

Manuale del kit EZ1[®] DSP Virus



Versione 4

IVD

Per uso diagnostico in vitro.



REF

62724

H B

1066790IT



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANIA

R4

MAT

1066790IT



Tecnologie per campioni e analisi QIAGEN

QIAGEN è il fornitore leader nel settore delle tecnologie innovative per campioni e analisi che consentono di isolare e rilevare il contenuto di qualunque campione biologico. I nostri prodotti e i nostri servizi, avanzati e di alta qualità, sono una garanzia di successo, dall'analisi del campione al risultato.

QIAGEN definisce gli standard:

nella purificazione di DNA, RNA e proteine

nell'analisi di acidi nucleici e proteine

nella ricerca su microRNA e RNAi

nelle tecnologie automatizzate per campioni e analisi

Il nostro obiettivo è il vostro successo. Per ulteriori informazioni, visitate il sito www.qiagen.com.

Indice

Uso previsto	5
Sommario e spiegazione	5
Principi della procedura	6
Materiali in dotazione	8
Contenuto del kit	8
Materiali necessari ma non in dotazione	9
Avvertenze e precauzioni	11
Conservazione e manipolazione dei reagenti	12
Conservazione e manipolazione dei campioni	13
Procedura	14
Utilizzo degli strumenti EZ1	14
Preparazione del carrier RNA (CARRIER)	20
Uso di un controllo interno (IC)	21
Volumi di eluizione e manipolazione dell'eluito	21
Conservazione degli acidi nucleici virali/del DNA batterico	22
Prestazioni caratteristiche	22
Protocolli	
■ Pretrattamento dell'urina	23
■ Pretrattamento del sangue intero	24
■ Pretrattamento delle feci	25
■ Pretrattamento di tamponi asciutti	27
■ Pretrattamento di campioni respiratori viscosi	28
■ Pretrattamento per l'isolamento del DNA genomico di batteri gram-positivi	29
■ Purificazione degli acidi nucleici virali e del DNA batterico	30
Controllo di qualità	34
Limitazioni	34
Simboli	35
Riferimenti bibliografici	36
Informazioni sui contatti	36
Guida alla risoluzione dei problemi	37

Appendice A: messaggi sul display	41
Appendice B: calcolo della quantità di controllo interno (IC)	62
Appendice C: scheda di campionamento da usare con il sistema EZ1 DSP Virus	65
Appendice D: esempio di file di report di EZ1 Advanced	67
Informazioni per l'ordine	69

Uso previsto

Il kit EZ1 DSP Virus si avvale della tecnologia a particelle magnetiche per isolare e purificare in automatico gli acidi nucleici virali e il DNA batterico da campioni biologici

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

Il sistema EZ1 DSP Virus è destinato all'uso diagnostico in vitro.

Sommario e spiegazione

Il kit EZ1 DSP Virus fornisce un sistema completamente automatico per purificare contemporaneamente gli acidi nucleici virali e il DNA batterico da campioni del seguente materiale con l'uso di strumenti EZ1:

Siero e plasma

Fluido cerebrospinale (FCS)

Urina

Sangue intero

Feci

Mezzi di trasporto

Campioni respiratori

Tamponi asciutti

Il kit può essere usato per purificare sia gli acidi nucleici da una vasta gamma di virus con DNA e RNA, che il DNA di batteri, tuttavia non si garantisce l'efficacia del kit per ogni specie patogena estratta da uno dei materiali campione e quindi l'efficacia deve essere convalidata dall'utente. La tecnologia a particelle magnetiche consente di purificare acidi nucleici di alta qualità da cui siano assenti proteine, nucleasi e altre impurità. Gli acidi nucleici purificati sono pronti all'uso per la rilevazione altamente sensibile nei test a valle quali l'amplificazione oppure altre reazioni enzimatiche. Lo strumento EZ1 esegue l'intera procedura per preparare fino a 6 campioni (usando EZ1 Advanced o BioRobot EZ1 DSP*) o fino a 14 campioni (usando EZ1 Advanced XL) nell'arco di una sola corsa.

*Non disponibile negli USA o in Canada.

Principi della procedura

La tecnologia a particelle magnetiche abbina la velocità e l'efficienza della purificazione degli acidi nucleici a base di silice alla praticità di trattamento delle particelle magnetiche. La procedura di purificazione è stata concepita per garantire un trattamento sicuro e riproducibile di campioni potenzialmente infetti. La procedura di purificazione comprende quattro fasi: lisi, legame, lavaggio ed eluito (vedere sotto e diagramma). Il pretrattamento del campione è importante per urina, sangue intero, feci, campioni respiratori e tamponi asciutti. Vedere il protocollo di pretrattamento per il materiale campione relativo.

Lisi con proteinasi K

La proteolisi viene eseguita in condizioni altamente denaturanti a temperature 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 miscelati a fondo con le particelle magnetiche per consentire alla superficie della silice un perfetto assorbimento degli acidi nucleici e del DNA batterico. Le condizioni saline e del pH garantiscono che non si leghino alle particelle magnetiche le proteine e altri contaminanti in grado di inibire la PCR ed altre reazioni enzimatiche a valle.

Lavaggio degli acidi nucleici legati

Mentre gli acidi nucleici virali e il DNA batterico restano legati alle particelle magnetiche, i contaminanti vengono dilavati a fondo con una procedura di lavaggio in sequenza che prevede innanzi tutto l'uso del tampone di lavaggio 1, poi del tampone di lavaggio 2 e infine dell'etanolo.

Eluizione di acidi nucleici puri

Gli acidi nucleici virali e il 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 a valle, che conservati per il futuro.

Procedura EZ1 DSP Virus

Siero, plasma, FCS, mezzi di trasporto o urina, sangue intero, feci, campioni respiratori e tamponi asciutti pretrattati



Lisi con proteinasi K e tampone di lisi



Particelle magnetiche e tampone di legame aggiunti ai lisati



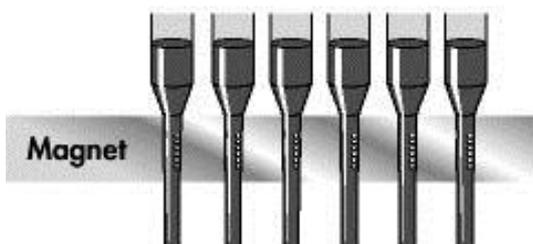
Gli acidi nucleici si legano alle particelle magnetiche



Separazione magnetica



Lavaggio con tampone di lavaggio 1, poi con tampone di lavaggio 2, poi con etanolo



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

Kit EZ1 DSP Virus			(48)
N. catalogo			62724
Numero di prep.			48
RCV	Cartucce reagenti, Virus*†	REAG CART VIRUS	48
DTH	Porta-puntali monouso	DISP TIP HOLD	50
DFT	Puntali con filtro monouso	DISP FILT TIP	50
ST	Provette di campionamento (2 ml)	SAMP TUBE	100
ET	Provette di eluizione (1,5 ml)	ELU TUBE	100
CARRIER	Carrier RNA	CAR RNA	310 µg
AVE	Tampone di eluizione†	ELU BUF	3 x 2 ml
	Q-Card‡		1
	Manuale	H B	1

* Contiene sale di guanidina. Non compatibile con disinfettanti contenenti candeggina. Vedere pag. 11 per le informazioni di sicurezza.

† Contiene azotidrato di sodio come conservante.

‡ Le informazioni contenute nel codice a barre sulla Q-Card sono necessarie per il monitoraggio dei dati dei reagenti tramite l'uso degli strumenti EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL.

Materiali necessari ma non in dotazione

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

Tutti i protocolli

Pipette* e puntali per pipette sterili, senza RNasi

Carta tissue morbida

Acqua

Etanolo al 70%

Opzionale: Vortexer* (se devono essere miscelati campioni congelati)

Per il pretrattamento di urina e sangue intero

ATL (cat. n. 939016)

Per il pretrattamento delle feci

Tampone ASL (cat. n. 19082)

Vortexer

Thermoshaker* o bagnomaria* a 70°C

Per il pretrattamento di tamponi asciutti

ATL (cat. n. 939016)

Thermoshaker (56°C)*

Per il pretrattamento di campioni respiratori viscosi

Sputasol (Oxoid Limited; www.oxoid.com)

Thermoshaker* o bagnomaria* a 37°C

Per l'isolamento del DNA genomico di batteri gram-positivi

Lisozima, Tris-HCl, EDTA, Triton X-100

Thermoshaker* o bagnomaria* a 37°C

*Assicurarsi che gli strumenti siano stati controllati e calibrati regolarmente in accordo con le raccomandazioni del produttore.

Per gli utenti di BioRobot EZ1

Strumento BioRobot EZ1 DSP*† (cat. n. 9001360)

Card EZ1 DSP Virus† (cat. n. 9017707)

Per gli utenti di EZ1 Advanced

Strumento EZ1 Advanced* (cat. n. 9001411)

Card EZ1 Advanced DSP Virus (cat. n. 9018306)

Per gli utenti di EZ1 Advanced XL

Strumento EZ1 Advanced XL* (cat. n. 9001492)

Card EZ1 Advanced XL DSP Virus (cat. n. 9018703)

Per gli utenti di EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL

Per il monitoraggio dei campioni, è richiesto uno dei seguenti dispositivi:

PC e monitor TFT®, 17" (QIAGEN n. cat. 9016643), (oppure PC e monitor già in vostro possesso) con EZ1 Advanced Communicator Software (software fornito con gli strumenti EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL)

Stampante (cat. n. 9018464) e accessori per stampante (cat. n. 9018465)

*Assicurarsi che gli strumenti siano stati controllati e calibrati regolarmente secondo le raccomandazioni del produttore.

† Non disponibile negli USA o in Canada.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico in vitro.

Quando si opera con sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le appropriate schede di sicurezza (SDS). Le schede SDS, nel pratico e compatto formato PDF, sono disponibili online all'indirizzo www.qiagen.com/safety. Qui è possibile trovare, visualizzare e stampare la scheda SDS per ciascun kit QIAGEN® e i relativi componenti.



ATTENZIONE: NON aggiungere candeggina, né soluzioni acide direttamente ai residui della preparazione dei campioni.

Alcuni tamponi nelle cartucce reagenti (RCV) contengono guanidina idrocloruro oppure guanidina isotiocianato, che possono formare dei composti altamente reattivi se combinati con candeggina.

In caso di fuoriuscita di liquido contenente questi tamponi, pulire con un apposito detergente da laboratorio e acqua. Qualora del liquido contenente agenti potenzialmente infetti si versasse accidentalmente sullo strumento EZ1, si dovrà procedere a disinfettare lo strumento usando i reagenti descritti nel manuale d'uso relativo allo strumento EZ1.

Le cartucce reagenti (RCV) rotte o che perdono liquido devono essere eliminate in conformità con le norme di sicurezza vigenti a livello locale. Non utilizzare cartucce reagenti (RCV) né altri componenti danneggiati del kit, giacché tale uso potrebbe comportare una prestazione ridotta del kit.

QIAGEN non ha testato i residui liquidi generati dal processo EZ1 DSP Virus per verificare la presenza di materiali residui infetti. La contaminazione dei residui liquidi da parte di materiali infetti residui è altamente improbabile, ma non può essere esclusa completamente. Pertanto, gli scarti liquidi residui devono essere considerati infetti e vanno eliminati in conformità con le normative di sicurezza locali.

Le seguenti frasi precauzionali e di rischio sono valide per i componenti del Virus Kit EZ1 DSP:

Reagent Cartridge, Virus Mini, v2.0 CE



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

Conservazione e manipolazione dei reagenti

Conservare le cartucce reagenti (RCV) in posizione 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.

Il carrier RNA (CARRIER) liofilizzato è stabile fino alla data di scadenza sulla scatola del kit, se conservato a temperatura ambiente.

Nei tamponi di pretrattamento ATL o ASL possono formarsi precipitati durante la conservazione a temperatura ambiente o a 2–8°C. Incubare i flaconi a 50–56°C per 15–20 minuti, agitandoli manualmente due volte durante questo periodo di incubazione.

Conservazione e manipolazione dei campioni

Durante la procedura di pretrattamento, i campioni devono essere manipolati correttamente per evitare ogni confusione tra loro.

La procedura di purificazione è ottimizzata per l'uso con campioni di volume 100 μ l, 200 μ l o 400 μ l. Si raccomanda un campione di volume 200 μ l per l'estrazione di acidi nucleici virali o batterici dalle feci. È possibile usare per la preparazione del plasma campioni di sangue trattati con EDTA oppure citrato come anticoagulante. I campioni di plasma possono essere sia freschi che congelati, a condizione che non siano stati ricongelati dopo il decongelamento.

Il sangue intero deve essere trattato come i campioni freschi. Se è richiesta una conservazione, consigliamo di conservare i campioni di sangue intero a 2–8°C per massimo 2 giorni.

Dopo il prelievo (e la centrifugazione nel caso di plasma e siero) è possibile conservare i campioni a 2–8°C per un massimo di 6 ore. Per intervalli di conservazione più lunghi consigliamo di congelare le aliquote dei campioni diversi dal sangue intero a temperatura tra –80°C e –20°C. Decongelare i campioni a temperatura ambiente (15–25°C) e processarli non appena raggiunta la temperatura ambiente. Non ricongelare le aliquote dopo il decongelamento. Cicli ripetuti di congelamento–decongelamento causano la denaturazione e la precipitazione delle proteine, con la conseguente riduzione dei titoli virali e batterici e quindi delle rese di acidi nucleici virali. Se nei campioni sono visibili dei crioprecipitati, centrifugare a 6800 x g per 3 minuti \pm 30 secondi, trasferire i supernatanti in provette pulite senza disturbare i sedimenti ed avviare subito il processo di purificazione. In questo modo non si riducono i titoli virali, ma si potrebbe influire sui titoli batterici.

Per l'estrazione di batteri gram-positivi difficili da lisare, si può eseguire una fase addizionale di prelisi che comprende la digestione con lisozima prima dell'estrazione sullo strumento EZ1 (vedere pag. 29 per "Protocollo: Pretrattamento per l'isolamento del DNA genomico di batteri gram-positivi").

Procedura

Utilizzo degli strumenti EZ1

Le principali caratteristiche degli strumenti EZ1 comprendono:

purificazione di acidi nucleici di alta qualità da 1–6 o 1–14 campioni per corsa
ingombro minimo per risparmiare spazio nel laboratorio

card EZ1 DSP preprogrammate* contenenti protocolli pronti all'uso

cartucce reagenti riempite in precedenza e sigillate per un uso facile, rapido e sicuro

automazione completa della purificazione degli acidi nucleici

Le caratteristiche aggiuntive di EZ1 Advanced e 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 aiutare ad eliminare il carryover dei campioni tra le corse e per consentire la decontaminazione delle superfici del piano di lavoro

Nota: la decontaminazione UV aiuta a ridurre l'eventuale contaminazione da patogeni delle superfici del piano di lavoro di EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL. L'efficacia dell'inattivazione 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*, card EZ1 Advanced DSP, e card EZ1 Advanced XL DSP

I protocolli per la purificazione degli acidi nucleici virali e del DNA batterico sono contenuti nelle card EZ1 preprogrammate. L'utente deve semplicemente inserire una card EZ1 Advanced XL DSP nell'EZ1 Advanced XL, una card EZ1 Advanced DSP nell'EZ1 Advanced, o una card EZ1 DSP Card* nello strumento BioRobot EZ1 DSP* e lo strumento è pronto ad eseguire un protocollo (figure 1 e 2).

* Non disponibile negli USA o in Canada.



Figura 1. Setup agevolato del protocollo tramite le card EZ1 DSP. Inserimento di una card EZ1, preprogrammata con il protocollo, nello strumento EZ1.

Nota: lo strumento deve essere attivato solo dopo aver inserito la card EZ1 DSP. Verificare che la card EZ1 DSP applicabile sia stata inserita completamente, altrimenti potrebbe verificarsi una perdita di dati essenziali della strumentazione con conseguente errore di memoria. È consigliabile non rimuovere la card EZ1 DSP mentre la stazione di lavoro è in funzione.



Figura 2. Card completamente inserita nell'apposito alloggiamento di EZ1.

Il kit EZ1 DSP Virus richiede l'impiego di una card EZ1 DSP Virus*, EZ1 Advanced DSP Virus o EZ1 Advanced XL DSP Virus. Le card contengono i protocolli per purificare gli acidi nucleici virali e il DNA batterico da siero, plasma, FCS, urina, sangue intero, feci, mezzi di trasporto, tamponi asciutti e campioni respiratori.

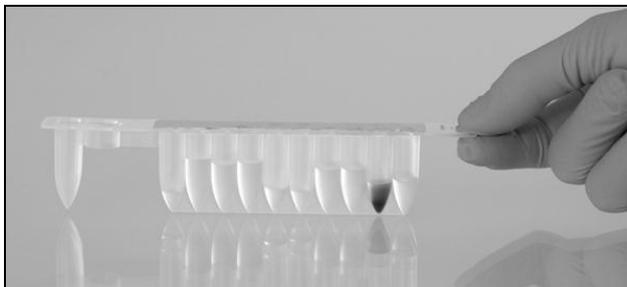
* Non disponibile negli USA o in Canada.

Cartucce reagenti (RCV)

I reagenti per purificare gli acidi nucleici da un singolo campione sono contenuti in una singola cartuccia reagente (RCB) (Figura 3). Ogni pozzetto della cartuccia (RCV) contiene un particolare reagente, quali particelle magnetiche, tampone di lisi, tampone di lavaggio o tampone di eluizione privo di RNasi (AVE). Poichè ogni pozzetto contiene soltanto la quantità di reagente richiesta, si evita di generare residui addizionali dovuti ai resti di reagente al termine della fase di purificazione.

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

A



B

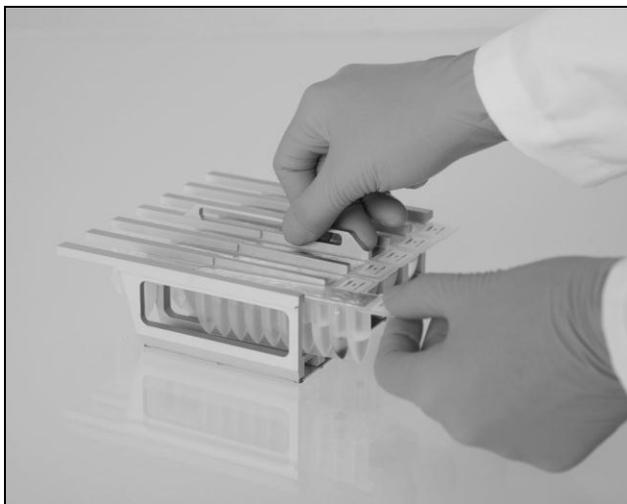


Figura 3. Agevole setup dello strumento con l'uso delle cartucce reagenti (RCV). **A** Una cartuccia reagente sigillata, riempita in precedenza (RCV). I livelli di riempimento variano in funzione del tipo di cartuccia reagente (RCV). **B** Caricamento delle cartucce reagenti (RCV) nell'apposito rack. 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 quello dove l'utente carica i campioni insieme ai componenti del kit EZ1 DSP Virus.

I dettagli relativi alla preparazione del piano di lavoro vengono visualizzati sul display fluorescente a vuoto (VFD) di EZ1 Advanced e di EZ1 Advanced XL o sul display a cristalli liquidi (LCD) del pannello di controllo del BioRobot EZ1 DSP* quando l'utente avvia la preparazione del piano di lavoro.

Il display dello strumento visualizza anche lo stato del protocollo durante la fase di purificazione automatica.

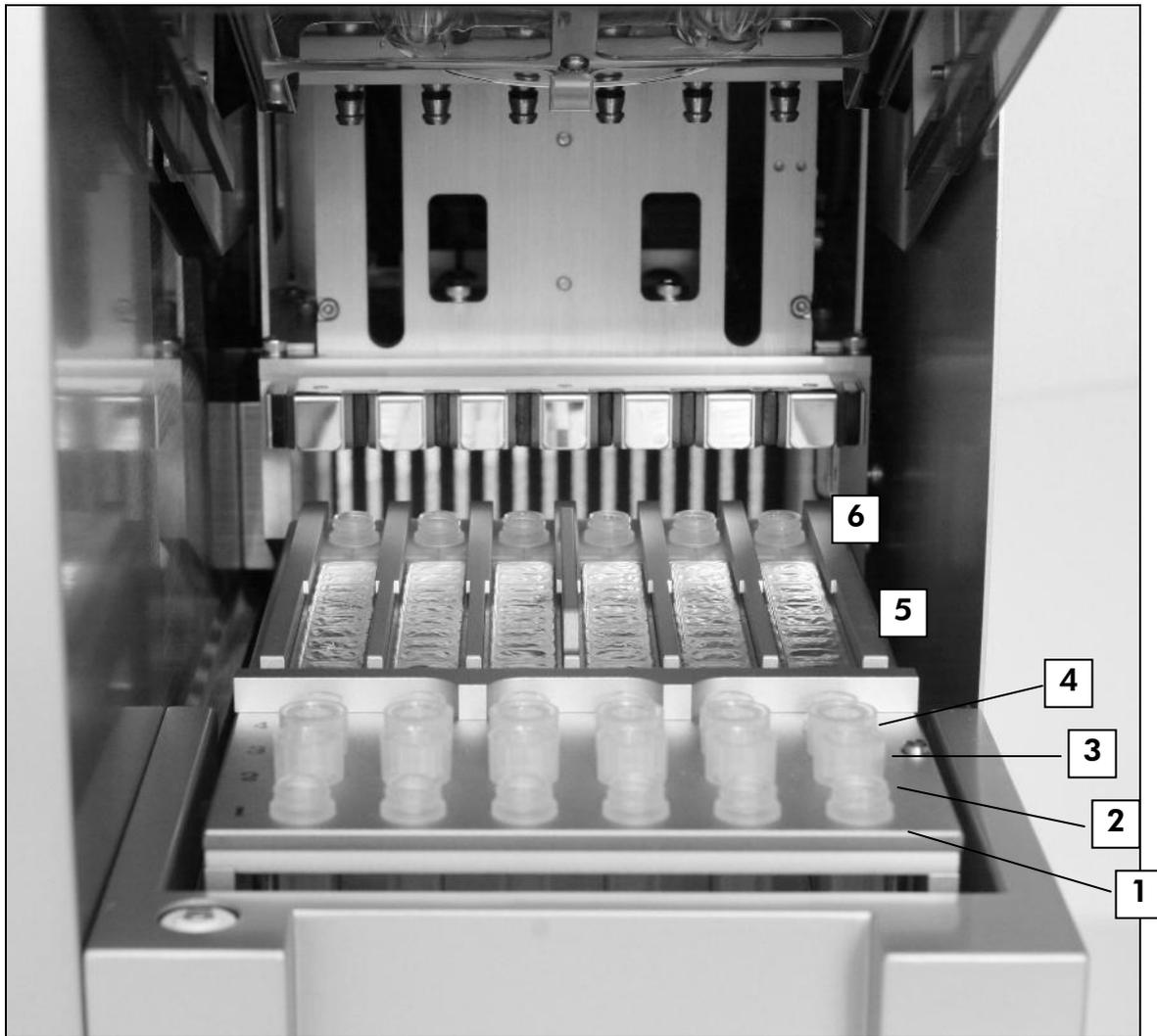


Figura 4. Piano di lavoro di uno strumento EZ1.

1. Provette di eluizione (ET) (1,5 ml) caricate nella prima fila.
2. Porta-puntali monouso (DTH) contenenti puntali con filtro monouso (DFT) caricati nella seconda fila.
3. Provetta (ET) (1,5 ml) contenente il carrier RNA (CARRIER) e controllo interno (IC) (se utilizzato) in tampone di eluizione (AVE), caricati nella terza fila.

* Non disponibile negli USA o in Canada.

4. Provette campioni (ST) (2 ml) caricate nella quarta fila.
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 e EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL consentono il monitoraggio completo di numerosi dati per aumentare il controllo e l'affidabilità del processo. Il numero di lotto e la data di scadenza del kit EZ1 DSP vengono inseriti all'inizio del protocollo tramite il codice a barre della Q-Card. L'ID utente e il codice a barre della Q-Card possono essere inseriti manualmente tramite la tastiera o la scansione dei codici a barre usando l'apposito lettore manuale. Le informazioni relative a campioni e analisi possono anche essere inserite all'inizio del protocollo. Alla fine dell'esecuzione del protocollo viene automaticamente generato un file report. EZ1 Advanced ed EZ1 Advanced XL possono memorizzare fino a 10 file di report e i dati possono essere trasferiti ad un PC o direttamente alla stampante (vedere "Diagramma di flusso del sistema EZ1 DSP Virus", pag. 19).

Per ricevere i file report su PC, è necessario installare l'EZ1 Advanced Communicator software. Il software riceve il file report e lo memorizza in una cartella definita dall'utente. Una volta ricevuto il file report sul PC, è possibile utilizzarlo ed elaborarlo tramite LIMS (Laboratory Information Management System) o un altro programma. Nei file report, i 6 canali di pipettaggio di EZ1 Advanced sono denominati, da sinistra a destra, canali da A a F, oppure i 14 canali di pipettaggio di EZ1 Advanced XL sono denominati, da sinistra a destra, canali 1-14.

Durante la scansione dell'ID utente o del codice a barre della Q-Card tramite il lettore, l'inserimento dei dati è confermato da un segnale acustico. Dopo una visualizzazione di 2 secondi, le informazioni sono automaticamente memorizzate ed appare il messaggio successivo. Durante la scansione di ID campione, ID kit analisi o note, un segnale acustico conferma l'inserimento dei dati, quindi vengono visualizzate le informazioni e appare un messaggio che chiede di inserire le informazioni successive. Al termine della scansione di ID campione, ID kit analisi e note, premere "ENT" una volta per confermare la correttezza delle informazioni inserite. Se, ad esempio, per un campione si è eseguita la scansione di un codice a barre errato, premere "ESC" e ripetere la scansione di tutti i codici a barre dei campioni seguendo le istruzioni che appaiono sullo schermo. Per quanto riguarda gli ID utente e le note, è possibile inserire i numeri da tastiera oppure generare i propri codici a barre per codificare tali numeri.

Nota: per il monitoraggio dei dati, iniziare a caricare i campioni sempre dalla posizione A su EZ1 Advanced e dalla posizione 1 su EZ1 Advanced XL.

Posizionare i restanti campioni di seguito sulle posizioni aperte successive del piano di lavoro.

Per maggiori dettagli sul monitoraggio mediante EZ1 Advanced Communicator software, vedere il *Manuale utente EZ1 Advanced* o il *Manuale utente EZ1 Advanced XL*.

Diagramma di flusso del sistema EZ1 DSP Virus

Introdurre la card EZ1 DSP Virus nell'apposito alloggiamento di EZ1



Accendere lo strumento EZ1



Seguire i messaggi sullo schermo per il monitoraggio dei dati*



Seguire i messaggi sullo schermo per la preparazione del piano di lavoro



Avviare il protocollo



Raccogliere gli acidi nucleici purificati



Decontaminazione UV*

* Solo per EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL.

Preparazione del carrier RNA (CARRIER)

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

Il carrier RNA (CARRIER) liofilizzato in dotazione al kit è sufficiente per preparare 48 campioni. La concentrazione del carrier RNA (CARRIER) utilizzato nel processo di purificazione consente al kit EZ1 DSP Virus di essere utilizzato come sistema di purificazione generico, compatibile con molti diversi sistemi di amplificazione e adatto per purificare gli acidi nucleici da una vasta gamma di batteri e di virus con DNA e RNA. Tuttavia i sistemi di amplificazione variano in efficienza in funzione della quantità totale degli acidi nucleici presenti nella reazione. Gli eluiti ottenuti con il kit EZ1 DSP Virus contengono acidi nucleici virali e batterici e carrier RNA (CARRIER) e in ogni eluito la quantità di carrier RNA (CARRIER) supera in misura notevole la quantità degli acidi nucleici virali e batterici. Per ottenere il massimo livello di sensibilità nelle reazioni di amplificazione, potrebbe rendersi necessario regolare la quantità aggiunta di soluzione di carrier RNA (CARRIER).

Dissolvere completamente il carrier RNA (CARRIER) liofilizzato nel tampone di eluizione (AVE) da 310 μ l, dividerlo in aliquote di dimensioni opportune e conservare a $-20 \pm 5^\circ\text{C}$. Non congelare–decongelare le aliquote più di 2 volte.

Per ogni campione elaborato, diluire 3,6 μ l di una soluzione madre contenente il carrier RNA (CARRIER) in un volume totale di 60 μ l utilizzando tampone di eluizione (AVE) (e/o una soluzione di controllo interno). Un volume di 50 μ l di questa soluzione contenente carrier RNA e tampone di eluizione (CARRIER–AVE) viene trasferito alla miscela di lisi, corrispondente a 3 μ g di carrier RNA (CARRIER).

Se si desidera usare un controllo interno (IC), vedere la seguente sezione "Uso di un controllo interno (IC)".

Nota: il processo di purificazione è ottimizzato in modo da aggiungere ad ogni singolo campione 3 μ g di carrier RNA (CARRIER). Se una diversa quantità di carrier RNA (CARRIER) dimostra di essere migliore per uno specifico sistema di amplificazione, cambiare il volume della soluzione madre contenente il carrier RNA (CARRIER) miscelata al tampone di eluizione (AVE) oppure usare un diversa concentrazione di soluzione madre. Il volume totale per ogni campione di soluzione contenente il carrier RNA e il tampone di eluizione (CARRIER–AVE)

dovrebbe essere di 60 μ l, di cui 50 μ l trasferiti alla miscela di lisi. L'uso di differenti quantità di carrier RNA (CARRIER) deve essere validato per ogni particolare tipo di campione e di analisi a valle.

Uso di un controllo interno (IC)

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

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

Nota: se il controllo interno (IC) è stabile in plasma, siero, FCS, urina, campioni respiratori, sangue intero, feci, mezzi di trasporto o su tamponi asciutti (ad esempio, Armored RNA), in alternativa lo si può aggiungere al campione poco prima di iniziarne la preparazione.

Fare riferimento alle istruzioni del produttore per accertare la quantità di controllo interno (IC) ottimale per le specifiche applicazioni a valle. L'uso di un quantità diversa da quella raccomandata potrebbe ridurre l'efficacia dell'amplificazione. Per accertare la quantità di controllo interno (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 (IC), vedere "Appendice B: calcolo della quantità di controllo interno", pag. 62.

I controlli interni (IC) non sono in dotazione al kit EZ1 DSP Virus.

Volimi di eluizione e manipolazione dell'eluito

L'ultima fase della procedura di purificazione è l'eluizione degli acidi nucleici virali e del DNA batterico ad un volume finale di 60 μ l, 90 μ l, 120 μ l o 150 μ l. Se il materiale del campione era costituito da feci, consigliamo un volume di eluizione di 120–150 μ l.

Se gli eluiti ottenuti da feci sono torbidi, centrifugare alla massima velocità (20 000 x g) per 3 minuti \pm 30 secondi per chiarificarli. Questo trattamento migliora il risultato degli eluiti torbidi nelle applicazioni a valle.

Conservazione degli acidi nucleici virali/del DNA batterico

Per la conservazione a breve termine fino ad un massimo di 24 ore, consigliamo di conservare gli acidi nucleici virali o il DNA virale purificati a 2–8°C, mentre consigliamo una temperatura tra –80°C e –20°C per la conservazione a lungo termine superiore a 24 ore.

Prestazioni caratteristiche

Per informazioni aggiuntive eventualmente disponibili nel vostro paese, consultare il sito QIAGEN:

<http://www.qiagen.com/literature/handbooks/literature.aspx?id=1001022>

Protocollo: pretrattamento dell'urina

Il presente protocollo è destinato al pretrattamento dell'urina prima della purificazione degli acidi nucleici (pag. 30).

Procedura

1. **Aggiungere l'urina al tampone ATL per un volume finale di 100 μ l, 200 μ l o 400 μ l, in conformità con la seguente tabella.**

Tabella 9. Volumi di urina e ATL

Urina (μl)	ATL (μl)	Volume finale campione (μl)
75	25	100
150	50	200
300	100	400

Il tampone ATL deve essere ordinato separatamente, vedere informazioni per l'ordine, pag. 69.

2. **Miscelare la soluzione pipettando con cautela su e giù, oppure capovolgendo 3 volte la provetta chiusa.**
3. **Passare al protocollo di purificazione (pag. 30).**

Protocollo: pretrattamento del sangue intero

Il presente protocollo è destinato al pretrattamento di campioni di sangue intero prima della purificazione degli acidi nucleici (pag. 30).

Procedura

- 1. Aggiungere il sangue intero al tampone ATL per un volume finale di 100 μ l, 200 μ l o 400 μ l, in conformità con la seguente tabella.**

Tabella 10. Volumi di sangue intero e ATL

Sangue intero (μl)	ATL (μl)	Volume finale campione (μl)
50	50	100
100	100	200
200	200	400

Il tampone ATL deve essere ordinato separatamente, vedere informazioni per l'ordine, pag. 69.

- 2. Miscelare la soluzione pipettando con cautela su e giù, oppure capovolgendo 3 volte la provetta chiusa.**
- 3. Passare al protocollo di purificazione (pag. 30).**

Protocollo: pretrattamento delle feci

Il presente protocollo è destinato al pretrattamento di campioni di feci sia solide che liquide prima della purificazione degli acidi nucleici (pag. 30).

Procedura

1. Risospendere 100 mg di feci solide o liquide in 900 μ l di tampone ASL.

Nota: se si usa una quantità minore o maggiore di feci, occorre aggiustare la quantità del tampone ASL per mantenere un rapporto di diluizione di 1:10 (w/v). L'impiego di 30 mg di feci è il requisito minimo per ottenere un campione di almeno 200 μ l dopo il pretrattamento per l'estrazione con lo strumento EZ1.

2. Agitare vigorosamente il campione in vortex per 1–2 minuti o fino ad ottenere una sospensione omogenea.

Nota: se si opera con feci molto solide, si può prolungare la procedura di risospensione, oppure tentare di frammentare il campione pipettando su e giù. Per facilitare la pipettatura, può essere necessario tagliare l'estremità del puntale. Alcune particelle resteranno insolubili e saranno rimosse nella fase successiva.

3. Incubare il campione per 10 minuti \pm 1 minuto a temperatura ambiente sul banco per consentire la sedimentazione delle particelle più grandi.

4. Trasferire almeno 400 μ l di supernatante dalla parte superiore della sospensione a una provetta pulita da 1,5 ml con tappo a vite senza trasferire grosse particelle delle feci.

Nota: fare attenzione a non trasferire grosse particelle con il supernatante nello strumento EZ1. Le grosse particelle di feci nel campione potrebbero ostruire il puntale con filtro dello strumento EZ1.

5. Incubare il campione per 10 minuti \pm 1 minuto a 70°C \pm 3°C in bagnomaria* o thermoshaker*.

6. Passare al protocollo di purificazione (pag. 30).

Nota: per i campioni di feci, si consiglia di utilizzare un volume campione di 200 μ l per l'estrazione e un volume di 120–150 μ l per l'eluizione. Campioni di volume più elevato e volumi di eluizione inferiori possono ridurre la sensibilità delle applicazioni a valle.

Nota: se gli eluiti ottenuti da feci sono torbidi, consigliamo di centrifugare alla massima velocità (20 000 x g) per 3 minuti \pm 30 secondi per

* Assicurarsi che gli strumenti siano stati controllati e calibrati regolarmente in accordo con le raccomandazioni del produttore.

chiarificarli. Questo non avrà alcun impatto negativo sugli eluiti limpidi, mentre migliorerà i risultati degli eluiti torbidi nelle applicazioni a valle.

Protocollo: pretrattamento di tamponi asciutti

Il presente protocollo è destinato al pretrattamento di tamponi asciutti per ottenere dal tampone materiale campione essiccato prima della purificazione degli acidi nucleici (pag. 30).

Procedura

1. Aggiungere 600 μ l di ATL al tampone asciutto.

Nota: regolare il volume in base al tipo di tampone. Deve essere disponibile un volume di 400 μ l per l'estrazione.

2. Incubare il tampone per 15 minuti \pm 1 minuto a 56° \pm 3°C agitando vigorosamente.

3. Trasferire 100 μ l, 200 μ l o 400 μ l del liquido, a seconda del volume di campione scelto, in una provetta pulita con tappo a vite.

4. Passare al protocollo di purificazione (pag. 30).

Protocollo: pretrattamento di campioni respiratori viscosi

Il presente protocollo è destinato al pretrattamento di campioni respiratori viscosi prima della purificazione degli acidi nucleici. I campioni respiratori non viscosi non richiedono alcun pretrattamento e possono essere usati direttamente come materiale di partenza nel protocollo di purificazione (pag. 30).

Procedura

- 1. Aggiungere 1 volume di soluzione Sputasol a 1 volume di campione e agitare bene.**
- 2. Collocare in un bagnomaria* o thermoshaker* e incubare a 37°C ± 3°C agitando periodicamente fino a completa liquefazione del campione.**
- 3. Passare al protocollo di purificazione (pag. 30).**

*Assicurarsi che gli strumenti siano stati controllati e calibrati regolarmente secondo le raccomandazioni del produttore.

Protocollo: Pretrattamento per l'isolamento del DNA genomico di batteri gram-positivi

L'estrazione del DNA può essere migliorata per alcuni batteri gram-positivi con un pretrattamento enzimatico prima di trasferire il campione nello strumento EZ1. Se i campioni presentano una viscosità elevata, come l'espettorato, si raccomanda la liquefazione come da protocollo per i campioni respiratori prima di iniziare questo protocollo. Questo protocollo non è destinato ad essere utilizzato con campioni di feci o sangue intero.

Procedura:

- 1. Sedimentare i batteri centrifugando per 10 minuti \pm 1 minuto a 5000 x g (7500 rpm in microcentrifuga).**
- 2. Sospendere il sedimento batterico in 180 μ l della soluzione enzimatica (20 mg/ml di lisozima; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100) in una provetta da 2 ml con tappo a vite.**
- 3. Incubare per almeno 30 minuti a 37°C \pm 3°C.**
- 4. Centrifugare brevemente la provetta per eliminare le gocce dall'interno del coperchio.**
- 5. Passare al protocollo di purificazione (pag. 30).**

Protocollo: purificazione degli acidi nucleici virali e del DNA batterico

Punti importanti prima di iniziare

- Se si usa per la prima volta il kit EZ1 DSP Virus, leggere “Procedura” (pag. 14).
- Le cartucce reagenti (RCV) contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono candeggina. Adottare adeguate misure di sicurezza e indossare i guanti per maneggiarle. Vedere pag. 11 per le informazioni di sicurezza.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15–25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo aver ricevuto il kit, controllare che i componenti del kit non siano danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCV) oppure i componenti del kit sono danneggiati, contattare il centro di assistenza tecnica della Qiagen oppure il distributore di zona. In caso di liquidi versati, consultare le “Avvertenze e precauzioni” (pag. 11). Non utilizzare cartucce reagenti (RCV) né altri componenti danneggiati del kit, giacché tale uso potrebbe comportare una prestazione ridotta del kit.
- In alcune fasi della procedura, è possibile scegliere fra 2 alternative. Scegliere ▲ se si utilizza l’EZ1 Advanced o l’EZ1 Advanced XL; scegliere ● se si usa il BioRobot EZ1 DSP*.

Prima di iniziare

- Il tampone di lisi nella cartuccia reagente (RCV) potrebbe formare precipitati in fase di conservazione. Se necessario, ridissolvere riscaldandolo a 30–40°C e poi tenerlo a temperatura ambiente.
- Preparare i campioni di siero, plasma, FCS o mezzo di trasporto come descritto in “Conservazione e manipolazione dei campioni”, pag. 13. Se nei campioni decongelati sono visibili dei crioprecipitati, centrifugare a 6800 x g per 3 minuti ± 30 secondi, trasferire i supernatanti in provette nuove senza disturbare i sedimenti e avviare subito il processo di purificazione.
- Preparare i campioni di urina come descritto in “Protocollo: pretrattamento dell’urina”, pag. 23.
- Preparare i campioni di sangue intero come descritto in “Protocollo: pretrattamento del sangue intero”, pag. 24.

* Non disponibile negli USA o in Canada.

- Preparare i campioni di feci come descritto in “Protocollo: pretrattamento delle feci”, pag. 25.
- Preparare i campioni di tampone asciutto come descritto in “Protocollo: pretrattamento di tamponi asciutti”, pag. 27.
- Preparare i campioni respiratori viscosi come descritto in “Protocollo: pretrattamento di campioni respiratori viscosi”, pag. 28. I campioni respiratori non viscosi non richiedono pretrattamento.
- Preparare una soluzione madre contenente il carrier RNA (CARRIER) (con controllo interno [IC] opzionale) prima del primo utilizzo. Dissolvere il carrier RNA (CARRIER) liofilizzato in 310 μ l di tampone di eluizione (AVE) (contenuto nel kit) e miscelarlo con il controllo interno (IC) (opzionale) come descritto in “Preparazione del carrier RNA (CARRIER)” e “Uso di un controllo interno (IC)”, pag. 20–21.

Procedura

1. **Per ogni campione, preparare una soluzione da 60 μ l contenente 3,6 μ l di carrier RNA (CARRIER) dissolto (con controllo interno [IC] opzionale) in una provetta da 1,5 ml (ET) (in dotazione). Miscelare con cura pipettando la soluzione per 10 volte. Non agitare in vortex.**

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

Nota: accertarsi che la soluzione contenente il carrier RNA (CARRIER) sia sul fondo della provetta da 1,5 ml (ET) in modo che dallo strumento EZ1 possa essere trasferita la quantità appropriata.

2. **Trasferire 100 μ l, 200 μ l o 400 μ l di campione in provette campione da 2 ml (ST) e portarle a temperatura ambiente (15–25°C) prima di caricarle sul piano di lavoro. Se si usano campioni congelati, scongelare e portare a temperatura ambiente, quindi miscelare bene in vortex.**

Nota: per prestazioni ottimali è essenziale utilizzare le provette da 2 ml (ST) in dotazione al kit.

Nota: non ricongelare i campioni scongelati, nè conservare i campioni per più di sei ore a 2–8°C, perché ciò comporterebbe una forte riduzione nella resa di acidi nucleici virali o DNA batterico.

Suggeriamo l'uso di campioni con un volume di 100 μ l, 200 μ l o 400 μ l. Si raccomanda un campione di volume 200 μ l per l'estrazione di acidi nucleici virali o batterici dalle feci. Per il pretrattamento dei campioni, vedere il relativo protocollo. Se si desidera usare un campione più ridotto, portare il volume fino a 100 μ l, 200 μ l o 400 μ l con la quantità opportuna di tampone di eluizione (AVE) (tampone di eluizione [AVE] extra non in dotazione; disponibile a parte).

Nota: non usare campioni di volume superiore a 100 μ l, 200 μ l o 400 μ l. 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 campione (ST) per inattivare i virus residui. Il campione eventualmente rimasto nella provetta campione (ST) dopo il trasferimento andrà quindi perduto.

3. **Inserire completamente ▲ la card EZ1 Advanced DSP Virus nello slot per card EZ1 Advanced dell'EZ1 Advanced o la card EZ1 Advanced XL DSP Virus nello slot per card EZ1 Advanced XL dell'EZ1 Advanced XL, o ● la card EZ1 DSP Virus* nello slot per card EZ1 del BioRobot EZ1 DSP*.**
4. **Accendere lo strumento EZ1.**
L'interruttore di alimentazione è collocato nella parte posteriore sinistra dello strumento.
5. **Premere "START" per avviare la preparazione del piano di lavoro del protocollo EZ1 DSP Virus.**
6. **Aprire lo sportello dello strumento.**
7. **Capovolgere le cartucce reagenti (RCV) 3 volte per miscelare le particelle magnetiche. Poi picchiare le cartucce (RCV) per depositare i reagenti sul fondo dei pozzetti.**
8. **Seguire le istruzioni sullo schermo per la preparazione del piano di lavoro, la selezione delle variabili del protocollo e il ▲ monitoraggio dei dati.**

Nota: dopo aver inserito una cartuccia reagente (RCV) nel rack delle cartucce, premere sulla cartuccia fino allo scatto in posizione.

Nota: se le cartucce reagenti (RCV) sono meno di 6 (BioRobot EZ1 DSP*, EZ1 Advanced) o di 14 (EZ1 Advanced XL), possono essere caricate nel rack in qualsiasi ordine. Comunque, quando si caricano le altre provette da laboratorio, assicurarsi che seguano lo stesso ordine.

Nota: assicurarsi che i volumi dei campioni corrispondano al volume del campione nel protocollo scelto.

Nota: assicurarsi che i volumi di eluizione corrispondano al volume di eluizione nel protocollo scelto.

▲ Nota: per il monitoraggio dei dati, iniziare a caricare i campioni sempre dalla posizione A su EZ1 Advanced e dalla posizione 1 su EZ1 Advanced XL. Posizionare i restanti campioni di seguito sulle posizioni aperte successive del piano di lavoro.

* Non disponibile negli USA o in Canada.

▲ **Nota:** 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.

9. Chiudere lo sportello dello strumento.

10. Premere "START" per avviare il protocollo.

11. Al termine del protocollo, sul display compare il messaggio "Protocol finished" (protocollo finito). ▲ Premere "ENT" per generare il file report.

▲ L'EZ1 Advanced e l'EZ1 Advanced XL sono in grado di memorizzare fino a 10 file report. I file report possono essere stampati direttamente tramite una stampante collegata oppure trasferiti su un computer.

12. Aprire lo sportello dello strumento.

13. Rimuovere dalla prima fila le provette di eluizione (ET) contenenti gli acidi nucleici virali e/o il DNA batterico purificati. Eliminare i residui della preparazione dei campioni.*

14. ▲ Raccomandazione: seguire le istruzioni sullo schermo per eseguire la decontaminazione UV delle superfici del piano di lavoro.

15. Eseguire periodicamente la manutenzione descritta nel manuale utente fornito con lo strumento EZ1.

La manutenzione ordinaria deve essere eseguita alla fine di ciascuna esecuzione del protocollo. Tale manutenzione consiste nella pulizia del perforatore e delle superfici del piano di lavoro.

Nota: il perforatore è affilato! Si raccomanda l'uso di doppi guanti.

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

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

* I residui dei campioni contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con ipoclorito. Vedi pagina 22 per le informazioni sulla sicurezza.

Controllo di qualità

In conformità con il Sistema di Gestione della Qualità con certificazione ISO della QIAGEN, ciascun lotto di kit EZ1 DSP Virus è testato secondo specifiche predefinite per garantire una qualità costante del prodotto.

Limitazioni

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

L'efficacia del sistema è stata stabilita mediante studi di valutazione dell'efficacia usando plasma, siero, FCS, urina, sangue intero, feci, mezzi di trasporto, tamponi asciutti e campioni respiratori per isolare gli acidi nucleici virali e il DNA batterico. La valutazione dell'efficacia è stata eseguita soltanto con le combinazioni di materiale patogeno e campione elencate nei dati di prestazione del manuale.

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

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

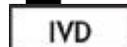
Simboli



Il kit contiene reagenti per la preparazione di 48 campioni



Utilizzare entro



Dispositivo medico per diagnostica in vitro



Numero di catalogo



Codice del lotto



Numero di materiale



Componenti



Numero



Volume



Global Trade Item Number



Limiti di temperatura



Produttore legale



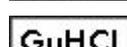
Da utilizzarsi esclusivamente con



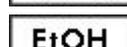
Contiene



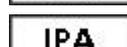
Guanidina isotiocianato



Idrocloruro di guanidina



Etanolo



Isopropanolo



Proteinasi K



Questo lato in basso momento dell'apertura

Riferimenti bibliografici

QIAGEN possiede un'ampia banca dati online continuamente aggiornata con le pubblicazioni scientifiche riguardanti i prodotti QIAGEN. Specifiche opzioni di ricerca consentono di trovare gli articoli necessari sia per parole chiave, sia specificando l'applicazione, l'area di ricerca, il titolo, ecc.

Per un elenco bibliografico completo, visitare il QIAGEN Reference Database online nel sito www.qiagen.com/RefDB/search.asp oppure contattare il centro di assistenza tecnica QIAGEN o il distributore locale.

Informazioni sui contatti

QIAGEN è orgogliosa della qualità e della disponibilità del proprio supporto tecnico. Il nostro reparto di assistenza tecnica è composto da scienziati esperti che hanno alle spalle una lunga esperienza maturata a livello pratico e teorico nelle tecnologie per campioni e analisi e nell'impiego dei prodotti QIAGEN®. In caso volette porgere delle domande o incontriate delle difficoltà con il kit EZ1 DSP Virus o con i prodotti QIAGEN in generale, vi preghiamo di non esitare a contattarci.

I clienti QIAGEN sono la fonte principale d'informazione relativa all'uso avanzato o specializzato dei nostri prodotti. Tali informazioni sono utili sia agli altri ricercatori che a quelli della QIAGEN. Pertanto vi esortiamo a contattarci, in caso di suggerimenti da darci sulle prestazioni dei prodotti o su nuove applicazioni e tecniche.

Per ricevere assistenza tecnica e ulteriori informazioni, consultare il nostro sito www.qiagen.com/Support oppure contattare il servizio assistenza tecnica QIAGEN o il distributore locale (consultare il retro della copertina o il sito www.qiagen.com).

Guida alla risoluzione dei problemi

Questa guida può essere utile per risolvere eventuali problemi che possano presentarsi. Per maggiori informazioni, consultare anche la pagina relativa alle domande frequenti (FAQ) nel nostro Servizio di Assistenza Tecnica:

www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. I ricercatori addetti ai Servizi Tecnici della QIAGEN sono sempre lieti di rispondere a qualsiasi domanda riguardante le informazioni e i protocolli presenti in questo manuale, o le tecnologie per campioni e analisi (per le informazioni sui contatti, vedere il retro della copertina oppure visitare il sito www.qiagen.com).

Commenti e suggerimenti

Gestione generale

- | | |
|--|--|
| a) Messaggio di errore sul display dello strumento | Consultare il manuale utente fornito con lo strumento EZ1. |
| b) File report non stampato | Controllare che la stampante sia collegata a EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL tramite la porta seriale "PC/Printer" (PC/stampante).

Controllare che la porta seriale sia impostata per l'uso con una stampante. |
| c) File report non inviato al PC | Controllare che il PC sia collegato a EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL tramite la porta seriale "PC/Printer" (PC/stampante).

Controllare che la porta seriale sia impostata per l'uso con un PC. |
| d) È stata immessa una ID errata per la Q-Card | Se al posto dell'ID della Q-Card è stata immessa un'ID errata, EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL non accetteranno l'ID e chiederanno di inserire l'ID della Q-Card fino a quando non si inserisce quello corretta. Premere "STOP" due volte per tornare al menu principale. |

Bassa resa di acidi nucleici virali o DNA batterico

- | | |
|--|---|
| a) Particelle magnetiche non completamente risospese | Verificare che le particelle magnetiche siano completamente risospese prima di caricare le cartucce reagenti (RCV) nell'apposito supporto. |
| b) Reagente aspirato insufficiente | Dopo aver capovolto le cartucce reagenti (RCV) per risospendere le particelle magnetiche, battere delicatamente le cartucce (RCV) per depositare i reagenti sul fondo dei pozzetti. |

Commenti e suggerimenti

- c) Reagenti caricati sul piano di lavoro in ordine errato
Assicurarsi che tutte le provette (ET, ST) e i portapuntali (DTH) coi puntali (DFT) siano caricati sul piano di lavoro nel giusto ordine. Ripetere il processo di purificazione con nuovi campioni.
- d) Carrier RNA (CARRIER) non aggiunto
Ricostituire il carrier RNA (CARRIER) liofilizzato in un tampone di eluizione (AVE) da 310 μ l. Per ogni campione, usare 3,6 μ l di questa soluzione madre contenente il carrier RNA (CARRIER), miscelato con controllo interno (IC) (opzionale) e tampone di eluizione (AVE) per ottenere un volume finale di 60 μ l, come descritto in "Preparazione del carrier RNA (CARRIER)" e "Uso di un controllo interno (IC)", pag. 20–21. Ripetere il processo di purificazione con nuovi campioni.
- e) Miscelazione insufficiente del carrier RNA (CARRIER) e del tampone di eluizione (AVE)
Miscelare il carrier RNA (CARRIER), il controllo interno (IC) (opzionale) e il tampone di eluizione (AVE) pipettando almeno 10 volte.
- f) 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.
- g) Precipitati visibili sul fondo dei pozzetti delle cartucce reagenti
Collocare le cartucce reagenti (RCV) in un agitatore/incubatore e incubare a 30–40°C agitando delicatamente per massimo 2 ore. Non usare le cartucce reagenti (RCV) se i precipitati non si ridissolvono.

Mancata buona resa di DNA e RNA nelle applicazioni a valle

- a) Acido nucleico scarso o assente nell'eluato
Vedere le possibili cause in "Bassa resa di acidi nucleici virali o DNA batterico" a pag. 37. Aumentare la quantità di eluito aggiunto alla reazione enzimatica a valle, se possibile.
- b) Campioni congelati non miscelati correttamente dopo il scongelamento
Scongelare i campioni a temperatura ambiente (15–25°C) e miscelare con vortex per 15 secondi.

Commenti e suggerimenti

- | | |
|---|--|
| 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 campioni freschi oppure campioni scongelati una sola volta. Ripetere il processo di purificazione con nuovi campioni. |
| d) Insufficiente lisi dei campioni | Ciò può verificarsi se le cartucce reagenti (RCV) sono state conservate a temperature elevate 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 sali durante l'eluizione | Per ottenere risultati ottimali, assicurarsi che le cartucce reagenti (RCV) siano a 20–30°C. |
| f) Carrier RNA (CARRIER) in eccesso o carente nell'eluato | Determinare la quantità massima di carrier RNA (CARRIER) adatta per la reazione di amplificazione desiderata. Regolare la concentrazione della soluzione contenente il carrier RNA (CARRIER). |
| g) Troppo eluito nella reazione di amplificazione | Stabilire il massimo volume di eluito adatto per la reazione di amplificazione desiderata. Ridurre il volume di eluito aggiunto alla reazione di amplificazione oppure aumentare opportunamente il volume d'eluizione. Un controllo positivo può essere arricchito nell'eluato, se necessario, per accertare l'effetto dell'eluato sulla reazione di amplificazione. |
| h) Prestazioni variabili degli acidi nucleici purificati nei test a valle | I sali e l'etanolo componenti del tampone di lavaggio 1 o del tampone di lavaggio 2 nella cartuccia (RCV) potrebbero essersi separati a causa del lungo periodo di conservazione. Agitare sempre a fondo le cartucce (RCV) e picchiettarle prima di iniziare il processo di purificazione. |

Commenti e suggerimenti

- i) Mancanza di sensibilità a causa di sostanze inibitorie Aumentare il volume di eluizione. Un controllo positivo può essere arricchito nell'eluito, se necessario, per accertare l'effetto dell'eluito sulla reazione di amplificazione. Se gli eluiti ottenuti da campioni di feci sono torbidi, consigliamo di centrifugare alla massima velocità (20 000 x g) per 3 minuti \pm 30 secondi per chiarificarli. Questo non avrà alcun impatto negativo sugli eluiti limpidi, mentre migliorerà i risultati degli eluiti torbidi nelle applicazioni a valle.
- ii) Nuova combinazione di trascrittasi inversa e polimerasi Taq DNA Se si cambiano gli enzimi, potrebbe rendersi necessario regolare la quantità di carrier RNA (CARRIER) aggiunta al tampone di eluizione (AVE), nonché la quantità di eluito in uso.
- iii) Carryover di particelle magnetiche Il carryover di particelle magnetiche negli eluiti non influisce sulla maggior parte delle applicazioni a valle, compresa la RT-PCR. Se occorre ridurre al minimo il rischio di carryover di particelle magnetiche (ad es. per applicazioni quali PCR in tempo reale), collocare prima le provette contenenti l'eluito in un magnete idoneo (ad es. 12-Tube Magnet [cat. n. 36912]) per 1 minuto, poi trasferire gli eluiti in provette pulite. In caso di indisponibilità di un magnete idoneo, 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 in provette pulite.

Appendice A: messaggi sul display

I messaggi visualizzati dal protocollo del software durante la preparazione del piano di lavoro, durante l'esecuzione del protocollo e dopo l'esecuzione del protocollo sono elencati nelle Tabelle 11–13. I numeri dei messaggi elencati nelle tabelle corrispondono ai numeri di messaggi visualizzati dal software.

Per i messaggi di errore generici relativi allo strumento EZ1, vedi il manuale utente fornito con lo strumento EZ1.

Tabella 11. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced XL DSP Virus

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL	Traduzione
Nessuno	Guida	Date/time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup	Data/ora AVVIO: Esegui 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup
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 ENT: Avanti
3	Monitoraggio dati	Enter Q-Card bar code ENT: Next	Inserisci codice a barre Q-Card ENT: Avanti
4	Guida	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT: Back	Kit errato! Carica il kit EZ1 DSP Virus ENT: Indietro
5	Guida	Kit expired MMYY ENT: Use new kit ESC: Stop protocol	Kit scaduto MMAA ENT: Usa nuovo kit ESC: Stop protocollo

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 11. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL	Traduzione
6	Monitoraggio dati	Use Q-Card data with sample 1 to xx Enter 1 to 14 ENT: Next	Usa dati Q-Card con campione 1 - xx. Inserisci 1 - 14 ENT: Avanti
7	Guida	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no	Si desidera elaborare più campioni con un altro lotto di kit ENT: Sì, ESC: no
8	Monitoraggio dati	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No	Si desidera aggiungere un ID campione? ENT: Sì ESC: No
9	Monitoraggio dati	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next	Inserisci ID campione per campione n. [x] ENT: Avanti
10	Monitoraggio dati	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No	Si desidera verificare gli ID campione? ENT: Sì ESC: No
11	Monitoraggio dati	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Avanti
12	Monitoraggio dati	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Avanti, UP: Indietro
13	Monitoraggio dati	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Avanti, UP: Indietro

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 11. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL	Traduzione
14	Monitoraggio dati	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Avanti, UP: Indietro
15	Monitoraggio dati	ID 13: ID 14: ESC: Rescan DOWN: Next, UP: Back	ID 13: ID 14: ESC: Ripeti la scansione DOWN: Avanti, UP: Indietro
16	Monitoraggio dati	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	Si desidera aggiungere informazioni sul test ENT: Sì, ESC: No
17	Monitoraggio dati	Enter assay ID for sample no. [x] ENT: Next	Inserisci ID test per campione n. [x] ENT: Avanti
18	Monitoraggio dati	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No	Si desidera verificare gli ID test ENT: Sì ESC: No
19	Monitoraggio dati	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No	Si desidera aggiungere note? ENT: Sì ESC: No
20	Monitoraggio dati	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next	Inserisci note per campione n. [x] ENT: Avanti
21	Monitoraggio dati	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No	Si desidera verificare le note? ENT: Sì ESC: No

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 11. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL	Traduzione
22	Selezione	Select sample volume: 1: 100 ul 2: 200 ul 3: 400 ul	Seleziona volume campione: 1: 100 ul 2: 200 ul 3: 400 ul
23	Selezione	Select elution volume: 1: 60 ul 2: 90 ul 3: 120 ul 4: 150 ul	Seleziona volume di eluizione: 1: 60 ul 2: 90 ul 3: 120 ul 4: 150 ul
24	Guida	You have chosen: Sample volume: xxxul Elution volume:yyyul ENT: Next, ESC: Back	È stato selezionato: Volume del campione: xxxul Volume di eluizione:yyyul ENT: Avanti, ESC: Indietro
25	Guida	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back	Carica le cartucce nelle stesse posizioni dei campioni ENT: Avanti, ESC: Indietro
26	Guida	Load empty 2 ml tubes into heating block ENT: Next, ESC: Back	Carica le provette da 2 ml vuote nel blocco riscaldante ENT: Avanti, ESC: Indietro
27	Guida	Load elution tubes (1.5 ml) into first row ENT: Next, ESC: Back	Carica le provette di eluizione (1,5 ml) nella prima fila ENT: Avanti, ESC: Indietro
28	Guida	Load tip holders and tips into second row ENT: Next, ESC: Back	Carica i porta-puntali e i puntali nella seconda fila ENT: Avanti, ESC: Indietro

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 11. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL	Traduzione
29	Guida	Load 1.5ml tubes containing cRNA and IC into third row ENT: Next, ESC: Back	Carica le provette da 1,5 ml contenenti cRNA e IC nella terza fila ENT: Avanti, ESC: Indietro
30	Guida	Load 2 ml tubes with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back	Carica le provette da 2 ml con il campione nella quarta fila ENT: Avanti, ESC: Indietro
31	Guida	Loading finished Close door and press START ESC: Back	Caricamento terminato Chiudi lo sportello e premi START ESC: Indietro
32	Guida	Please close door! ENT: Next	Chiudi lo sportello! ENT: Avanti
33	Guida	Checking temperature Set: Cur:	Controlla temperatura Impostata: Reale:
34	Stato	Protocol started	Protocollo avviato
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	Prelevamento tampone di eluizione AVE [x] di 43 min rimasti
37	Stato	Collecting cRNA + IC [x] of 43 min left	Prelevamento cRNA + IC [x] di 43 min rimasti

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 11. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL	Traduzione
38	Stato	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left	Prelevamento tampone di lisi [x] di 43 min rimasti
39	Stato	Collecting Sample [x] of 43 min left	Prelevamento campione [x] di 43 min rimasti
40	Stato	Collecting Proteinase K [x] of 43 min left	Prelevamento 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	Tocco con puntale [x] di 43 min rimasti
44	Stato	Collecting Binding Buffer [x] of 43 min left	Prelevamento tampone di legame [x] di 43 min rimasti
45	Stato	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left	Prelevamento tampone di lisi [x] di 43 min rimasti
46	Stato	Collecting Beads [x] of 43 min left	Prelevamento 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

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 11. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL	Traduzione
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	Legame separazione magnetica [x] di 43 min rimasti
50	Stato	Wash 1 Magnetic Separation [x] di 43 min rimasti	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
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) ENT: Avanti
57	Guida	Check transfer of sample (row 4) ENT: Next	Controlla trasferimento di campione (fila 4) ENT: Avanti

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 11. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL	Traduzione
58	Guida	Protocol finished ENT: Next	Protocollo finito ENT: Avanti
59	Monitoraggio dati	Transferring report file Attempt no.	Trasferimento file di report tentativo n.
60	Nessuno		
Nessuno	Guida	Report file sent Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k.	File di report inviato Stampa o.k.? 1: o.k 2: non o.k.
61	Guida	Report file sent ENT: Next	File di report inviato ENT: Avanti
62	Guida	Report file could not be sent ENT: Resend	Impossibile inviare il file di report ENT: Ripeti invio
63	Guida	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No	Esegui corsa UV? ENT: Sì ESC: No
64	Guida	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next	Rimuovi eluiti e materiali di consumo dal piano di lavoro ENT: Avanti
65	Guida	UV decontamination: Enter 20-60 min ENT: Next	Decontaminazione UV: Inserisci 20-60 min ENT: Avanti

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 11. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced XL	Traduzione
66	Guida	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back	La durata della decontaminazione UV deve essere compresa tra 20-60 min ESC: Indietro
67	Guida	UV decontamination Total time: min Time left: min	Decontaminazione UV Durata totale: min Durata residua: min
68	Guida	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu	Esegui manutenzione ordinaria dopo ogni corsa ESC: Menu principale
69	Guida	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next	Lampade UV prossime alla scadenza Corse UV rimaste: ENT: Avanti
70	Guida	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort	Lampade UV scadute ENT: Avanti ESC: Interrompi
71	Guida	Decontamination UV lamps cooling Please stand by	Decontaminazione Raffreddamento lampade UV Attendere
72	Guida	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu	Esegui manutenzione ordinaria dopo ogni corsa ESC: Menu principale

Tabella 12. Messaggi visualizzati nella procedura EZ1 Advanced DSP Virus

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced	Traduzione
Nessuno	Guida	Date/Time START:Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4	Data/ora START:Esegui 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Tasto: START, 1, 2, 3, 4
1	Guida	EZ1 Advanced DSP Virus Version 1.0	EZ1 Advanced DSP Virus Versione 1.0
2	Monitoraggi o dati	Scan/enter user ID	Scansiona/inserisci ID utente
3	Monitoraggi o dati	Scan/enter Q-Card bar code	Scansiona/inserisci codice a barre Q-Card
4	Guida	Wrong kit! Please load EZ1 DSP Virus Kit ENT=back	Kit errato! Carica kit EZ1 DSP Virus ENT=Indietro
5	Guida	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol	Kit scaduto ENT: Usa nuovo kit ESC: Stop protocollo
6	Monitoraggi o dati	Use Q-Card data with sample no. 1 Enter 1 to 6	Usa dati Q-Card con campione n. 1 Inserisci 1 - 6
7	Guida	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: no	Si desidera elaborare più campioni con un altro lotto di kit ENT: Sì, ESC: No
8	Monitoraggi o dati	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No	Si desidera aggiungere un ID campione? ENT: Sì ESC: No

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 12. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced	Traduzione
9	Monitoraggi o dati	Scan/enter sample ID sample no. [x]	Scansiona/inserisci ID campione campione n. [x]
10	Monitoraggi o dati	ID1: ID2: ID3: Next=ENT	ID1: ID2: ID3: Avanti=ENT
11	Monitoraggi o dati	ID4: ID5: ID6: Next=ENT, ID1-3=Up	ID4: ID5: ID6: Avanti=ENT, ID1-3=Up
12	Monitoraggi o dati	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	Si desidera aggiungere informazioni sul test ENT: Sì, ESC: No
13	Monitoraggi o dati	Scan/enter assay ID ID sample no. [x]	Scansiona/inserisci ID test ID campione n. [x]
14	Monitoraggi o dati	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No	Si desidera aggiungere note ENT: Sì ESC: No
15	Monitoraggi o dati	Scan/enter notes sample no. [x]	Scansiona/inserisci note campione n. [x]
16	Guida	Select sample volume: 1: 100 ul 2: 200 ul 3: 400 ul	Seleziona volume del campione: 1: 100 ul 2: 200 ul 3: 400 ul

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 12. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced	Traduzione
17	Guida	Select elution volume: 1: 60 ul 2: 90 ul 3: 120 ul 4: 150 ul	Seleziona volume di eluizione: 1: 60 ul 2: 90 ul 3: 120 ul 4: 150 ul
18	Guida	You have chosen: Sample volume: [xxx] ul Elution volume: [yyy] ul Next=Any, Prev=Esc	È stato selezionato: Volume del campione: [xxx] ul Volume di eluizione: [yyy] ul Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc
19	Guida	Load cartridges at same positions as sample Next=Any, Prev=Esc	Carica le cartucce nelle stesse posizioni dei campioni Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc
20	Guida	Load empty 2.0 ml tubes at heating block Next=Any, Prev=Esc	Carica le provette da 2,0 ml vuote nel blocco riscaldante Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc
21	Guida	Load elution tubes (1.5 ml) into first row Next=Any, Prev=Esc	Carica le provette di eluizione (1,5 ml) nella prima fila Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc
22	Guida	Load tip holders and tips into second row Next=Any, Prev=Esc	Carica i porta-puntali e i puntali nella seconda fila Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 12. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced	Traduzione
23	Guida	Load 1.5 ml tubes containing cRNA and IC in third row Next=Any, Prev=Esc	Carica le provette da 1,5 ml contenenti cRNA e IC nella terza fila Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc
24	Guida	Load 2.0 ml tubes with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc	Carica le provette da 2,0 ml contenenti il campione nella quarta fila Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc
25	Guida	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc	Caricamento terminato. Chiudi lo sportello e premi START Indietro=Esc
26	Guida	Please close door!	Chiudi lo sportello!
27	Guida	Checking temperature: Cur:	Controllo temperatura Impostata: Reale:
28	Stato	Protocol started	Protocollo avviato
29	Stato	Piercing foil	Foglio per la perforazione
30	Stato	Collecting Elution Buffer AVE	Prelevamento tampone di eluizione AVE
31	Stato	Collecting cRNA + IC	Prelevamento cRNA + IC
32	Stato	Collecting Lysis Buffer	Prelevamento tampone di lisi

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 12. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced	Traduzione
33	Stato	Collecting Sample	Prelevamento campione
34	Stato	Collecting Proteinase K	Prelevamento 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	Prelevamento tampone di legame [x] di 43 min rimasti
39	Stato	Collecting Lysis Buffer [x] of 43 min left	Prelevamento tampone di lisi [x] di 43 min rimasti
40	Stato	Collecting Beads [x] of 43 min left	Prelevamento 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 di lisato [x] di 43 min rimasti
43	Stato	Binding Magnetic Separation [x] of 43 min left	Legame separazione magnetica [x] di 43 min rimasti

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 12. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced	Traduzione
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	Asciugatura biglie [x] di 43 min rimasti
48	Stato	Rinse [x] of 43 min left	Risciacquo [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 finito
53	Monitoraggio dati	Transfer Report file, attempt no.	Trasferisci file di report, tentativo n.
54	Guida	Report file sent Next=ENT	File di report inviato Avanti=ENT
55	Guida	Report file could not be sent Resend=ENT	Impossibile inviare il file di report Ripeti invio=ENT

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 12. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di EZ1 Advanced	Traduzione
56	Guida	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No	Esegui corsa UV? ENT: Sì ESC: No
57	Guida	UV decontamination Set time min Key:0-9, ENT	Decontaminazione UV Imposta durata min Tasto:0-9, ENT
58	Guida	UV decontamination. Time must be between 20-60 min Key:ESC	Decontaminazione UV. La durata deve essere compresa tra 20-60 min Tasto:ESC
59	Guida	UV decontamination Time left: min	Decontaminazione UV Durata residua: min
60	Guida	Perform regular maintenance after each run ESC=Main menu	Esegui manutenzione ordinaria dopo ogni corsa ESC=Menu principale
61	Guida	UV lamp expires soon UV runs left: ENT=continue	Lampada UV prossima alla scadenza Corse UV rimaste: ENT= continua
62	Guida	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort	Lampada UV scaduta ENT=continua ESC=interrompi
63	Guida	Decontamination UV lamp cooling Please stand by	Decontaminazione Raffreddamento lampada UV Attendere

Tabella 13. Messaggi visualizzati nella procedura BioRobot EZ1 DSP Virus*

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di BioRobot EZ1 DSP	Traduzione
Nessuno	Guida	Choose button: START: Protocols 1: Tools 2: Tests	Seleziona il pulsante: START: Protocolli 1: Strumenti 2: Tests
1	Guida	BioRobot EZ1 DSP Virus Version	BioRobot EZ1 DSP Virus Versione
2	Guida	Select sample volume: 1: 100ul 2: 200ul 3: 400ul	Seleziona volume del campione: 1: 100ul 2: 200ul 3: 400ul
3	Guida	Select elution volume: 1: 60ul 2: 90ul 3: 120ul 4: 150ul	Seleziona volume di eluizione: 1: 60ul 2: 90ul 3: 120ul 4: 150ul
4	Guida	You have chosen: Sample Volume:[sample volume]ul Elution Volume:[elution volume]ul Next=Any, Prev=ESC	È stato selezionato: Volume del campione:[volume del campione]ul Volume di eluizione:[volume di eluizione]ul Avanti=qualsiasi, Indietro=ESC
5	Guida	Load cartridges (RCV) at same positions as samples Avanti=qualsiasi, indietro=ESC	Carica le cartucce (RCV) nelle stesse posizioni dei campioni Avanti=qualsiasi, Indietro=ESC

La tabella continua alla pagina seguente.

* Non disponibile negli USA o in Canada.

Tabella 13. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di BioRobot EZ1 DSP	Traduzione
6	Guida	Load empty 2.0ml tubes (ST) at heating block Next=Any, Prev=ESC	Carica le provette da 2,0 ml vuote (ST) nel blocco riscaldante Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc
7	Guida	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=ESC	Carica le provette di eluizione (ET) (1,5 ml) nella prima fila Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc
8	Guida	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC	Carica i porta-puntali (DTH) e i puntali (DFT) nella seconda fila Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc
9	Guida	Load 1.5ml tubes (ET) with (CARRIER) + IC in third row Next=Any, Prev=ESC	Carica le provette da 1,5 ml (ET) contenenti (CARRIER) + IC nella terza fila Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc
10	Guida	Load 2.0ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=ESC	Carica le provette da 2,0 ml contenenti il campione nella quarta fila Avanti=qualsiasi, Indietro=Esc
11	Guida	Start protocol Press START Prev=ESC	Avvia protocollo Premi START Indietro=Esc

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 13. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di BioRobot EZ1 DSP	Traduzione
12	Stato	Checking Temperature Set: 63,0 [°] Cur: [°]	Controllo temperatura Impostata: 63,0 [°] Reale: [°]
13	Stato	Protocol started	Protocollo avviato
14	Stato	Piercing Foil	Foglio per la perforazione
15	Stato	Collecting Elution Buffer (AVE)	Prelevamento tampone di eluizione (AVE)
16	Stato	Collecting cRNA (CARRIER) + IC	Prelevamento tampone di eluizione (AVE)
17	Stato	Collecting Lysis Buffer	Prelevamento tampone di lisi
18	Stato	Collecting Sample	Prelevamento campione
19	Stato	Collecting	Prelevamento
20	Stato	Mixing Lysate	Miscela lisato
21	Stato	Controllo temperatura Set: 56,0 [°] Cur: [°]	Controllo temperatura Impostata: 56,0 [°] Reale: [°]
22	Stato	15 min Incubation	15 min di incubazione
23	Stato	Kick	Kick
24	Stato	Collecting Binding Buffer	Prelevamento tampone di legame
25	Stato	Collecting Lysis Buffer	Prelevamento tampone di lisi
26	Stato	Collecting Beads	Prelevamento biglie

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 13. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di BioRobot EZ1 DSP	Traduzione
27	Stato	Resuspension of Beads in Binding Buffer	Risospensione 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
33	Stato	Dry Beads	Asciugatura biglie
34	Stato	Kick	Kick
35	Stato	Asciugatura biglie	Asciugatura biglie
36	Stato	Kick	Kick
37	Stato	Rinse	Risciacquo
38	Stato	Controllo temperatura Set: 65,0 [°] Cur: [°]	Controllo temperatura Impostata: 65,0 [°] 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

La tabella continua alla pagina seguente.

Tabella 13. Continua

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo del messaggio di BioRobot EZ1 DSP	Traduzione
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! Premi ESC per tornare al menu	Protocollo finito! Premi ESC per tornare al menu

Appendice B: calcolo della quantità di controllo interno (IC)

Per monitorare l'efficacia della preparazione dei campioni e del test a valle, potrebbe rendersi necessario aggiungere un controllo interno (IC) al processo di preparazione dei campioni. Per calcolare la quantità di controllo interno (IC) richiesta 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 test.

Stabilire quanto controllo interno (IC) sarà presente nelle reazioni a valle

Per stabilire il volume di controllo interno (IC) che sarà presente in un determinato test a valle, 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 (IC) per reazione a valle

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

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

EL_{RXN} = Volume di eluito per reazione a valle

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

EL_{SAM} = Volume di eluito per campione

Come esempio adottare un sistema di sperimentazione 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 carrier (CARRIER). Con l'applicazione della procedura di riferimento manuale per il sistema di sperimentazione, 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_{SAM}). L'utente 1 usa 50 μ l di eluito per reazione a valle (EL_{RXN}). Il volume della soluzione con controllo interno in ogni reazione a valle (IC_{RXN}) è:

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

Le reazioni finali a valle per questo sistema di sperimentazione contengono 1,89 μl 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 (IC) che deve essere presente nel test a valle (IC_{RXN}), è necessario determinare la quantità di controllo interno (IC) da diluire con il tampone di eluizione (AVE) e l'RNA carrier (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 carrier (AVE-CARRIER)

IC_{RXN} = Volume di controllo interno (IC) per reazione a valle

IC_{TOT} = Volume totale di controllo interno diluito (IC) in tampone di eluizione-RNA carrier (AVE-CARRIER) per corsa

IC_{SAM} = Volume di controllo interno (IC) diluito aggiunto per campione (50 μl)

EL_{SAM} = Volume di eluito per campione

EL_{RXN} = Volume di eluito per reazione a valle

Ad esempio, l'utente 2 sta lavorando con un test ideale per l'uso con 1,0 μl di soluzione con controllo interno per reazione (IC_{RXN}) e 20 μl di eluito per reazione (EL_{RXN}). L'utente 2 segue il protocollo EZ1 DSP Virus e seleziona 60 μl di volume di eluizione (EL_{SAM}). Per ogni campione processato, deve essere pipettato manualmente un volume di 60 μl di controllo interno (IC) diluito in una provetta da 1,5 ml (ET) alla posizione 3 del piano di lavoro EZ1, ma durante la fase di preparazione dei campioni del protocollo EZ1 DSP Virus, lo strumento EZ1 trasferirà soltanto 50 μl di controllo interno diluito (IC_{SAM}) dal pozzetto 3 alla reazione di legame. Per sei campioni lavorati nell'arco di una corsa, il volume totale del controllo interno diluito (IC_{TOT}) da preparare è:

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

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

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

Per ogni campione, si devono aggiungere $3,6 \mu l$ di una soluzione madre contenente l'RNA carrier (CARRIER) a $1 \mu g/\mu l$ alla diluizione IC. Il volume totale deve essere calcolato per sei campioni:

Volume totale della soluzione madre contenente l'RNA carrier = $6 \times 3,6 \mu l$ di soluzione madre contenente l'RNA carrier = $21,6 \mu l$

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

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

L'utente 2 deve aggiungere $21,6 \mu l$ di una soluzione con controllo interno a $316,8 \mu l$ di tampone di eluizione (AVE) e $21,6 \mu l$ di una soluzione madre contenente l'RNA carrier (CARRIER) per ottenere $360 \mu l$ di controllo interno diluito (IC). Dal controllo interno diluito occorre trasferire manualmente $60 \mu l$ in provette da $1,5 \text{ ml}$ (ET) alla posizione 3 del piano di lavoro EZ1, prima di avviare il protocollo EZ1 DSP Virus.

Appendice C: scheda di campionamento da usare 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. Questa scheda può essere fotocopiata ed etichettata con le descrizioni dei campioni insieme ai dettagli della corsa.

Sistema EZ1 DSP Virus

Data/ora: _____ **Numero del lotto kit:** _____

Operatore: _____ **ID corsa:** _____

Numero seriale dello strumento: _____

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

Appendice D: esempio di file di report di EZ1 Advanced

Questa appendice mostra un file di report tipico generato su EZ1 Advanced. I valori di ciascun parametro saranno differenti dal file di report generato dal proprio EZ1 Advanced. Si tenga presente che per "User ID" (ID utente) è ammesso un massimo di 9 caratteri e che "Assay Kit ID" (ID kit test) e "Note" (Note) è ammesso un massimo di 14 caratteri.

EZ1 Advanced XL genera un file di report analogo contenente le informazioni sullo strumento e sul protocollo relative a EZ1 Advanced XL e le informazioni sui canali 1–14.

Report File EZ1 Advanced:

Serial No. EZ1 Advanced: "123456789"
User ID: "964"
Firmware version: "V 1.0.0"
Installation date of instrument: " , "
Weekly maintenance done on: "Feb 26, 2008"
Yearly maintenance done on: "Nov 06, 2007"
Date of last UV-run: "Mar 03, 2008"
Start of last UV-run: "14:48"
End of last UV-run: "14:52"
Status of last UV-run: "UV run aborted"

Protocol name: "Virus DSP"
..... "Version 1.0"

Date of run: "Mar 03, 2008"
Start of run: "14:54"
End of run: "15:40"
Status run: "o.k"
Error Code: "----"
Sample input Volume [ul]: " 400"
Elution volume [ul]: " 60"

Channel A:
Sample ID: "717"
Reagent Kit number: "9801401"
Reagent Lot number: "1181234567"
Reagent Expiry date: "1210"
Assay Kit ID: "717"
Note: "717"

Channel B:
Sample ID: "393"
Reagent Kit number: "9801401"
Reagent Lot number: "1181234567"
Reagent Expiry date: "1210"
Assay Kit ID: "393"
Note: "393"

Channel C:
Sample ID: "163"
Reagent Kit number: "9801401"
Reagent Lot number: "1181234567"
Reagent Expiry date: "1210"
Assay Kit ID: "163"
Note: "163"

Channel D:
Sample ID: "149"
Reagent Kit number: "9801401"
Reagent Lot number: "1181234567"
Reagent Expiry date: "1210"
Assay Kit ID: "149"
Note: "149"

Channel E:
Sample ID: "719"
Reagent Kit number: "9801401"
Reagent Lot number: "1181234567"
Reagent Expiry date: "1210"
Assay Kit ID: "719"
Note: "719"

Channel F:
Sample ID: "407"
Reagent Kit number: "9801401"
Reagent Lot number: "1181234567"
Reagent Expiry date: "1210"
Assay Kit ID: "407"
Note: "407"

[Checksum E95974AC]

Informazioni per l'ordine

Prodotto	Contenuto	N. cat.
EZ1 DSP Virus Kit (48)	Per 48 prep. di acido nucleico virale: cartucce reagenti preriempite, porta-puntali monouso, puntali monouso con filtro, provette di campionamento, provette di eluizione, tamponi, RNA carrier	62724
EZ1 Advanced DSP Virus Card	Card preprogrammata per il protocollo EZ1 DSP Virus; da utilizzare con lo strumento EZ1 Advanced	9018306
EZ1 Advanced XL DSP Virus Card	Card preprogrammata per il protocollo EZ1 DSP Virus; da utilizzare con lo strumento EZ1 Advanced XL	9018703
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 robotizzato per la purificazione automatica degli acidi nucleici da 14 campioni tramite i kit EZ1, garanzia di 1 anno sui componenti e sulla manodopera*†	9001492
EZ1 Advanced	Strumento robotizzato per la purificazione automatica degli acidi nucleici tramite i kit EZ1, garanzia di 1 anno sui componenti e sulla manodopera†	9001411
ATL (4 x 50 ml)	ATL (4x 50 ml)	939016
Buffer ASL (4x 140 ml)	Tampone ASL (4x 140 ml)	19082

* Non disponibile negli USA o in Canada.

† Raccomandiamo Warranty PLUS 2 (num. cat. 9237720), comprende: 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.

Per ottenere maggiori informazioni sulle tecnologie per test QIAGEN, visitate il sito www.qiagen.com/products/assays.

Per informazioni di licenza aggiornate o per le clausole di responsabilità specifiche del prodotto, fare riferimento al manuale del kit QIAGEN o al manuale utente. I manuali del kit QIAGEN e i manuali utente sono disponibili sul sito www.qiagen.com o possono essere richiesti al centro di assistenza tecnica QIAGEN o al distributore locale.

Questa pagina è stata lasciata in bianco intenzionalmente

Questa pagina è stata lasciata in bianco intenzionalmente

Marchi commerciali: QIAGEN®, EZ1® (Gruppo QIAGEN).

Contratto di licenza limitato

L'uso di questo prodotto implica l'accettazione da parte dell'acquirente o dell'utente del kit EZ1 DSP Virus dei seguenti termini:

1. Il virus kit EZ1 DSP deve essere usato unicamente secondo le istruzioni contenute nel *Manuale del kit EZ1 DSP Virus* e in combinazione con i componenti contenuti nel kit. QIAGEN non concede alcuna licenza, in relazione a qualunque proprietà intellettuale, per l'uso o l'aggiunta dei componenti del kit ad altri componenti non contenuti nel kit, ad eccezione di quanto descritto nel *Manuale del kit EZ1 DSP Virus* e nei protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com.
2. Se non espressamente dichiarato nelle licenze, QIAGEN non garantisce in alcun modo che questo kit e/o il relativo impiego non violino i diritti di terze parti.
3. Il presente kit ed i relativi componenti sono concessi in licenza per l'impiego monouso e non possono essere riutilizzati, ripristinati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del kit concordano nel non consentire a nessuno di intervenire o consentire ad altri di realizzare o contribuire a realizzare azioni proibite. QIAGEN può imporre presso qualunque tribunale i divieti del presente Contratto di licenza limitato, e recupererà tutte le spese di investigazione e legali, comprese le parcelle degli avvocati, in qualunque azione per imporre il presente Contratto di licenza limitato o qualunque diritto di proprietà intellettuale correlato al kit e/o ai suoi componenti.

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

© 2015 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

www.qiagen.com

Australia ■ Orders 03-9840-9800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technical 1-800-243-066

Austria ■ Orders 0800/28-10-10 ■ Fax 0800/28-10-19 ■ Technical 0800/28-10-11

Belgium ■ Orders 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technical 0800-79556

Brazil ■ Orders 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

Canada ■ Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

China ■ Orders 021-3865-3865 ■ Fax 021-3865-3965 ■ Technical 800-988-0325

Denmark ■ Orders 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technical 80-885942

Finland ■ Orders 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technical 0800-914413

France ■ Orders 0-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930 ■ Offers 01-60-920-928

Germany ■ Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

Hong Kong ■ Orders 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technical 800 930 425

Ireland ■ Orders 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technical 1800 555 061

Italy ■ Orders 02-33430-420 ■ Fax 02-33430-426 ■ Technical 800-787980

Japan ■ Telephone 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

Korea (South) ■ Orders 1544 7145 ■ Fax 1544 7146 ■ Technical 1544 7145

Luxembourg ■ Orders 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technical 8002-2067

Mexico ■ Orders 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technical 01-800-7742-639

The Netherlands ■ Orders 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technical 0800-0229602

Norway ■ Orders 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technical 800-18712

Singapore ■ Orders 65-67775366 ■ Fax 65-67785177 ■ Technical 65-67775366

Spain ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

Sweden ■ Orders 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technical 020-798328

Switzerland ■ Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

UK ■ Orders 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technical 01293-422-999

USA ■ Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

