1: UV 2: Man 3: Test: 4: Preparazione Tasto: AVVIO, 1, 2, 3, 4) |
| 1 | Guida | EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus Versione 1.0) |
| 2 | Monitoraggio dati | Scan/enter user ID (Scansiona/inserisci ID utente) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 3. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced |
|----------------------|-------------------|---|
| Nessuno | Guida | Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Data/Orario AVVIO: Processo 1: UV 2: Man 3: Test 4: Preparazione Tasto: AVVIO, 1, 2, 3, 4) |
| 1 | Guida | EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus Versione 1.0) |
| 2 | Monitoraggio dati | Scan/enter user ID (Scansiona/inserisci ID utente) |
| 3 | Monitoraggio dati | Scan/enter Q-Card barcode (Scansiona/Inserisci codice a barre Q-Card) |
| 4 | Guida | Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT=back (Kit errato! Carica EZ1 DSP Virus Kit (Invio: indietro) |
| 5 | Guida | Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Kit scaduto Invio: usa nuovo kit Esc: interrompi protocollo) |
| 6 | Monitoraggio dati | Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6 (Usa dati Q-Card con campione n. 1 per inserire da 1 a 6) |
| 7 | Guida | Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no (Elaborare più campioni con un altro lotto di kit? Invio: sì, ESC: no) |
| 8 | Monitoraggio dati | Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No (Aggiungere ID campione? Invio: sì Esc: no) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 3. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced |
|----------------------|-------------------|---|
| 9 | Monitoraggio dati | Scandisci/inserisci nr. campione ID [x] |
| 10 | Monitoraggio dati | ID1: ID2: ID3: (ID 1: ID 2: ID 3: Avanti=Invio) |
| 11 | Monitoraggio dati | ID4: ID5: ID6: (ID 4: ID 5: ID 6: Avanti=Invio, ID1-3=Su) |
| 12 | Monitoraggio dati | Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Aggiungere informazioni sull'esame? Invio: sì, Esc: no) |
| 13 | Monitoraggio dati | Scan/enter assay ID ID sample no. [X] (Scansiona/inserisci ID esame ID campione n. [x]) |
| 14 | Monitoraggio dati | Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Aggiungere note? Invio: sì Esc: no) |
| 15 | Monitoraggio dati | Scan/enter notes sample no. [X] (Scansiona/inserisci note campione n. [x]) |
| 16 | Guida | Select sample volume 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl (Seleziona volume campione): 1: 100 µl 2: 200 µl 3: 400 µl |
| 17 | Guida | Select elution volume 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Seleziona volume di eluizione): 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 3. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced |
|----------------------|-------------------|---|
| 18 | Guida | You have chosen: Sample volume: [xxx] µl Elution volume: [yyy] µl Next=Any, Prev=Esc (È stato selezionato: Volume campione: [xxx] µl Volume di eluizione: [yyy] µl Avanti= qualsiasi, Prec. = Esc) |
| 19 | Guida | Load cartridges at same positions as sample Next=Any, Prev=Esc (Carica cartucce nelle stesse posizioni del campione Avanti=Qualsiasi, Prec.=Esc) |
| 20 | Guida | Load empty 2.0 ml tubes at heating block Next=Any, Prev=Esc (Carica provette vuote da 2.0 ml nel blocco riscaldante Avanti=Qualsiasi, Prec.=Esc) |
| 21 | Guida | Load elution tubes (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=Esc (Carica provette di eluizione (1,5 ml) nella prima fila Avanti=Qualsiasi, Prec.=Esc) |
| 22 | Guida | Load tip holders and tips into second row Next=Any, Prev=Esc (Carica porta-puntali e puntali nella seconda fila Avanti=Qualsiasi, Prec.=Esc) |
| 23 | Guida | Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC in third row Next=Any, Prev=Esc (Carica provette da 1,5 ml con cRNA e IC nella terza fila Avanti=Qualsiasi, Prec.=Esc) |
| 24 | Guida | Load 2.0 ml tubes with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc (Carica provette da 2,0 ml con campione nella quarta fila Avanti=Qualsiasi, Prec.=Esc) |
| 25 | Guida | Caricamento terminato. Close door and press START Prev=Esc (Chiudi lo sportello e premi Avvia Prec=Esc) |
| 26 | Guida | Please close door! (Chiudere lo sportello!) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 3. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced |
|----------------------|-------------------|--|
| 27 | Guida | Checking temperature Set: Cur: (Controllo della temperatura) Impostato: Reale: |
| 28 | Stato | Protocol started (Protocollo avviato) |
| 29 | Stato | Piercing foil (Foglio per la perforazione) |
| 30 | Stato | Collecting Elution Buffer AVE (Raccolta tampone di eluizione AVE) |
| 31 | Stato | Collecting cRNA + IC (Raccolta cRNA + IC) |
| 32 | Stato | Collecting Lysis Buffer (Raccolta tampone di lisi) |
| 33 | Stato | Collecting Sample (Raccolta campione) |
| 34 | Stato | Collecting Proteinase K (Raccolta proteinasi K) |
| 35 | Stato | Mixing Lysate (Miscela lisato) |
| 36 | Stato | 15 min Incubation [x] of 43 min left (15 min di incubazione [x] di 43 min rimasti) |
| 37 | Stato | Kick [x] of 43 min left (Kick [x] di 43 min rimasti) |
| 38 | Stato | Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left (Raccolta tampone di legame [x] di 43 min rimasti) |
| 39 | Stato | Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left (Raccolta tampone di lisi [x] di 43 min rimasti) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 3. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced |
|----------------------|-------------------|--|
| 40 | Stato | Collecting Beads [x] of 43 min left (Raccolta biglie [x] di 43 min rimasti) |
| 41 | Stato | Resuspension of Beads in Binding Buffer [x] of 43 min left Risospensione biglie in tampone di legame [x] di 43 min rimasti) |
| 42 | Stato | Transferring Lysate [x] of 43 min left (Trasferimento lisato [x] di 43 min rimasti) |
| 43 | Stato | Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left (Legame Separazione magnetica [x] di 43 min rimasti) |
| 44 | Stato | Wash 1 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Lavaggio 1 Separazione magnetica [x] di 43 min rimasti) |
| 45 | Stato | Wash 2 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Lavaggio 2 Separazione magnetica [x] di 43 min rimasti) |
| 46 | Stato | Wash 3 Magnetic Separation [x] of 43 min left (Lavaggio 3 Separazione magnetica [x] di 43 min rimasti) |
| 47 | Stato | Dry Beads [x] of 43 min left (Asciuga biglie [x] di 43 min rimasti) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 3. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced |
|----------------------|-------------------|--|
| 48 | Stato | Rinse [x] of 43 min left (Risciacqua [x] di 43 min rimasti) |
| 49 | Stato | Elution [x] of 43 min left (Eluizione [x] di 43 min rimasti) |
| 50 | Guida | Check transfer of cRNA + IC (row 3) Next=Any (Controlla trasferimento di cRNA + IC (fila 3) Avanti=Qualsiasi) |
| 51 | Guida | Check transfer of sample (row 4) Next=Any (Controlla trasferimento di campione (fila 4) Avanti=Qualsiasi) |
| 52 | Guida | Protocol finished (Protocollo concluso) |
| 53 | Monitoraggio dati | Transfer Report file, attempt no. (Trasferisci file referto, tentativo n.) |
| 54 | Guida | Report file sent Next=ENT (File referto inviato Avanti=Invio) |
| 55 | Guida | Report file could not be sent Resend=ENT (Impossibile inviare il file referto Ripeti invio=Invio) |
| 56 | Guida | Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (Eseguire processo UV? Invio: sì Esc: no) |
| 57 | Guida | UV decontamination Set time min Key: 0-9, ENT (Decontaminazione UV Imposta ora min Tasto: 0-9, Invio) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 3. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced DSP Virus (continua)

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Testo del messaggio di EZ1 Advanced |
|-----------------------------|--------------------------|--|
| 58 | Guida | UV decontamination. Time must be between 20-60 min Key: ESC (Decontaminazione UV. Il tempo deve essere compreso tra 20-60 min Tasto: Esc) |
| 59 | Guida | UV decontamination Time left: min (Decontaminazione UV Tempo rimasto: min) |
| 60 | Guida | Perform regular maintenance after each run ESC=Main menu (Esegui manutenzione ordinaria dopo ogni processo Esc: menu principale) |
| 61 | Guida | UV lamp expires soon UV runs left: ENT=continue (Lampada UV prossima alla scadenza Processi UV rimasti Invio: continua) |
| 62 | Guida | UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort (Lampada UV scaduta Invio=continua Esc=interrompi) |
| 63 | Guida | Decontamination UV lamp cooling Please stand by (Raffreddamento lampada decontaminazione Attendere) |

Tabella 4. Messaggi visualizzati nella procedura BioRobot EZ1 DSP Virus

| Numero del messaggio | Tipo di messaggio | Messaggi di BioRobot EZ1 DSP |
|----------------------|-------------------|--|
| Nessuno | Guida | Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Data/Orario AVVIO: Processo: 1: UV 2: Man 3: test 4: Preparazione Tasto: AVVIO, 1, 2, 3,4) |
| 1 | Guida | EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP Virus Versione 1.0) |
| 2 | Monitoraggio dati | Scan/enter user ID (Scansiona/inserisci ID utente) |
| 3 | Guida | Select elution volume: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl (Seleziona volume di eluizione: 1: 60 µl 2: 90 µl 3: 120 µl 4: 150 µl) |
| 4 | Guida | You have chosen: Sample Volume: [sample volume] µl Elution Volume: [elution volume] µl Next=Any, Prev=ESC (È stato selezionato: Volume campione: [volume campione] µl Volume di eluizione: [volume di eluizione] µl Avanti=qualsiasi, Prec=Esc) |
| 5 | Guida | Load cartridges (RCV) at same positions as samples Next=Any, Prev=ESC (Carica le cartucce (RCV) nelle stesse posizioni dei campioni Avanti=qualsiasi, Prec=Esc) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 4. Messaggi visualizzati nella procedura BioRobot EZ1 DSP Virus (continua)

| Message number | Tipo di messaggio | Messaggi di BioRobot EZ1 DSP |
|----------------|-------------------|--|
| 6 | Guida | Load empty 2.0 ml tubes (ST) at heating block Next=Any, Prev=ESC (Carica provette vuote (ST) da 2,0 ml sul blocco riscaldante Avanti=qualsiasi, Prec=Esc) |
| 7 | Guida | Load elution tubes (ET) (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=ESC (Carica provette di eluizione (ET) (1,5 ml) nella prima fila Avanti=qualsiasi, Prec=Esc) |
| 8 | Guida | Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC (Carica porta-puntali (DTH) e puntali (DFT) nella seconda fila Avanti=qualsiasi, Prec=Esc) |
| 9 | Guida | Load 1.5 ml tubes (ET) with (CARRIER) + IC in third row Next=Any, Prev=ESC (Carica provette (ET) da 1,5 ml con (CARRIER) + IC nella terza fila Avanti=qualsiasi, Prec=Esc) |
| 10 | Guida | Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc (Carica provette (ST) da 2,0 ml con campione nella quarta fila Avanti=qualsiasi, Prec=Esc) |
| 11 | Guida | Start protocol Press START Prev=ESC (Avvia protocollo Premi AVVIA Prec=Esc) |
| 12 | Stato | Checking Temperature Set: 63.0 [deg] Cur: [deg] (Controllo della temperatura Impostato: 63,0[°] Reale: [°]) |
| 13 | Stato | Protocol started (Protocollo avviato) |
| 14 | Stato | Piercing Foil (Foglio per la perforazione) |
| 15 | Stato | Collecting Elution Buffer (AVE) (Raccolta tampone di eluizione (AVE)) |
| 16 | Stato | Collecting cRNA (CARRIER) + IC (Raccolta cRNA (CARRIER) + IC) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 4. Messaggi visualizzati nella procedura BioRobot EZ1 DSP Virus (continua)

| Message number | Tipo di messaggio | Messaggi di BioRobot EZ1 DSP |
|----------------|-------------------|--|
| 17 | Stato | Collecting Lysis Buffer (Raccolta tampone di lisi) |
| 18 | Stato | Collecting Sample (Raccolta campione) |
| 19 | Stato | Collecting (Raccolta) |
| 20 | Stato | Mixing Lysate (Miscela lisato) |
| 21 | Stato | Checking Temperature Set: 56.0 [deg] Cur: [deg] (Controllo della temperatura Impostato: 56,0[°] Reale: [°]) |
| 22 | Stato | 15 min Incubation (15 min di incubazione) |
| 23 | Stato | Kick |
| 24 | Stato | Collecting Binding Buffer (Raccolta tampone di legame) |
| 25 | Stato | Collecting Lysis Buffer (Raccolta tampone di lisi) |
| 26 | Stato | Collecting Beads (Raccolta biglie) |
| 27 | Stato | Resuspension of Beads in Binding Buffer (Risospensione di biglie in tampone di legame) |
| 28 | Stato | Transferring Lysate (Trasferimento lisato) |
| 29 | Stato | Binding Magnetic Separation (Legame separazione magnetica) |
| 30 | Stato | Wash 1 Magnetic Separation (Lavaggio 1 Separazione magnetica) |
| 31 | Stato | Wash 2 Magnetic Separation (Lavaggio 2 Separazione magnetica) |
| 32 | Stato | Wash 3 Magnetic Separation (Lavaggio 3 Separazione magnetica) |

La tabella continua nella pagina seguente.

Tabella 4. Messaggi visualizzati nella procedura BioRobot EZ1 DSP Virus (continua)

| Message number | Tipo di messaggio | Messaggi di BioRobot EZ1 DSP |
|----------------|-------------------|---|
| 33 | Stato | Dry Beads (Asciuga biglie) |
| 34 | Stato | Kick |
| 35 | Stato | Dry Beads (Asciuga biglie) |
| 36 | Stato | Kick |
| 37 | Stato | Rinse (Risciacqua) |
| 38 | Stato | Checking Temperature Set: 65,0 [deg] Cur: [deg] (Controllo della temperatura Impostato: 63,0[°] Reale: [°]) |
| 39 | Stato | Elution (Eluizione) |
| 40 | Guida | Check transfer of cRNA (CARRIER)+ IC (tube [ET], row 3) Next=Any (Controlla trasferimento di cRNA (CARRIER)+ IC (provetta [ET], fila 3 Avanti=qualsiasi) |
| 41 | Guida | Check transfer of sample (tube [ST], row 4) Next=Any (Controlla trasferimento di campione (provetta [ST], fila 4 Avanti=qualsiasi) |
| 42 | Guida | Protocol finished! (Protocollo concluso!) Premere ESC per tornare al menu |

Appendice B: calcolo del numero di controlli interni (Internal Control, IC)

Per monitorare l'efficacia della preparazione dei campioni e dell'esame downstream, potrebbe rendersi necessario aggiungere un controllo interno al processo di preparazione dei campioni. Per calcolare il numero di controlli interni (Internal Control, IC) richiesti dal protocollo EZ1 DSP Virus è necessario considerare il volume del tampone contenente il controllo interno aggiunto al campione ed il volume di eluizione per un determinato esame.

Stabilire quanto controllo interno (Internal Control, IC) sarà presente nelle reazioni downstream

Per stabilire il volume di controllo interno (Internal Control, IC) che sarà presente in un determinato esame downstream, usare la seguente formula:

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

dove:

IC_{RXN} = Volume di controllo interno (Internal Control, IC) per reazione downstream

IC_{LB} = Volume di controllo interno (Internal Control, IC) aggiunto al tampone di lisi (LB)

LB_{SAM} = Volume del tampone di lisi (LB) per campione

EL_{RXN} = Volume di eluito per reazione downstream

LB_{TOT} = Volume totale di tampone di lisi (LB) più RNA trasportatore (CARRIER) usato nel protocollo

EL_{SAM} = Volume di eluito per campione

Come esempio adottare un sistema di esame stabilito in precedenza dove l'utente 1 aggiunge 39 μ l di soluzione con controllo interno (ICLB) a 8,4 ml di tampone di lisi (LB) e 140 μ l di RNA trasportatore (CARRIER). Con l'applicazione della procedura di riferimento manuale per il sistema di esame, si aggiungono 625 μ l di tampone di lisi (LB) per campione (LB_{SAM}) e si usa un volume di eluizione di 75 μ l (EL_{EI}). L'utente 1 usa 50 μ l di eluito per reazione downstream (EL_{RXN}). Il volume della soluzione con controllo interno in ogni reazione downstream (IC_{RXN}) è:

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

Le reazioni finali downstream per questo sistema di esame contengono 1,89 μ l di soluzione con controllo interno per singola reazione.

Stabilire la quantità di soluzione con controllo interno da aggiungere prima dell'inizio

Se si conosce la quantità di controllo interno (Internal Control, IC) che deve essere presente nell'esame downstream (IC_{RXN}), è necessario determinare la quantità di controllo interno (Internal Control, IC) da diluire con il tampone di eluizione (AVE) e l'RNA trasportatore (CARRIER) (IC_{AVE}) prima di iniziare la purificazione. Per calcolare tale valore, utilizzare la formula seguente:

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

dove:

IC_{AVE} = Volume di controllo interno (IC) diluito in tampone di eluizione–RNA trasportatore (AVE-CARRIER)

| | | |
|------------|---|--|
| IC_{RXN} | = | Volume di controllo interno (Internal Control, IC) per reazione downstream |
| IC_{TOT} | = | Volume totale di controllo interno diluito (Internal Control, IC) in tampone di eluizione-RNA trasportatore (AVE-CARRIER) per processo |
| IC_{SAM} | = | Volume di controllo interno (Internal Control, IC) diluito aggiunto per campione (50 μ l) |
| EL_{SAM} | = | Volume di eluito per campione |
| EL_{RXN} | = | Volume di eluito per reazione downstream |

Ad esempio, l'utente 2 sta lavorando con un esame ottimizzato per l'uso con 1.0 μ l di soluzione con controllo interno per reazione (IC_{RXN}) e 20 μ l di eluito per reazione (EL_{RXN}). L'utente 2 segue il protocollo EZ1 DSP Virus e sono stati selezionati 60 μ l di volume di eluizione (EL_{SAM}). Per ogni campione elaborato, deve essere pipettato manualmente un volume di 60 μ l di controllo interno diluito in una provetta da 1,5 ml (ET) nella posizione 3 del piano di lavoro EZ2, ma durante il processo di preparazione dei campioni del protocollo EZ1 DSP Virus, lo strumento EZ1/EZ2 trasferisce soltanto 50 μ l di controllo interno diluito (IC_{SAM}) dal pozzetto 3/fila B alla reazione di legame. Per 6 campioni lavorati nell'arco di un processo, il volume totale del controllo interno diluito (IC_{TOT}) da eseguire è:

$$\begin{aligned}
 IC_{TOT} &= \text{numero di campioni per processo} \times 60 \mu\text{l} \\
 &= 6 \times 60 \mu\text{l} = 360 \mu\text{l}
 \end{aligned}$$

Il volume della soluzione con controllo interno (IC_{AVE}) di cui l'utente 2 ha bisogno per 6 campioni è:

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

Per ogni campione, si deve aggiungere una soluzione madre da 3,6 μl contenente RNA trasportatore (CARRIER) con 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ alla diluizione IC. Il volume totale deve essere calcolato per 6 campioni:

Volume totale della soluzione madre contenente RNA trasportatore = 6 x 3,6 μl di soluzione madre con RNA trasportatore = 21,6 μl

Per un volume totale finale di 360 μl di controllo interno diluito, l'utente deve aggiungere il tampone di eluizione (AVE):

$$\begin{aligned} \text{Volume di tampone di eluizione (AVE)} &= IC_{TOT} - IC_{AVE} - \text{RNA trasportatore (CARRIER)} \\ &= 360 \mu\text{l} - 21,6 \mu\text{l} - 21,6 \mu\text{l} = 316,8 \mu\text{l} \end{aligned}$$

L'utente 2 deve aggiungere 21,6 μl di una soluzione con controllo interno al tampone di eluizione (AVE) da 316,8 μl e 21,6 μl di una soluzione madre contenente RNA trasportatore (CARRIER) per ottenere 360 μl di controllo interno (Internal Control, IC) diluito. Dal controllo interno (Internal Control, IC) diluito occorre trasferire manualmente 60 μl in provette (ET) da 1,5 ml alla posizione 3 del piano di lavoro dell'EZ1 o dalla fila B dell'EZ2 prima di avviare il protocollo EZ1 DSP Virus.

Appendice C: Foglio campione da utilizzare con il sistema EZ1 DSP Virus

Questo modello di scheda di campionamento può essere utile per l'archiviazione quando si usa la procedura EZ1 DSP Virus. Questo foglio può essere fotocopiato o stampato ed etichettato con le descrizioni dei campioni insieme ai dettagli del processo.

Sistema EZ1 DSP Virus

Data/orario: _____ Numero del lotto kit: _____

Operatore: _____ ID processo: _____

Numero di serie dell'EZ1: _____

| Posizione sul piano di lavoro | ID campione | Materiale campione | RCV e provetta vuota caricate? | ST caricata? | ET caricata? | DTH con DFT caricati? | ET con CARRIER e IC caricati? |
|-------------------------------|-------------|--------------------|--------------------------------|--------------|--------------|-----------------------|-------------------------------|
| 1 (sinistra) | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | |
| 6 | | | | | | | |
| 7 | | | | | | | |
| 8 | | | | | | | |
| 9 | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | |
| 11 | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | |
| 13 | | | | | | | |
| 14 (destra) | | | | | | | |

Data/orario: _____ Numero del lotto kit: _____

Operatore: _____ ID processo: _____

Numero di serie dell'EZ2: _____

| Posizione sul piano di lavoro | ID campione | Materiale campione | RCV e provetta vuota caricate? | ST caricata? | ET caricata? | DTH con DFT caricati? | ET con CARRIER e IC caricati? |
|-------------------------------|-------------|--------------------|--------------------------------|--------------|--------------|-----------------------|-------------------------------|
| 1 (sinistra) | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | |
| 6 | | | | | | | |
| 7 | | | | | | | |
| 8 | | | | | | | |
| 9 | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | |
| 11 | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | |
| 13 | | | | | | | |
| 14 | | | | | | | |
| 15 | | | | | | | |
| 16 | | | | | | | |
| 17 | | | | | | | |
| 18 | | | | | | | |
| 19 | | | | | | | |
| 20 | | | | | | | |
| 21 | | | | | | | |
| 22 | | | | | | | |
| 23 | | | | | | | |
| 24 (destra) | | | | | | | |

Informazioni per gli ordini

| Prodotto | Contenuto | N. cat. |
|--------------------------------|--|---------|
| EZ1 DSP Virus Kit (48) | Per 48 prep. di acidi nucleici virali e/o DNA batterico: cartucce reagenti preriempite, porta-puntali monouso, puntali con filtro monouso, provette per campioni, provette per eluizione, tamponi, RNA trasportatore | 62724 |
| EZ1 Advanced XL DSP Virus Card | Card preprogrammata per il protocollo EZ1 DSP Virus; da utilizzare con lo strumento EZ1 Advanced XL | 9018703 |
| EZ1 Advanced DSP Virus Card | Card preprogrammata per il protocollo EZ1 DSP Virus; da utilizzare con lo strumento EZ1 Advanced | 9018306 |
| EZ1 DSP Virus Card | Card preprogrammata per il protocollo EZ1 DSP Virus; da usare con lo strumento BioRobot EZ1 DSP* | 9017707 |
| EZ1 Advanced XL | Strumento robotico per la purificazione automatica degli acidi nucleici da fino a 14 campioni, tramite i kit EZ1, garanzia di 1 anno su componenti e manodopera* | 9001492 |

* Raccomandiamo Warranty PLUS 2 (n. cat. 9237720): garanzia di 3 anni, 1 visita di manutenzione preventiva l'anno, risposta prioritaria entro 48 ore e tutte le spese di manodopera, di viaggio e per pezzi di ricambio.

| Prodotto | Contenuto | N. cat. |
|-------------------------|---|---------|
| EZ2 Connect MDx | Strumento da banco per l'isolamento automatico degli acidi nucleici da fino a 24 campioni parallelamente, tramite cartucce EZ1 Kit preriempite sigillate; include 1 anno di garanzia su componenti e manodopera Connettività WiFi per LIMS e QIASphere di facile uso | 9003230 |
| Buffer ASL (4 x 140 ml) | 4 x 140 ml Buffer ASL | 19082 |

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti consultare le Istruzioni per l'uso del rispettivo kit QIAGEN. Le Istruzioni per l'uso dei kit QIAGEN sono disponibili sul sito www.qiagen.com oppure possono essere richieste ai servizi tecnici QIAGEN o al distributore locale.

Cronologia delle revisioni del documento

| Revisione | Descrizione |
|-------------------|--|
| R1, giugno 2022 | <ul style="list-style-type: none">• Nuovo Kit Versione V5 conforme al nuovo regolamento UE 2017/746 (IVDR)• Aggiunta dell'utilizzo del nuovo strumento EZ2 Connect MDx• Aggiornamento dei materiali forniti (aggiungere principi attivi)• Aggiornamento della sezione limitazioni: rimozione del materiale campione sangue intero, urina, tamponi asciutti, espettorato dall'uso previsto• Aggiornamento di avvertenze e precauzioni• Aggiornamento di Conservazione e manipolazione dei reagenti• Aggiornamento della Stabilità durante dell'RNA trasportatore• Aggiunta della sezione Smaltimento• Aggiornamento della Guida alla risoluzione dei problemi |
| R2, novembre 2022 | Corretti il numero di catalogo e il nome del reagente nella tabella dei contenuti del kit. |

Contratto di licenza limitata per l'EZ1 DSP Virus Kit

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 presente manuale e soltanto con i componenti contenuti nel pannello. QIAGEN non concede nessuna licenza, nell'ambito della sua proprietà intellettuale, per l'utilizzo o l'integrazione dei componenti di questo pannello con qualsiasi componente non incluso in questo pannello, fatta eccezione per i protocolli forniti con il prodotto, il presente manuale e i protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com. Alcuni di questi 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 alcuna garanzia in merito a essi né alla violazione da parte di essi di eventuali diritti di terzi.
2. Al di fuori delle licenze espressamente dichiarate, QIAGEN non garantisce che questo pannello e/o il suo utilizzo non violino i diritti di terzi.
3. Questo pannello e i relativi componenti sono concessi in licenza per un unico uso e non possono essere riutilizzati, rinnovati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del pannello accettano di non adottare o permettere a chiunque altro di adottare misure che potrebbero portare o facilitare qualsiasi atto vietato 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 pannello e/o ai relativi componenti.

Per i termini di licenza aggiornati, visitare il sito www.qiagen.com.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, EZ1®, EZ2®, BioRobot® (gruppo QIAGEN). 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.

Nov-2022 HB-3026-002 1129846IT © 2022 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

