

Giugno 2022

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



48

Versione 4



Per uso diagnostico in vitro

Per l'utilizzo con BioRobot[®] EZ1 DSP, EZ1 Advanced e strumenti
EZ1 Advanced XL

Per l'utilizzo con lo strumento EZ2[®] Connect MDx (con versione
software 1.1 o successiva)



62124



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania



1127535IT

Indice

Uso previsto	4
Utente previsto	4
Descrizione e principio	5
Sommario e spiegazioni	5
Materiali in dotazione	7
Contenuto del kit	7
Componenti del kit	8
Materiale necessario ma non in dotazione	9
Avvertenze e precauzioni	11
Informazioni sulla sicurezza.....	11
Precauzioni	13
Informazioni di emergenza.....	13
Smaltimento.....	14
Conservazione e manipolazione dei reagenti	15
Stabilità durante l'uso	16
Conservazione e manipolazione dei campioni.....	17
Volumi di eluizione e conservazione del DNA	19
Procedura	20
Utilizzo degli strumenti EZ2 Connect MD	20
Utilizzo degli strumenti EZ1	27
Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con EZ2 Connect MDx.....	34
Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con EZ1 Advanced XL.....	42

Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con EZ1 Advanced (con scheda V2.0)	47
Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con EZ1 Advanced (con scheda V1.0)	53
Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con il BioRobot EZ1 DSP	58
Controllo di qualità	62
Limitazioni	62
Caratteristiche delle prestazioni.....	63
Guida alla risoluzione dei problemi.....	64
Simboli.....	67
Informazioni di contatto.....	70
Appendice A: Visualizzazione dei messaggi sugli strumenti EZ1/EZ2	71
Appendice B: Quantificazione e determinazione della purezza del DNA.....	98
Appendice C: Scheda campionamento da utilizzare con il sistema EZ1 DSP	
DNA Blood	100
Informazioni per gli ordini	102
Cronologia delle revisioni del documento	104

Uso previsto

Il EZ1 DSP DNA Blood Kit utilizza la tecnologia a particelle magnetiche per procedure automatizzate di isolamento e purificazione del DNA di campioni biologici.

Il sistema EZ1 DSP DNA Blood è destinato alla diagnostica in vitro.

Utente previsto

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

Descrizione e principio

Il sistema a particelle magnetiche abbina la velocità e l'efficacia della purificazione del DNA a base di silice, al pratico trattamento delle particelle magnetiche (vedere diagramma, pag. 6). Il DNA viene isolato dai lisati in un'unica fase grazie al proprio legame con la superficie di silice delle particelle, in presenza di sale caotropico. Le particelle vengono separate dai lisati con un magnete. Il DNA viene poi lavato con cura ed eluito in un apposito tampone.

Sommario e spiegazioni

Il kit EZ1 DSP DNA Blood serve a purificare il DNA genomico da campioni di sangue intero. La tecnologia basata sulle particelle magnetiche fornisce un DNA di alta qualità, adatto per essere utilizzato direttamente nelle applicazioni a valle, quali amplificazione. Gli strumenti EZ1 (EZ1 Advanced, BioRobot EZ1 DSP e EZ1 Advanced XL) e EZ2 Connect MDx eseguono tutte le fasi della procedura di preparazione dei campioni fino a 6 campioni (utilizzando EZ1 Advanced o BioRobot EZ1 DSP, entrambi fuori produzione), per un massimo di 14 campioni (utilizzando EZ1 Advanced XL) o per un massimo di 24 campioni (utilizzando EZ2 Connect MDx) in una singola sessione.

Utilizzando il BioRobot EZ1 DSP o l'EZ1 Advanced con la scheda protocollo V1.0, il volume di ingresso del campione è di 350 µl e l'eluizione del DNA avviene in 200 µl di tampone di eluizione. Utilizzando l'EZ1 Advanced XL o l'EZ1 Advanced con la scheda protocollo V2.0, o utilizzando l'EZ2 Connect MDx, il volume di ingresso del campione può essere selezionato tra 200 o 350 µl mentre il volume di eluizione del DNA può essere impostato tra 50, 100 o 200 µl.

Procedura EZ1 DSP DNA Blood

Sangue intero



Lisi



Particelle magnetiche
aggiunte ai campioni



Il DNA si lega alle
particelle magnetiche



Separazione magnetica



Lavaggio



Separazione magnetica




Eluizione



DNA puro, di alta qualità

Materiali in dotazione

Contenuto del kit

EZ1 DSP DNA Blood Kit			(48)
Numero di catalogo			62124
Numero di preparazioni			48
RCB	Reagent Cartridge, Blood 350 µl (Cartuccia reagente, sangue da 350 µl)*	REAG CART BLOOD	48
DTH	Disposable Tip Holders (Porta-puntali monouso)	DISP TIP HOLD	50
DFT	Disposable Filter-Tips (Puntali con filtro monouso)	DISP FILT TIP	50
ST	Sample Tubes (2 ml), skirted (Provette per campioni (2 ml)), con base	SAMP TUBE	50
ET	Elution Tubes (Provette di eluizione) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
	Q-Card†		1
	Istruzioni per l'uso		1

* Contiene sale di guanidina. Non compatibile con disinfettanti contenenti candeggina. Per le informazioni sulla sicurezza, consultare "Avvertenze e precauzioni", pag. 11.

† Le informazioni presenti nel codice a barre della Q-Card sono necessarie per la tracciabilità dei dati dei reagenti con gli strumenti EZ1 Advanced, EZ1 Advanced XL e EZ2 Connect MDx.

Componenti del kit

Di seguito vengono illustrati i principali componenti del kit con principi attivi.

Tabella 1. Reagenti in dotazione contenenti principi attivi

Reagente	Componenti	Concentrazione (p/p) [%]
Cartuccia reagenti sangue (RCB)	Etanolo	da ≥ 50 a < 70
	Guanidina tiocianato	da ≥ 50 a < 70
	Guanidina cloridrato	da ≥ 30 a < 50
	Cloruro di litio	da ≥ 1 a < 10
	t-Ottilfenossipolietanolo	da ≥ 1 a $< 2,5$

Materiale necessario ma non in dotazione

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

Tutti i protocolli

- Pipette* e puntali per pipette sterili
- Tessuto di carta soffice
- Acqua
- Etanolo al 70% (per le procedure di pulizia)
- Opzionale: incubatrice* (se le cartucce reagenti [RCB] contengono precipitati sul fondo dei pozzetti)
- Opzionale: microcentrifuga* (se si devono rimuovere le particelle magnetiche dagli eluiti)
- Opzionale: etanolo[†] all'80% e provette da 2 ml con tappo a vite (se si eseguono le fasi di lavaggio opzionali con etanolo all'80% su EZ1 Advanced utilizzando la scheda protocollo V2.0, su EZ1 Advanced XL o su EZ2 Connect MDx, vedere "Operazioni da eseguire prima di iniziare", pag. 43)

i Provette da 2 ml con tappo a vite: Utilizzare provette Sarstedt® n. cat. 72.693 (senza base, con tappo) per la preparazione della fase di lavaggio opzionale con etanolo all'80%.

Per gli utenti di BioRobot EZ1

- Strumento BioRobot EZ1 DSP* (fuori produzione)
- EZ1 DSP DNA Blood Card (n. cat. 9017713)

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

[†] Non utilizzare alcol denaturato, in quanto contiene altre sostanze come il metanolo o il metiletilchetone.

Per gli utenti di EZ1 Advanced

- Strumento EZ1 Advanced* (fuori produzione)
- EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (n. cat. 9018305)

Per gli utenti di EZ1 Advanced XL

- EZ1 Advanced XL* (n. cat. 9001492)
- EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card (n. cat. 9018702)

Per gli utenti di EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL

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

Per gli utenti del EZ2 Connect MDx

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

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

Avvertenze e precauzioni

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

Per uso diagnostico in vitro.

Leggere attentamente tutte le istruzioni prima di utilizzare il kit.

Tenere presente i seguenti rischi rimanenti:

- Quando si utilizzano provette secondarie (ST), assicurarsi che gli ID dei campioni non vengano confusi durante il trasferimento dell'ID del campione dalla provetta primaria a quella secondaria.
- Gli ID dei campioni possono anche essere inseriti manualmente (per i dettagli, consultare i manuali utente degli strumenti EZ1 o EZ2). Se vengono inseriti manualmente dati identificativi errati, è possibile che si verifichi una errata corrispondenza tra il campione e il paziente.

Informazioni sulla sicurezza

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

AVVERTENZA Rischio di lesioni personali



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

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

Precauzioni

Le seguenti frasi di rischio e di Frasi precauzionali vengono applicate ai componenti del EZ1 DSP DNA Blood Kit:

Cartuccia reagenti sangue (Reagent Cartridge Blood, RCB)



Contiene: etanolo, guanidina cloridrato, guanidina tiocianato, cloruro di litio e t-ottilfenossipolietanolo. Pericolo! Liquido e vapore altamente infiammabile. Nocivo in caso di ingestione, in caso di contatto con la pelle o se inalato. Provoca gravi ustioni alla pelle e lesioni oculari. Può essere irritante per le vie respiratorie. Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. A contatto con acidi libera gas molto tossico. Conservare lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici molto calde. Non fumare. Indossare guanti/abbigliamento protettivo/protezione per gli occhi/la faccia. **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. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di riutilizzarli. Lavare gli indumenti contaminati prima di riutilizzarli. Conservare in luogo ben ventilato. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto ufficialmente approvato per lo smaltimento dei rifiuti.

Informazioni di emergenza

CHEMTREC

USA e Canada 1-800-424-9300

Al di fuori di USA e Canada +1 703-527-3887

Smaltimento

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

Il prodotto contiene t-ottilfenossi-poliossietanolo, una sostanza che altera il sistema endocrino e può avere effetti negativi sull'ambiente.

Smaltire il prodotto come rifiuto pericoloso in conformità alle normative locali e nazionali. Lo stesso vale per i prodotti non utilizzati.

Non smaltire i rifiuti liquidi nelle fognature.

Seguire le raccomandazioni contenute nelle schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS).

Consultare le normative di sicurezza locali per le corrette procedure di smaltimento. Vedere anche "Avvertenze e precauzioni", a partire da pag. 11.

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

Conservazione e manipolazione dei reagenti

Conservare le cartucce reagenti (RCB) raffreddate in posizione verticale a 2–8°C. Le particelle magnetiche nelle cartucce reagenti (RCB) rimangono attive se conservate a questa temperatura. Non congelare le cartucce reagenti (RCB). Se conservate a 2–8°C, le cartucce reagenti (RCB) sono stabili fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta e sulla scatola del kit. Dopo lo scongelamento, le cartucce reagenti (RCB) possono essere conservate una volta a 15–25°C, ma devono essere usate entro 4 settimane oppure fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta, sulla Q-Card o sulla scatola del kit, quale di queste si verifichi per prima.

- ❗ Il tampone nel pozzetto 1 della cartuccia reagenti (RCB) (il pozzetto più vicino alla parte anteriore dello strumento EZ1/E2 quando la RCB è caricata) può formare un precipitato durante la conservazione. Prima dell'uso, portare la cartuccia reagenti (RCB) a temperatura ambiente. Controllare accuratamente che il pozzetto 1 non contenga precipitati prima del caricamento, capovolgendolo 4 volte. Se necessario, sciogliere di nuovo il campione portando la temperatura fino a 40°C e capovolgendolo 4 volte senza creare schiuma.

Assicurarsi che non siano visibili precipitati prima del caricamento.

- ❗ Non utilizzare EZ1 DSP DNA Blood Kit oltre i termini di scadenza. Evitare l'esposizione dell'RCB alla luce UV (ad esempio, utilizzata per la decontaminazione), poiché potrebbe provocare un deterioramento accelerato dei tamponi.
- ❗ Non utilizzare cartucce reagenti (RCB) se danneggiate o pre-aperte.
- ❗ Non rimuovere la pellicola dalle cartucce reagenti. Verrà perforata automaticamente dallo strumento.

Stabilità durante l'uso

Le cartucce reagenti (RCB) sono monouso e non garantiscono la stabilità in uso.

Per la fase di lavaggio opzionale con etanolo all'80%, preparare sempre il tampone al momento. Non conservare il tampone residuo per evitare l'evaporazione e l'errata concentrazione del tampone. Vedere "Operazioni da eseguire prima di iniziare" per ulteriori istruzioni sulla preparazione.

Conservazione e manipolazione dei campioni

Durante la preparazione della procedura, i campioni devono essere trattati in modo opportuno per evitare che si mescolino tra loro.

La procedura di purificazione viene ottimizzata in funzione dei volumi di campione da 200 e 350 µl.

- ❗ Non utilizzare volumi di campione inferiori o superiori a 200 o 350 µl, altrimenti si potrebbero verificare problemi di prestazioni o danneggiare lo strumento.

È possibile usare dei campioni di sangue intero trattati con EDTA, ACD (citrato) oppure eparina*, che può essere sia fresco che congelato. I campioni congelati andrebbero scongelati a temperatura ambiente (15–25°C) agitandoli leggermente prima di essere usati. La resa e la qualità del DNA purificato potrebbe dipendere dalle condizioni di conservazione del sangue. I campioni di sangue fresco possono produrre risultati migliori. Non ricongelare i campioni di sangue per più di 2 volte, per evitare di ridurre la resa del DNA.

- Per una conservazione a breve termine (fino a 7 giorni) occorre raccogliere il sangue in tubi contenenti EDTA come anticoagulante e conservare i tubi a 2–8°C. Comunque per le applicazioni che richiedono le dimensioni massime di frammento quali il Southern blotting, suggeriamo una conservazione a 2–8°C fino a 3 giorni, in vista dei bassi livelli di degradazione del DNA che si registreranno dopo questo periodo.
- Per una conservazione a lungo termine, occorre raccogliere il sangue in tubi contenenti un anticoagulante standard (preferibilmente EDTA, se si richiede un elevato peso molecolare di DNA) e conservare i tubi a -20°C per un massimo di 4 settimane. Una conservazione più lunga può essere possibile a seconda dell'applicazione a valle, ma deve essere convalidata dall'utente.

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

- Non usare sangue che mostri segni di coagulazione.

La stabilità del campione dipende in larga misura da vari fattori ed è legata alla specifica applicazione a valle. È stata stabilita per EZ1 DSP DNA Blood Kit in combinazione con applicazioni a valle esemplari. È responsabilità dell'utente consultare le istruzioni per l'uso della specifica applicazione a valle utilizzata nel proprio laboratorio e/o convalidare l'intero flusso di lavoro per stabilire le condizioni di conservazione adeguate.

- ① Per raccomandazioni generali relative a prelievo, trasporto e conservazione, fare riferimento alla linea guida approvata dal CLSI MM13-A "Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods". Inoltre, durante la preparazione, la conservazione, il trasporto e la manipolazione generale dei campioni devono essere seguite le istruzioni del produttore del dispositivo/kit di raccolta dei campioni utilizzato. Per ulteriori istruzioni sull'estrazione del DNA da sangue intero venoso, consultare anche la norma ISO 20186-2:2019 (E).
- ① Tenere presente che durante il processo di sviluppo di EZ1 DSP DNA Blood Kit non sono state osservate indicazioni sul fatto che l'eparina abbia un impatto negativo sulle prestazioni. Tuttavia, la norma ISO 20186-2:2019(E) afferma che l'eparina presente nelle provette di raccolta del sangue può compromettere la purezza degli acidi nucleici isolati e un eventuale carryover negli eluiti potrebbe determinare inibizioni in alcune applicazioni a valle. Pertanto, è responsabilità dell'utente convalidare se l'eparina ha un'influenza negativa sul proprio flusso di lavoro.

Volumi di eluizione e conservazione del DNA

La fase finale della procedura di purificazione è l'eluizione del DNA genomico. I parametri di eluizione che possono essere scelti sono 50, 100 o 200 µl.

Si consiglia di conservare il DNA purificato a 2–8°C o -20°C per un massimo di 24 mesi. Per un tempo di conservazione prolungato, si consiglia di conservare a -20°C o -80°C per un massimo di 36 mesi. L'impatto della stabilità del DNA potrebbe essere diverso per la specifica applicazione a valle utilizzata e deve essere auto-validato dall'utente.

La stabilità degli eluiti dipende in larga misura da vari fattori ed è correlata alla specifica applicazione a valle. È stata stabilita per EZ1 DSP DNA Blood Kit in combinazione con applicazioni a valle esemplari. È responsabilità dell'utente consultare le istruzioni per l'uso della specifica applicazione a valle utilizzata nel proprio laboratorio e/o convalidare l'intero flusso di lavoro per stabilire le condizioni di conservazione adeguate.

Procedura

EZ1 DSP DNA Blood Kit può essere utilizzato su diversi tipi di strumenti:

- EZ2 Connect MDx
- EZ1 Advanced XL e EZ1 Advanced (fuori produzione)
- BioRobot EZ1 DSP (fuori produzione)

Utilizzo degli strumenti EZ2 Connect MD

Le principali caratteristiche degli strumenti EZ2 Connect MDx comprendono:

- Purificazione automatizzata di acidi nucleici di alta qualità da 1 a 24 campioni per sessione.
- Protocolli pronti all'uso preinstallati
- Cartucce reagenti sigillate e preriempite per un'impostazione facile, sicura e veloce
- Lettore di codici a barre esterno, utilizzato per la lettura degli ID dei campioni e dei kit (Q-card).
- Interfaccia grafica utente (Graphical User Interface, GUI)
- Una fotocamera interna, utilizzata per il controllo automatico carico e la lettura del codice a barre delle cartucce reagenti
- Lampada UV per supportare la decontaminazione delle superfici del tavolo di lavoro

Ulteriori caratteristiche di EZ2 Connect MDx includono:

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

- ① La decontaminazione UV contribuisce a ridurre la possibile contaminazione da patogeni delle superfici del tavolo di lavoro di EZ2 Connect MDx. L'efficace inattivazione dei patogeni deve essere determinata per ciascun organismo specifico e dipende, ad esempio, dallo spessore dello strato e dal tipo di campione. QIAGEN non può garantire la totale eradicazione di specifici agenti patogeni.

Procedure di funzionamento di EZ2 Connect MDx

Prima di procedere, si consiglia di familiarizzare con le caratteristiche dello strumento descritte nel *Manuale utente di EZ2 Connect MDx* (disponibile nella scheda risorse della pagina dedicata ai prodotti su www.qiagen.com).

- ① La cappa dell'EZ2Connect MDx deve rimanere chiusa e si blocca automaticamente durante il funzionamento dello strumento. Aprire la cappa solo se richiesto nelle istruzioni per l'uso. Il piano di lavoro dello strumento EZ2 Connect MDx si sposta durante il funzionamento dello strumento. Non aprire mai la cappa dell'EZ2 Connect MDx mentre lo strumento è in funzione.

Per impostare una sessione di protocollo, chiudere la cappa e accendere lo strumento. Per le applicazioni MDx, scegliere la modalità IVD al momento dell'accesso. Premere la scheda Setup (Impostaz.) dalla schermata Home (Principale) e scansionare il codice a barre 1D della Q-card fornita con EZ1 DSP DNA Blood Kit (Figura 1) premendo il pulsante Scan (Scansiona). I protocolli specifici vengono visualizzati automaticamente quando la Q-card viene scansionata.

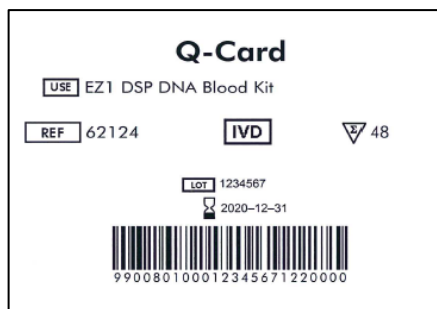


Figura 1. Esempio di Q-Card.

Il software EZ2 Connect MDx guida l'utente attraverso il processo di configurazione dell'esecuzione del protocollo.

Cartucce reagenti (RCB)

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



Figura 2. Cartuccia reagenti (RCB). Cartuccia reagenti sigillata e preimpiegata (RCB) di EZ1 DSP DNA Blood Kit.



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

Piano di lavoro

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

I dettagli sull'impostazione del piano di lavoro sono visualizzati sul touchscreen dell'interfaccia grafica.

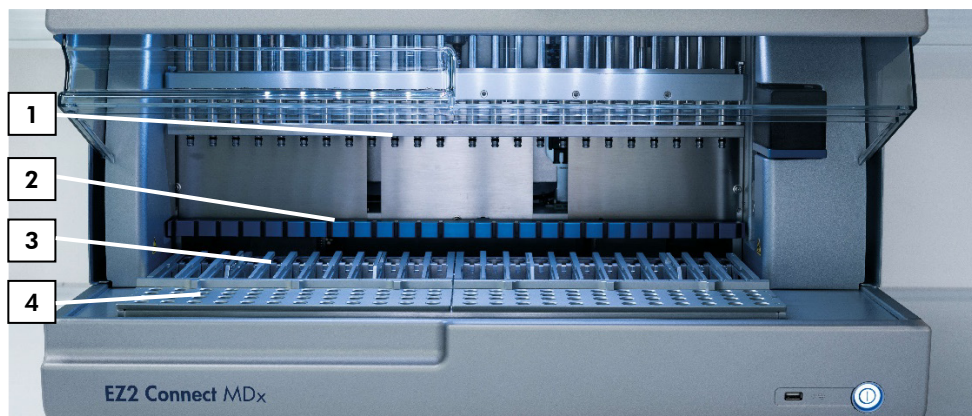


Figura 4. Panoramica strumento EZ2 Connect MDx. (1) testa di pipettaggio, (2) modulo magnetico, (3) rack delle cartucce e (4) per puntali (portaoggetti da laboratorio).



Figura 5. Piano di lavoro strumento EZ2 Connect MDx. (1) Provette di campione (ST) (2 ml) caricate nella fila A. (2) Vuota o opzionale: Provetta (2 ml) contenente etanolo all'80% per la fase di lavaggio opzionale, caricata nella fila B. (3) Porta-puntali monouso (DTH) contenenti puntali con filtro monouso (DFT) caricati nella fila C. (4) Provette di eluizione (ET) (1,5 ml) caricate nella fila D.

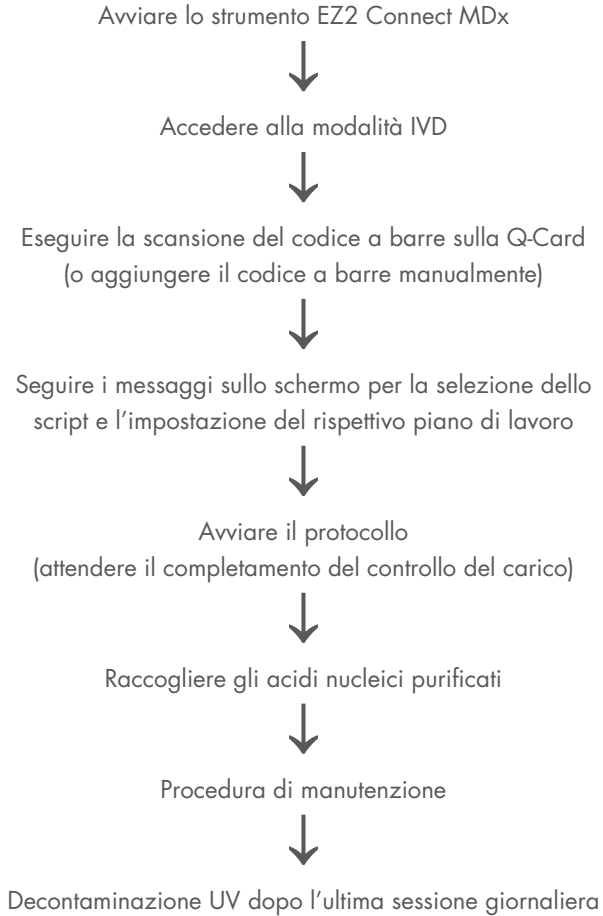
Monitoraggio dati con EZ2 Connect MDx

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

Se è stata stabilita la connettività WiFi/LAN dello strumento EZ2 Connect MDx, le informazioni sulla sessione e sul campione possono essere elaborate direttamente tramite LIMS (se configurato).

Per ulteriori dettagli sulla configurazione dello strumento EZ2 Connect MDx, consultare il *Manuale utente di EZ2 Connect MDx* (disponibile nella scheda risorse della pagina dedicata ai prodotti su www.qiagen.com).

Flusso di lavoro delle operazioni EZ1 DSP DNA Blood su EZ2 Connect MDx




Utilizzo degli strumenti EZ1

Le principali caratteristiche degli strumenti EZ1 includono:

- Purificazione di acidi nucleici di alta qualità da 1 a 6 (BioRobot EZ1 DSP e EZ1 Advanced) o 1 a 14 (EZ1 Advanced XL) campioni per sessione.
- ingombro minimo per limitare lo spazio occupato in laboratorio
- EZ1 DSP Card preprogrammate contenenti protocolli pronti all'uso
- Cartucce reagenti sigillate e preriempite per un'impostazione facile, sicura e veloce
- Automazione completa della purificazione degli acidi nucleici

Ulteriori caratteristiche di EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL includono:

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

 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'efficace inattivazione dei patogeni deve essere determinata per ciascun organismo specifico e dipende, ad esempio, dallo spessore dello strato e dal tipo di campione. QIAGEN non può garantire la totale eradicazione di specifici agenti patogeni.

EZ1 DSP Card, EZ1 Advanced DSP Card e EZ1 Advanced XL DSP Card

Il protocollo EZ1 DSP DNA Blood è memorizzato nelle schede EZ1 Card preprogrammate (schede a circuito integrato). L'utente inserisce semplicemente una EZ1 Advanced XL DSP Card nel sistema EZ1 Advanced XL, o una EZ1 Advanced DSP Card nel sistema EZ1 Advanced, oppure una EZ1 DSP Card nello strumento BioRobot EZ1 DSP, e lo strumento è pronto a eseguire il protocollo (Figura 6 e Figura 7).



Figura 6. Preparazione agevolata del protocollo tramite le schede EZ1 DSP Card. Inserimento di una scheda EZ1 Card, contenente il protocollo sullo strumento EZ1.

- ❗ Lo strumento deve essere acceso solo dopo l'inserimento di una scheda EZ1 Card ed è necessario accertarsi che la scheda EZ1 Card sia completamente inserita! In caso contrario, i dati essenziali dello strumento vanno persi, con conseguente errore di memoria. Le schede EZ1 Card non devono essere sostituite mentre lo strumento è acceso.



Figura 7. Scheda EZ1 Card completamente inserita nell'apposita slot.

Cartucce reagenti (RCB)

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



Figura 8. Cartuccia reagenti (RCB). Una RCB sigillata e preriempita di EZ1 DSP DNA Blood Kit.



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

Piano di lavoro

Il piano di lavoro dello strumento EZ1 è il luogo in cui l'utente carica i campioni e i componenti di EZ1 DSP DNA Blood Kit (Figura 10).

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

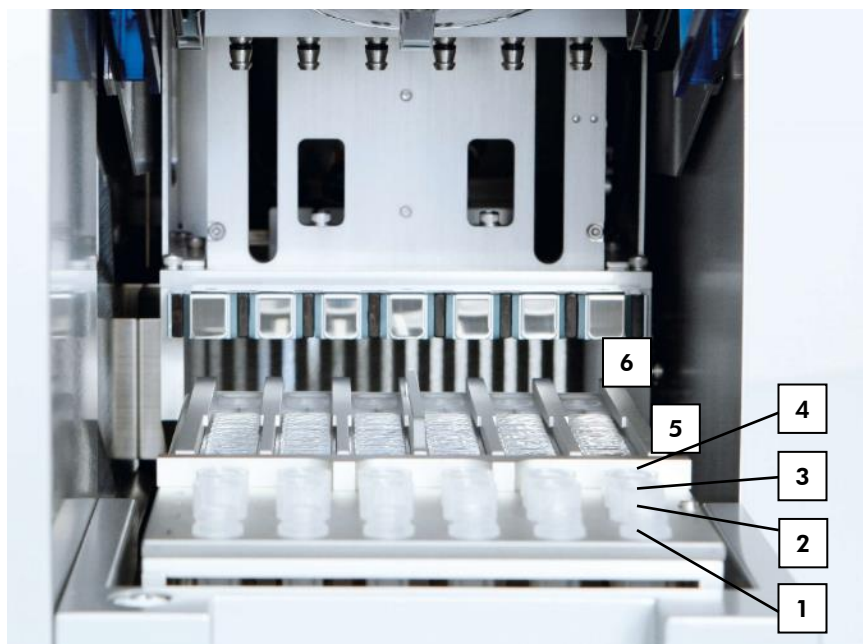


Figura 10. Piano di lavoro di uno strumento EZ1. 1: provette di eluizione (ET) (1,5 ml) caricate nella fila 1. 2: porta-puntali monouso (DTH) contenenti puntali con filtro monouso (DFT) caricati nella seconda fila. 3: la fila 3 è vuota per il protocollo EZ1 DSP DNA Blood. Opzionale: se si eseguono le fasi di lavaggio opzionali con etanolo all'80%, in questa fila vengono caricate le provette da 2 ml (senza base) contenenti 1800 µl ciascuna di etanolo all'80%. 4: provette campione (ST) (2 ml) caricate nella fila 4. 5: Cartucce reagenti (RCB) caricate nel supporto delle cartucce. 6: Il blocco di riscaldamento è vuoto per il protocollo EZ1 DSP DNA Blood.

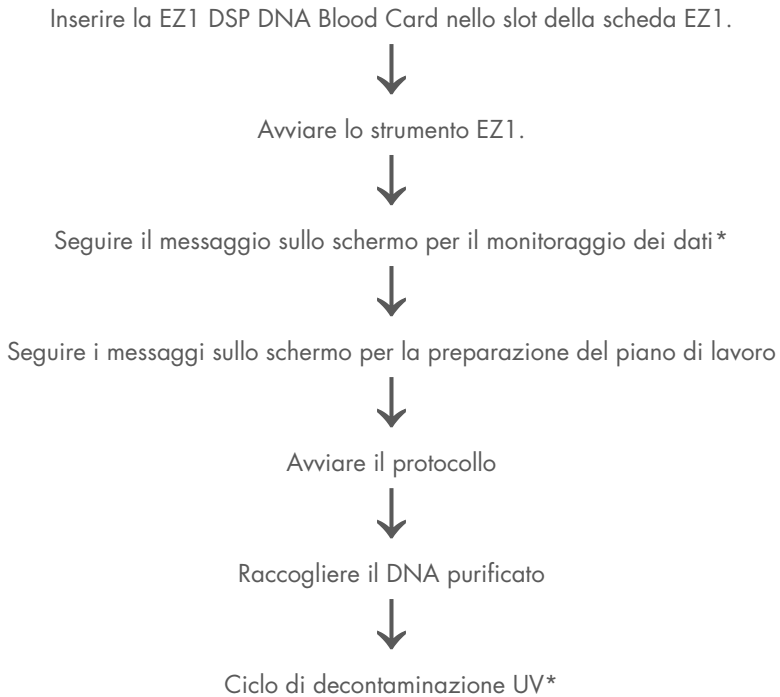
Monitoraggio dei dati con EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL consentono il monitoraggio completo di numerosi dati per aumentare il controllo e l'affidabilità del processo. Il numero di lotto del kit EZ1 e le date di scadenza vengono inseriti all'inizio del protocollo utilizzando 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 tramite la scansione dei codici a barre con il lettore portatile di codici a barre. Le informazioni relative a campioni ed esami, così come le note, possono anche essere inserite all'inizio del protocollo. Alla fine dell'esecuzione di ciascun protocollo viene automaticamente generato un file referto. EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL possono memorizzare fino a 10 file di risultati e i dati possono essere trasferiti a un PC o stampati direttamente su una stampante.

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

Per informazioni dettagliate sul monitoraggio dei dati, consultare il relativo manuale utente, disponibile nella scheda risorse del prodotto all'indirizzo www.qiagen.com.

Flusso di lavoro delle operazioni EZ1 DSP DNA Blood su EZ1



* Esclusivamente EZ1 Advanced e EZ1 Advanced XL.

Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con EZ2 Connect MDx

Punti importanti prima di iniziare

- Se si usa per la prima volta il EZ1 DSP DNA Blood Kit, leggere “Conservazione e manipolazione dei reagenti”, “Conservazione e manipolazione dei campioni”, e “Utilizzo degli strumenti EZ2 Connect MD” a partire da pag. 15.
- Le cartucce reagenti (RCB) contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono sbiancanti. Manipolare rispettando le misure di sicurezza e indossando guanti protettivi. Per le informazioni sulla sicurezza, consultare pag. 11.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15–25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo la ricezione, verificare che i componenti del kit non siano danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCB) oppure i componenti del kit si sono danneggiati, contattare i servizi tecnici QIAGEN oppure il distributore di zona . In caso di fuoriuscita di liquidi, fare riferimento a “Avvertenze e precauzioni” (pag. 11). Non utilizzare cartucce reagenti (RCB) danneggiate o altri componenti del kit, poiché il loro utilizzo potrebbe comportare prestazioni scadenti del kit, lesioni all’utente o danni allo strumento. Non rimuovere la pellicola dalle RCB.
- La resa del DNA genomico dipende dal numero di globuli bianchi presenti nel campione. Si raccomanda di utilizzare campioni di sangue con una conta dei globuli bianchi compresa tra 3×10^6 e 1×10^7 WBC/ml.

Operazioni da eseguire prima di iniziare

- Il tampone di lisi nella cartuccia reagenti (RCB) potrebbe formare un precipitato in fase di conservazione. Prima dell’uso, portare la cartuccia reagenti (RCB) a temperatura ambiente. Verificare la presenza di precipitati nell’RCB capovolgendo la cartuccia per 4 volte.

Se necessario, sciogliere di nuovo il campione portando la temperatura fino a 40°C e capovolgendolo 4 volte senza creare schiuma e poi collocare a temperatura ambiente.

- Il protocollo offre la possibilità di eseguire lavaggi con etanolo all'80% invece di eseguire lavaggi con un tampone contenuto nella cartuccia reagenti. In alcune applicazioni a valle questo può essere vantaggioso. Se si seleziona questa opzione, per ogni campione è necessario posizionare nella fila B del piano di lavoro una provetta da 2 ml (Sarstedt, n. cat. 72.693, senza base) contenente 1800 µl di etanolo all'80% (Figura 5). Per la preparazione di etanolo all'80% sufficiente per 24 campioni, aggiungere 10 ml di acqua priva di nucleasi a 40 ml di etanolo al 96–100%. * Seguire le istruzioni fornite nei messaggi sullo schermo.

Procedura

1. Portare fino a 24 campioni di sangue intero a temperatura ambiente. Trasferire 200 o 350 µl di campione nelle provette campioni (ST) da 2 ml (con base) fornite con il kit.



Usare solo le provette (ST) da 2 ml (con base) fornite con il kit.



Accertarsi che i campioni congelati siano stati scongelati completamente e portati a temperatura ambiente per un periodo sufficiente a raggiungere l'equilibrio. Se i campioni sono stati conservati a 2–8°C, devono essere portati anche a temperatura ambiente. La temperatura di tutti i campioni dovrebbe essere di 15–25°C prima di avviare la procedura per garantire una resa e una purezza ottimali del DNA.



Evitare di trasferire il materiale di campione coagulato nelle provette. In questo modo si rischia di interrompere la procedura e di provocare un potenziale blocco dello strumento.


2. Avviare lo strumento EZ2 Connect MDx.

L'interruttore di alimentazione si trova sulla parte anteriore destra dello strumento.

* Non utilizzare alcol denaturato, in quanto contiene altre sostanze come il metanolo o il metiletilchetone.


3. Accedere allo strumento scegliendo IVD mode (Modalità IVD) del software. Immettere l'ID utente e la password.


Il software EZ2 Connect MDx guida l'utente attraverso il processo di configurazione dell'esecuzione del protocollo. Il processo viene avviato toccando il pulsante SCAN (Scansione) o LIMS nella scheda Setup (Impostaz.).


 Per impostare una sessione utilizzando la funzione/il pulsante LIMS, consultare il *Manuale utente di EZ2 Connect MDx*.

4. Premere Scan (Scansione) e toccare il campo visualizzato nella schermata successiva. Eseguire la scansione del codice a barre 1D sulla Q-Card fornita con il kit.

La scansione del codice a barre 1D sulla Q-Card consente di selezionare automaticamente il tipo di protocollo.

 Se la scansione della Q-Card non riesce, è possibile digitare il numero del kit anche tramite l'interfaccia utente.









 La scansione della Q-Card è possibile solo se tutte le procedure di manutenzione richieste sono state completate. In caso contrario, è necessario avviare la procedura di manutenzione prima di scansionare la Q-card.








 Non utilizzare RCB scadute per non compromettere le prestazioni; i campioni saranno contrassegnati come non validi.





5. Toccare Next (Avanti) per continuare.

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

6. Scegliere i diversi parametri di protocollo toccando la casella accanto a ciascuna opzione del parametro.
7. Toccare Next (Avanti) per continuare.
8. Per selezionare le posizioni dei campioni, toccare le righe corrispondenti sul diagramma del piano di lavoro o toccare i numeri delle righe corrispondenti sotto il diagramma. Le posizioni selezionate vengono evidenziate. Per selezionare o deselezionare tutte le posizioni, toccare la funzione Select all (Seleziona tutto).

-  Dopo aver selezionato almeno una posizione del campione, viene attivato il pulsante Next (Avanti).
- 9. Toccare Next (Avanti) per continuare.
- 10. Inserire l'ID campione, manualmente o utilizzando lo scanner portatile di codici a barre.
 -  Quando si utilizza lo scanner di codici a barre, assicurarsi che il codice a barre utilizzato sia di tipo e qualità adeguati per essere letto dallo scanner.
 -  Gli ID campione possono essere modificati manualmente toccando l'ID e usando la tastiera sullo schermo.
 -  Gli ID campione devono essere unici. Il pulsante Avanti (Avanti) non è attivo finché non sono stati inseriti ID campioni univoci per tutti i campioni.
 -  Verificare la correttezza dell'ID campione prima di procedere con la configurazione.
- 11. Toccare Next (Avanti) per continuare.
- 12. Aprire lo sportello dello strumento e rimuovere i rack delle cartucce e i rack per puntali (detti anche portaoggetti) dallo strumento. Posizionarli in modo sicuro sul banco. Per rimuovere un rack per puntali, afferrare entrambi i lati del rack e tirare delicatamente verso l'alto.
 -  A seconda delle posizioni selezionate per i campioni, rimuovere i rack dal lato sinistro e/o destro del piano di lavoro.
 -  Non scambiare i rack delle cartucce e i rack per puntali tra strumenti diversi.
- 13. Capovolgere le cartucce reagenti (RCB) 4 volte per miscelare le particelle magnetiche. Vedere "Operazioni da eseguire prima di iniziare" prima di utilizzare le RCB.
- 14. Posizionare l'RCB nel rack delle cartucce, premere la cartuccia finché non scatta in posizione.
- 15. Una volta preparate tutte le RCB, posizionare entrambi i rack di cartucce sul piano di lavoro.
 -  Assicurarsi che i rack siano collocati nella posizione corretta e che i numeri di posizione siano incisi sul rack. La numerazione va da 1 a 24, da sinistra a destra.

16. Toccare Next (Avanti) per continuare.
17. Opzionale: Se è stato scelto il "Pure ethanol wash" (Lavaggio con etanolo puro), caricare le provette da 2 ml (senza base, Sarstedt n. cat. 72.693), contenenti 1800 µl di etanolo all'80%, nella fila B del rack per puntali ("portaoggetti").
18. Inserire i puntali nel porta-puntali e caricarli nella fila C del rack.
 -  Durante la preparazione dei puntali e del porta-puntali, toccare solo la parte superiore dei puntali con i guanti.
19. Caricare le provette di eluizione (ET) da 1,5 ml nella fila D del rack.
 -  Assicurarsi che le provette di eluizione siano caricate senza tappo.
20. Caricare le provette per campioni (ST) da 2 ml (con base) contenenti 200 o 350 µl di campione (a seconda del parametro del protocollo selezionato) nella fila A del rack.
 -  Assicurarsi che le provette campione siano caricate nelle posizioni corrette, come selezionato nel passaggio 10. Opzionale: utilizzare il modello riportato nell'"Appendice C: Scheda campionamento da utilizzare con il sistema EZ1 DSP DNA Blood" per monitorare l'ID e l'orientamento del campione.
 -  Assicurarsi che le provette campione siano caricate senza tappo.
 -  Assicurarsi che le provette contengano il volume corretto di materiale da analizzare. Il controllo del carico non rileva se è stato caricato il volume di campione corretto.
 -  Evitare la formazione di schiuma o bolle sulla parte superiore del campione o sull'orlo delle provette, poiché ciò potrebbe causare errori nel controllo del carico.
 -  Avviare immediatamente il protocollo dopo aver posizionato i campioni sul piano di lavoro, poiché un tempo di conservazione prolungato a bordo dello strumento può provocare l'evaporazione o compromettere la stabilità a bordo.
21. Dopo aver caricato tutte le provette e i puntali, posizionare ciascun rack per puntali (rack destro e sinistro) sul piano di lavoro e chiudere la cappa.

-  Assicurarsi che i rack siano collocati nella posizione corretta; i numeri di posizione sono incisi sul rack. La numerazione va da 1 a 24, da sinistra a destra. Posizionare sempre entrambi i rack per puntali sul piano di lavoro, a prescindere dalla posizione dei campioni utilizzati.
22. Toccare Next (Avanti) per continuare.
23. Controllare le informazioni sullo schermo della panoramica di configurazione del processo per verificare la correttezza del protocollo, del volume del campione e di eluizione e del numero di campioni.
24. Se tutte le informazioni sono corrette, toccare Start (Avvia) per procedere all'esecuzione del protocollo.
-  Per modificare, toccare Return (Ritorna) per tornare alla configurazione del processo.
25. A questo punto viene eseguito il controllo del carico. Il protocollo si avvia automaticamente dopo il completamento della verifica del carico.
-  Prima di lasciare lo strumento incustodito, attendere il completamento del Load Check (Controllo del carico). Se il controllo del carico non va a buon fine (ad esempio, a causa di errori durante la configurazione del piano di lavoro), il processo non si avvia ed è necessario l'intervento dell'operatore. Se lo strumento rimane incustodito per un periodo di tempo prolungato, la stabilità dei campioni e dei reagenti può essere compromessa.
- Procedere al passaggio 28 dopo l'esito positivo della verifica del carico.
26. Se il controllo del carico non riesce, viene visualizzata la schermata Load check failed (Controllo del carico non riuscito). I posizionamenti errati dei materiali sono contrassegnati in rosso. Toccare le rispettive colonne per visualizzare i dettagli dell'errore di controllo del carico.
-  Controllare visivamente il caricamento delle posizioni evidenziate sul piano di lavoro. Non ripetere più volte un controllo di carico non riuscito senza aver prima completato il controllo visivo.

i Per informazioni dettagliate sulle limitazioni del controllo del carico e sui guasti, fare riferimento al *Manuale utente EZ2 Connect MDx*.

27. Dopo aver confermato il corretto caricamento del piano di lavoro, toccare Next (Avanti) nella schermata Load the tip rack (Carica rack per puntali). Viene visualizzata la schermata Run setup selection overview (Panoramica selezione della configurazione di processo) in cui è disponibile il pulsante Skip load check (Salta controllo carico). Toccare Skip load check (Salta controllo carico) o Start (Avvia) per procedere con l'esecuzione del protocollo.

i Quando si sceglie l'opzione Skip load check (Salta controllo carico) è responsabilità dell'operatore controllare visivamente per confermare il corretto posizionamento di TUTTI i materiali di consumo in TUTTE le posizioni del piano di lavoro.

Importante: il controllo del carico saltato viene registrato nel referto della sessione e tutti i campioni vengono contrassegnati come non validi.





i Importante: se il controllo del carico non riesce una seconda volta, rimuovere i campioni e l'etanolo (se applicabile) dal piano di lavoro, chiudere le provette e conservarle in condizioni adeguate. Ricalibrare la fotocamera e contattare l'assistenza tecnica QIAGEN per ulteriore supporto.

28. Dopo aver completato il controllo del carico, l'avanzamento del processo e il tempo di esecuzione trascorso vengono visualizzati nella schermata Protocol run in progress (Processo protocollo in esecuzione).

29. Quando il protocollo è terminato con successo, appare la schermata Protocol run completed (Processo protocollo completato).

30. Aprire la cappa, rimuovere con cautela i porta-puntali e posizzionarli sul banco. Per prima cosa, rimuovere le provette di eluizione dalla fila D. Evitare di toccare altre provette durante la rimozione delle singole provette di eluizione (ET). Chiudere le provette di eluizione con i tappi forniti con il kit.

i Al termine della sessione, rimuovere immediatamente gli eluiti e conservarli.

31. Smaltire i materiali di scarto della preparazione dei campioni dalla fila A. * Gettare i porta-puntali e i puntali, nonché le provette di etanolo (se utilizzate).
-  Seguire le norme di sicurezza locali per lo smaltimento dei rifiuti.
32. Rimuovere i rack delle cartucce e smaltire le RCB.
-  Seguire le norme di sicurezza locali per lo smaltimento dei rifiuti (vedere anche "Avvertenze e precauzioni", pag. 11).
33. Seguire le istruzioni per la Manutenzione dopo il processo e toccare successivamente la casella di controllo.
-  Il perforatore è affilato! Si raccomanda l'uso di due guanti.
-  Per ulteriori procedure di manutenzione, attenersi alle indicazioni del *Manuale utente dell'EZ2 Connect MDx*.
34. Toccare Finish (Fine) per creare un report di processo e tornare alla schermata Home (Principale). L'ora di conclusione della sessione e lo stato di manutenzione non vengono trasferiti nel report di processo finché non si preme il pulsante Finish (Fine).
35. Dopo l'ultimo ciclo di ogni giorno, eseguire la procedura di manutenzione giornaliera seguita dalla decontaminazione UV.
36. Eseguire la procedura di manutenzione settimanale, se necessario, dopo la manutenzione giornaliera.

* I residui dei campioni contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con gli sbiancanti. Vedere pag. 11 per le Informazioni sulla sicurezza.

Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con EZ1 Advanced XL

Punti importanti prima di iniziare

Se si usa per la prima volta il EZ1 DSP DNA Blood Kit, leggere “Conservazione e manipolazione dei reagenti”, “Conservazione e manipolazione dei campioni”, e “Utilizzo degli strumenti EZ1” a partire da pag. 15.

- Le cartucce reagenti (RCB) contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono sbiancanti. Manipolare rispettando le misure di sicurezza e indossando guanti protettivi. Vedere pag. 11 per Avvertenze e precauzioni.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15–25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo la ricezione, verificare che i componenti del kit non siano danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCB) oppure i componenti del kit si sono danneggiati, contattare i servizi tecnici QIAGEN oppure il distributore di zona. In caso di fuoriuscita di liquidi, fare riferimento a “Avvertenze e precauzioni” (pag. 11). Non utilizzare cartucce reagenti (RCB) danneggiate o altri componenti del kit, poiché il loro utilizzo potrebbe comportare prestazioni scadenti del kit, lesioni all’utente o danni allo strumento. Non rimuovere la pellicola dalle RCB.
- La resa del DNA genomico dipende dal numero di globuli bianchi presenti nel campione. Si raccomanda di utilizzare campioni di sangue con una conta dei globuli bianchi compresa tra 3×10^6 e 1×10^7 WBC/ml.

Operazioni da eseguire prima di iniziare

- Il tampone di lisi nella cartuccia reagenti (RCB) potrebbe formare un precipitato in fase di conservazione. Prima dell'uso, portare la cartuccia reagenti (RCB) a temperatura ambiente. Verificare la presenza di precipitati nell'RCB capovolgendo la cartuccia per 4 volte. Se necessario, sciogliere nuovamente il prodotto portando la temperatura a 40°C, capovolgendolo per 4 volte senza creare schiuma e riponendolo a temperatura ambiente.
- Il protocollo offre la possibilità di eseguire lavaggi con etanolo all'80% invece di eseguire lavaggi con un tampone contenuto nella cartuccia reagenti. In alcune applicazioni a valle questo può essere vantaggioso. Se si seleziona questa opzione, per ogni campione è necessario posizionare nella fila 3 del piano di lavoro una provetta da 2 ml (Sarstedt n. cat. 72.693, senza base) contenente 1800 µl di etanolo all'80% (vedere Figura 10, pag. 31). Per la preparazione di etanolo all'80% sufficiente per 14 campioni, aggiungere 6 ml di acqua priva di nucleasi a 24 ml di etanolo al 96–100%. * Seguire le istruzioni fornite nei messaggi sullo schermo.

Procedura

1. Portare fino a 14 campioni di sangue intero a temperatura ambiente. Trasferire 200 o 350 µl di campione in provette da 2 ml (ST) (con base) fornite con il kit.
 - ① Accertarsi che i campioni congelati siano stati scongelati completamente e portati a temperatura ambiente per un periodo sufficiente a raggiungere l'equilibrio. Se i campioni sono stati conservati a 2–8°C, devono essere portati anche a temperatura ambiente. La temperatura di tutti i campioni dovrebbe essere di 15–25°C prima di avviare la procedura per garantire una resa e una purezza ottimali del DNA.
 - ① Evitare di trasferire il materiale di campione coagulato nelle provette. In questo modo si rischia di interrompere la procedura e di provocare un potenziale blocco dello strumento.

* Non utilizzare alcol denaturato, in quanto contiene altre sostanze come il metanolo o il metiletilchetone.

2. Inserire completamente la EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card nello slot della scheda EZ1 di EZ1 Advanced XL.
3. Avviare lo strumento EZ1.
L'interruttore di alimentazione si trova sul retro dello strumento.
4. Premere START (AVVIA) per avviare il protocollo e la preparazione del piano di lavoro del protocollo EZ1 DSP DNA Blood.
5. Seguire le istruzioni sullo schermo per la preparazione del piano di lavoro, la selezione delle variabili del protocollo e per il monitoraggio dei dati.
 - ① Avviare immediatamente il protocollo dopo aver posizionato i campioni sul piano di lavoro, poiché un tempo prolungato di conservazione a bordo dello strumento può provocarne l'evaporazione.
6. Premere 1 per avviare la preparazione del piano di lavoro per il protocollo DSP da 200 µl o 2 per avviare il protocollo DSP da 350 µl.
7. Scegliere il volume di eluizione: premere 1 per eluire a 50 µl, 2 per eluire a 100 µl, o 3 per eluire a 200 µl.
8. Selezionare yes (sì) se si desidera eseguire i lavaggi opzionali con etanolo all'80%.
Il testo riassume le fasi seguenti, che descrivono il caricamento del piano di lavoro.
9. Aprire lo sportello dello strumento.
10. Capovolgere le cartucce reagenti (RCB) 4 volte per miscelare le particelle magnetiche.
11. Caricare le cartucce reagenti nell'apposito rack.
 - ① Dopo aver inserito una cartuccia reagenti (RCB) nel rack delle cartucce, premere sulla cartuccia fino allo scatto in posizione.
 - ① Per il monitoraggio dei dati, iniziare sempre a caricare i campioni nella posizione 1 di EZ1 Advanced XL. Posizionare i campioni rimanenti in successione nelle successive posizioni aperte sul piano di lavoro.

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

12. Seguire le istruzioni sullo schermo per l'ulteriore preparazione del piano di lavoro.

- ① Durante la preparazione dei puntali e del porta-puntali, toccare solo la parte superiore dei puntali con i guanti.
- ① Assicurarci che le provette di eluizione (Elution Tube, ET, provette da 1,5 ml) siano caricate senza tappo.
- ① Assicurarci che le provette campione siano caricate nelle posizioni corrette, come selezionato nel passaggio 5. Opzionale: utilizzare il modello riportato nell'"Appendice C: Scheda campionamento da utilizzare con il sistema EZ1 DSP DNA Blood" per monitorare l'ID e l'orientamento del campione.
- ① Assicurarci che le provette campione siano caricate senza tappo.
- ① Assicurarci che le provette contengano il volume corretto di materiale da analizzare.
- ① Evitare la formazione di schiuma o bolle sulla parte superiore del campione o sul bordo delle provette.
- ① Avviare immediatamente il protocollo dopo aver posizionato i campioni sul piano di lavoro, poiché un tempo prolungato di conservazione a bordo dello strumento può provocarne l'evaporazione.

13. Caricare nello strumento il rack delle cartucce e il rack per puntali preparati.

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

14. Chiudere lo sportello dello strumento.

15. Premere START (AVVIA) per avviare il protocollo.

16. Al termine del protocollo, sul display compare il messaggio "Protocol finished" (Protocollo finito). Premere ENT per generare il file di referto.

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

17. Aprire lo sportello dello strumento, rimuovere con cautela il porta-puntali e posizionarlo sul banco.
18. Rimuovere le provette di eluizione (ET) contenenti il DNA purificato dalla fila 1. Evitare di toccare altre provette mentre si rimuovono le singole provette di eluizione. Chiudere le ET con i tappi forniti con il kit.



Al termine della sessione, rimuovere immediatamente gli eluiti e conservarli.

19. Smaltire i residui per la preparazione dei campioni*. Smaltire i porta-puntali e i puntali, nonché le provette di etanolo (se utilizzate).
20. Rimuovere il rack delle cartucce e gettare l'RCB.
21. Raccomandato: seguire le istruzioni sullo schermo per eseguire la decontaminazione UV delle superfici del piano di lavoro.
22. Eseguire la manutenzione periodicamente come descritto nel manuale d'uso fornito con lo strumento EZ1.

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



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



Per ulteriori procedure di manutenzione, consultare il Manuale utente di EZ1 Advanced XL.

23. Per eseguire un altro protocollo, premere START (AVVIA), eseguire il passaggio 1 del protocollo, quindi seguire il protocollo del passaggio 4. Altrimenti, premere due volte STOP (ARRESTO) per tornare alla prima schermata del display, chiudere lo sportello dello strumento e spegnere lo strumento EZ1.

I passaggi 2 e 3 non servono quando si esegue un altro protocollo. Saltare questi passaggi.

* I residui dei campioni contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con gli sbiancanti. Vedere pag. 11 per Avvertenze e precauzioni.

Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con EZ1 Advanced (con scheda V2.0)

Questo protocollo è destinato all'uso di EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card V2.0, una versione aggiornata della scheda V1.0 originale. Quando si utilizza la scheda V1.0, attenersi a "Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con EZ1 Advanced (con scheda V1.0)".

Il protocollo sulla scheda V2.0 include opzioni di protocollo supplementari che consentono l'uso di diversi volumi di ingresso e di eluizione del campione e di fasi di lavaggio opzionali con etanolo all'80%. Il protocollo della scheda V2.0 è equivalente a quello della scheda V1.0 originale quando si utilizzano i volumi di ingresso e di eluizione e i tamponi di lavaggio originali.

Punti importanti prima di iniziare

Se si usa per la prima volta EZ1 DSP DNA Blood Kit, leggere "Conservazione e manipolazione dei reagenti", "Conservazione e manipolazione dei campioni", e "Utilizzo degli strumenti EZ1" a partire da pag. 15.

- Le cartucce reagenti (RCB) contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono sbiancanti. Manipolare rispettando le misure di sicurezza e indossando guanti protettivi. Per le informazioni sulla sicurezza, consultare pag. 11.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15–25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo la ricezione, verificare che i componenti del kit non siano danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCB) oppure i componenti del kit si sono danneggiati, contattare i servizi tecnici QIAGEN oppure il distributore di zona. In caso di fuoriuscita di liquidi, fare riferimento a "Avvertenze e precauzioni" (pag. 11). Non utilizzare cartucce reagenti (RCB) danneggiate o altri componenti del kit, poiché il loro utilizzo potrebbe comportare prestazioni scadenti del kit, lesioni all'utente o danni allo strumento. Non rimuovere la pellicola dalle RCB.

- La resa del DNA genomico dipende dal numero di globuli bianchi presenti nel campione. Si raccomanda di utilizzare campioni di sangue con una conta dei globuli bianchi compresa tra 3×10^6 e 1×10^7 WBC/ml.

Operazioni da eseguire prima di iniziare

- Il tampone di lisi nella cartuccia reagenti (RCB) potrebbe formare un precipitato in fase di conservazione. Prima dell'uso, portare la cartuccia reagenti (RCB) a temperatura ambiente. Verificare la presenza di precipitati nell'RCB capovolgendo la cartuccia per 4 volte. Se necessario, sciogliere nuovamente il prodotto portando la temperatura a 40°C, capovolgendolo per 4 volte senza creare schiuma e riponendolo a temperatura ambiente.
- Il protocollo offre la possibilità di eseguire lavaggi con etanolo all'80% invece di eseguire lavaggi con un tampone contenuto nella cartuccia reagenti. In alcune applicazioni a valle questo può essere vantaggioso. Se si seleziona questa opzione, per ogni campione è necessario posizionare nella fila 3 del piano di lavoro una provetta da 2 ml (Sarstedt n. cat. 72.693, senza base) contenente 1800 µl di etanolo all'80% (Figura 10). Per la preparazione di etanolo all'80% sufficiente per 6 campioni, aggiungere 3 ml di acqua priva di nucleasi a 12 ml di etanolo al 96–100%. * Seguire le istruzioni fornite nei messaggi sullo schermo.


Procedura

24. Portare fino a sei campioni di sangue intero a temperatura ambiente. Trasferire 200 o 350 µl di campione in provette da 2 ml (ST) (con base) fornite con il kit.



Accertarsi che i campioni congelati siano stati scongelati completamente e portati a temperatura ambiente per un periodo sufficiente a raggiungere l'equilibrio. Se i campioni sono stati conservati a 2–8°C, devono essere portati anche a temperatura ambiente. La temperatura di tutti i campioni dovrebbe essere di 15–25°C prima di avviare la procedura per garantire una resa e una purezza ottimali del DNA.

* Non utilizzare alcol denaturato, in quanto contiene altre sostanze come il metanolo o il metiletilchetone.

 Evitare di trasferire il materiale di campione coagulato nelle provette. In questo modo si rischia di interrompere la procedura e di provocare un potenziale blocco dello strumento.


25. Inserire completamente la EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (V2.0) nello slot della scheda EZ1 del sistema EZ1 Advanced.

26. Avviare lo strumento EZ1.

27. L'interruttore di alimentazione si trova sul retro dello strumento.

28. Premere START (AVVIA) per avviare il protocollo e la preparazione del piano di lavoro del protocollo EZ1 DSP DNA Blood.

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

 Avviare immediatamente il protocollo dopo aver posizionato i campioni sul piano di lavoro, poiché un tempo prolungato di conservazione a bordo dello strumento può provocarne l'evaporazione.

30. Premere 1 per avviare la preparazione del piano di lavoro per il protocollo DSP da 200 µl o 2 per avviare il protocollo DSP da 350 µl.

31. Scegliere il volume di eluizione: premere 1 per eluire a 50 µl, 2 per eluire a 100 µl, o 3 per eluire a 200 µl.


32. Selezionare yes (sì) se si desidera eseguire i lavaggi opzionali con etanolo all'80%.

33. Il testo riassume le fasi seguenti, che descrivono il caricamento del piano di lavoro.

34. Aprire lo sportello dello strumento.

35. Capovolgere le cartucce reagenti (RCB) 4 volte per miscelare le particelle magnetiche. Poi battere le cartucce (RCB) per depositare i reagenti sul fondo dei pozzetti.

36. Caricare le cartucce reagenti nell'apposito rack.

 Dopo aver inserito una cartuccia reagenti (RCB) nel rack delle cartucce, premere sulla cartuccia fino allo scatto in posizione.

- ① Per il monitoraggio dei dati, iniziare sempre a caricare i campioni nella posizione A di EZ1 Advanced. Posizionare i campioni rimanenti in successione nelle successive posizioni aperte sul piano di lavoro.
Quando si sceglie l'opzione di monitoraggio dati, verificare che l'ID campione segua lo stesso ordine dei campioni sul piano di lavoro per evitare di confondere i dati.

37. Seguire le istruzioni sullo schermo per l'ulteriore preparazione del piano di lavoro.

- ① Durante la preparazione dei puntali e del porta-puntali, toccare solo la parte superiore dei puntali con i guanti.
- ① Assicurarsi che le provette di eluizione (Elution Tube, ET, provette da 1,5 ml) siano caricate senza tappo.
- ① Assicurarsi che le provette campione siano caricate nelle posizioni corrette, come selezionato nel passaggio 5. Opzionale: utilizzare il modello riportato nell'Appendice C: Scheda campionamento da utilizzare con il sistema EZ1 DSP DNA Blood" per monitorare l'ID e l'orientamento del campione.
- ① Assicurarsi che le provette campione siano caricate senza tappo.
- ① Assicurarsi che le provette contengano il volume corretto di materiale da analizzare.
- ① Evitare la formazione di schiuma o bolle sulla parte superiore del campione o sul bordo delle provette.
- ① Avviare immediatamente il protocollo dopo aver posizionato i campioni sul piano di lavoro, poiché un tempo prolungato di conservazione a bordo dello strumento può provocarne l'evaporazione.

38. Caricare nello strumento il rack delle cartucce e il rack per puntali preparati.

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


39. Chiudere la sportello dello strumento.
40. Premere START (AVVIA) per avviare il protocollo.
41. Al termine del protocollo, sul display compare il messaggio "Protocol finished" (Protocollo finito). Premere ENT per generare il file di referto.

Il sistema EZ1 Advanced può memorizzare fino a 10 file di referto. I file di referto possono essere stampati direttamente tramite la stampante collegata oppure trasferiti su computer.


42. Aprire lo sportello dello strumento, rimuovere con cautela il porta-puntali e posizionarlo sul banco.
43. Rimuovere le provette di eluizione (ET) contenenti il DNA purificato dalla fila 1. Evitare di toccare altre provette mentre si rimuovono le singole provette di eluizione. Chiudere le ET con i tappi forniti con il kit.

 Al termine della sessione, rimuovere immediatamente gli eluiti e conservarli.

44. Smaltire i residui per la preparazione dei campioni.* Smaltire i porta-puntali e i puntali, nonché le provette di etanolo (se utilizzate).
45. Rimuovere il rack delle cartucce e gettare l'RCB.

 Seguire le norme di sicurezza locali per lo smaltimento dei rifiuti "Avvertenze e precauzioni", pag. 11.

46. Opzionale: seguire le istruzioni sullo schermo per eseguire la procedura di decontaminazione UV delle superfici del piano di lavoro.

 Dopo l'ultima sessione giornaliera e la successiva manutenzione regolare, si raccomanda una procedura di decontaminazione con raggi UV.

47. Eseguire la manutenzione periodicamente come descritto nel manuale d'uso fornito con lo strumento EZ1.

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

* I residui dei campioni contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con gli sbiancanti. Vedere pag. 11 per Avvertenze e precauzioni.



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



Per ulteriori procedure di manutenzione, consultare il *Manuale utente di EZ1 Advanced*.

48. Per eseguire un altro protocollo, premere START (AVVIA), eseguire il passaggio 24 del protocollo, quindi seguire il protocollo del passaggio 28. Altrimenti, premere due volte STOP (ARRESTO) per tornare alla prima schermata del display, chiudere lo sportello dello strumento e spegnere lo strumento EZ1.

I passaggi 25 e 26 non servono quando si esegue un altro protocollo. Saltare questi passaggi.

Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con EZ1 Advanced (con scheda V1.0)

Questo protocollo è destinato all'uso con EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card V1.0 originale. Quando si utilizza la scheda V2.0, attenersi a "Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con EZ1 Advanced (con scheda V2.0)", pag. 47. Questo protocollo è destinato all'uso con un volume di campione di 350 µl.

Il protocollo sulla scheda V2.0 include opzioni di protocollo supplementari che consentono l'uso di diversi volumi di ingresso e di eluizione del campione e di fasi di lavaggio opzionali con etanolo all'80%. Il protocollo della scheda V2.0 è equivalente a quello della scheda V1.0 originale quando si utilizzano i volumi di ingresso e di eluizione e i tamponi di lavaggio originali.

Punti importanti prima di iniziare

Se si usa per la prima volta il EZ1 DSP DNA Blood Kit, leggere "Conservazione e manipolazione dei reagenti", "Conservazione e manipolazione dei campioni", e "Utilizzo degli strumenti EZ1" a partire da pag. 15.

- Le cartucce reagenti (RCB) contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono sbiancanti. Manipolare rispettando le misure di sicurezza e indossando guanti protettivi. Per le informazioni sulla sicurezza, consultare pag. 11.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15–25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo la ricezione, verificare che i componenti del kit non siano danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCB) oppure i componenti del kit si sono danneggiati, contattare i servizi tecnici QIAGEN oppure il distributore di zona. In caso di fuoriuscita di liquidi,

fare riferimento a “Avvertenze e precauzioni” (pag. 11). Non utilizzare cartucce reagenti (RCB) danneggiate o altri componenti del kit, poiché il loro utilizzo potrebbe comportare prestazioni scadenti del kit, lesioni all’utente o danni allo strumento. Non rimuovere la pellicola dalle RCB.

- La resa del DNA genomico dipende dal numero di globuli bianchi presenti nel campione. Si raccomanda di utilizzare campioni di sangue con una conta dei globuli bianchi compresa tra 3×10^6 e 1×10^7 WBC/ml.








Operazioni da eseguire prima di iniziare

- Il tampone di lisi nella cartuccia reagenti (RCB) potrebbe formare un precipitato in fase di conservazione. Prima dell’uso, portare la cartuccia reagenti (RCB) a temperatura ambiente. Verificare la presenza di precipitati nell’RCB capovolgendo la cartuccia per 4 volte. Se necessario, sciogliere di nuovo il campione portando la temperatura fino a 40°C e capovolgendolo 4 volte senza creare schiuma e poi collocare a temperatura ambiente.


Procedura

1. Portare fino a sei campioni di sangue intero a temperatura ambiente. Trasferire 350 µl di campione in provette da 2 ml (ST) fornite con il kit.
 - ① Accertarsi che i campioni congelati siano stati scongelati completamente e portati a temperatura ambiente per un periodo sufficiente a raggiungere l’equilibrio. Se i campioni sono stati conservati a 2–8°C, devono essere portati anche a temperatura ambiente. La temperatura di tutti i campioni dovrebbe essere di 15–25°C prima di avviare la procedura per garantire una resa e una purezza ottimali del DNA.
 - ① Evitare di trasferire il materiale di campione coagulato nelle provette. In questo modo si rischia di interrompere la procedura e di provocare un potenziale blocco dello strumento.

2. Inserire completamente la EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card (V1.0) nello slot della scheda EZ1 Card del sistema EZ1 Advanced.
3. Avviare lo strumento EZ1.
L'interruttore di alimentazione si trova sul retro dello strumento.
4. Premere START (AVVIA) per avviare la preparazione del piano di lavoro del protocollo EZ1 DSP DNA Blood.
5. Aprire lo sportello dello strumento.
6. Capovolgere 1–6 cartucce reagenti (RCB) 4 volte per miscelare le particelle magnetiche. Poi battere le cartucce (RCB) per depositare i reagenti sul fondo dei pozzetti.
7. Seguire le istruzioni sullo schermo per la preparazione del piano di lavoro, la selezione delle variabili del protocollo e per il monitoraggio dei dati.
 - ❗ Dopo aver inserito una cartuccia reagenti (RCB) nel rack delle cartucce, premere sulla cartuccia fino allo scatto in posizione.
 - ❗ Non scambiare i rack delle cartucce e i rack per puntali tra strumenti diversi.
 - ❗ Per il monitoraggio dei dati, iniziare sempre a caricare i campioni nella posizione A di EZ1 Advanced. Posizionare i campioni rimanenti in successione nelle successive posizioni aperte sul piano di lavoro.
Quando si sceglie l'opzione di monitoraggio dati, verificare che l'ID campione segua lo stesso ordine dei campioni sul piano di lavoro per evitare di confondere i dati.
 - ❗ Avviare immediatamente il protocollo dopo aver posizionato i campioni sul piano di lavoro, poiché un tempo prolungato di conservazione a bordo dello strumento può provocarne l'evaporazione.
 - ❗ Durante la preparazione dei puntali e del porta-puntali, toccare solo la parte superiore dei puntali con i guanti.
 - ❗ Assicurarsi che le provette di eluizione (Elution Tube, ET, provette da 1,5 ml) siano caricate senza tappo.


-  Assicurarsi che le provette campione siano caricate nelle posizioni corrette, come selezionato nel passaggio 5. Opzionale: utilizzare il modello riportato nell'Appendice C: Scheda campionamento da utilizzare con il sistema EZ1 DSP DNA Blood" per monitorare l'ID e l'orientamento del campione.
 -  Assicurarsi che le provette campione siano caricate senza tappo.
 -  Assicurarsi che le provette contengano il volume corretto di materiale da analizzare.
 -  Evitare la formazione di schiuma o bolle sulla parte superiore del campione o sul bordo delle provette.
8. Caricare nello strumento il rack delle cartucce e il rack per puntali preparati.
-  Non scambiare i rack delle cartucce e i rack per puntali tra strumenti diversi.
9. Chiudere lo sportello dello strumento.
10. Premere START (AVVIA) per avviare il protocollo.
11. Al termine del protocollo, sul display compare il messaggio "Protocol finished" (Protocollo finito). Premere "ENT" per generare il file di referto.
- Il sistema EZ1 Advanced può memorizzare fino a 10 file di referto. I file di referto possono essere stampati direttamente tramite la stampante collegata oppure trasferiti su computer.
12. Aprire lo sportello dello strumento, rimuovere con cautela il porta-puntali e posizionarlo sul banco.
13. Rimuovere le provette di eluizione (ET) contenenti il DNA purificato dalla fila 1. Evitare di toccare altre provette mentre si rimuovono le singole provette di eluizione. Chiudere le ET con i tappi forniti con il kit.
-  Al termine della sessione, rimuovere immediatamente gli eluiti e conservarli.
14. Rimuovere il rack delle cartucce e gettare l'RCB.
-  Seguire le norme di sicurezza locali per lo smaltimento dei rifiuti (vedere anche "Avvertenze e precauzioni", pag. 11).

15. Opzionale: seguire le istruzioni sullo schermo per eseguire la decontaminazione UV delle superfici del piano di lavoro.

 Dopo l'ultima sessione giornaliera e la successiva manutenzione regolare, si raccomanda una procedura di decontaminazione con raggi UV.

16. Eseguire la manutenzione periodicamente come descritto nel manuale d'uso fornito con lo strumento EZ1.

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

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

17. Per eseguire un altro protocollo, premere START (AVVIA), eseguire il passaggio 1 del protocollo, quindi seguire il protocollo del passaggio 4. Altrimenti, premere due volte STOP (ARRESTO) per tornare alla prima schermata del display, chiudere lo sportello dello strumento e spegnere lo strumento EZ1.

I passaggi 2 e 3 non servono quando si esegue un altro protocollo. Saltare questi passaggi.

Protocollo: Purificazione del DNA genomico di sangue intero con il BioRobot EZ1 DSP

Punti importanti prima di iniziare

Se si usa per la prima volta il EZ1 DSP DNA Blood Kit, leggere “Conservazione e manipolazione dei reagenti”, “Conservazione e manipolazione dei campioni”, e “Utilizzo degli strumenti EZ1” a partire da pag. 15.

- Le cartucce reagenti (RCB) contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con i reagenti disinfettanti che contengono sbiancanti. Manipolare rispettando le misure di sicurezza e indossando guanti protettivi. Per le informazioni sulla sicurezza, consultare pag. 11.
- Eseguire tutte le fasi del protocollo a temperatura ambiente (15–25°C). Operare rapidamente durante la fase di preparazione.
- Dopo la ricezione, verificare che i componenti del kit non siano danneggiati. Se le cartucce reagenti (RCB) oppure i componenti del kit si sono danneggiati, contattare i servizi tecnici QIAGEN oppure il distributore di zona. In caso di fuoriuscita di liquidi, fare riferimento a “Avvertenze e precauzioni” (pag. 11). Non utilizzare cartucce reagenti (RCB) danneggiate o altri componenti del kit, poiché il loro utilizzo potrebbe comportare prestazioni scadenti del kit, lesioni all’utente o danni allo strumento. Non rimuovere la pellicola dalle RCB.
- La resa del DNA genomico dipende dal numero di globuli bianchi presenti nel campione. Si raccomanda di utilizzare campioni di sangue con una conta dei globuli bianchi compresa tra 3×10^6 e 1×10^7 WBC/ml.

Operazioni da eseguire prima di iniziare





- Il tampone di lisi nella cartuccia reagenti (RCB) potrebbe formare un precipitato in fase di conservazione. Prima dell'uso, portare la cartuccia reagenti (RCB) a temperatura ambiente. Verificare la presenza di precipitati nell'RCB capovolgendo la cartuccia per 4 volte. Se necessario, sciogliere di nuovo il campione portando la temperatura fino a 40°C e capovolgendolo 4 volte senza creare schiuma e poi collocare a temperatura ambiente.

Procedura

1. Portare fino a sei campioni di sangue intero a temperatura ambiente. Trasferire 350 µl di campione in provette da 2 ml (ST) fornite con il kit.
 - ① Accertarsi che i campioni congelati siano stati scongelati completamente e portati a temperatura ambiente per un periodo sufficiente a raggiungere l'equilibrio. Se i campioni sono stati conservati a 2–8°C, devono essere portati anche a temperatura ambiente. La temperatura di tutti i campioni dovrebbe essere di 15–25°C prima di avviare la procedura per garantire una resa e una purezza ottimali del DNA.
 - ① Evitare di trasferire il materiale di campione coagulato nelle provette. In questo modo si rischia di interrompere la procedura e di provocare un potenziale blocco dello strumento.
2. Inserire completamente la EZ1 DSP DNA Blood Card nello slot della scheda EZ1 Card del BioRobot EZ1 DSP.
3. Avviare lo strumento EZ1.
L'interruttore di alimentazione si trova sul retro dello strumento.
4. Premere START (AVVIA) per avviare la preparazione del piano di lavoro del protocollo EZ1 DSP DNA Blood.
5. Aprire lo sportello dello strumento.

6. Capovolgere le cartucce reagenti (RCB) 4 volte per miscelare le particelle magnetiche. Poi battere le cartucce (RCB) per depositare i reagenti sul fondo dei pozzetti.
7. Seguire le istruzioni sullo schermo per la preparazione del piano di lavoro e la selezione delle variabili del protocollo.

- ❗ Dopo aver inserito una cartuccia reagenti (RCB) nel rack delle cartucce, premere sulla cartuccia fino allo scatto in posizione.
- ❗ Non scambiare i rack delle cartucce e i rack per puntali tra strumenti diversi.
- ❗ Se vi sono meno di 6 cartucce reagenti (RCB), possono essere caricate sul rack in qualsiasi ordine. Comunque, quando si caricano le altre provette da laboratorio, assicurarsi che queste ultime seguano lo stesso ordine.
- ❗ Avviare immediatamente il protocollo dopo aver posizionato i campioni sul piano di lavoro, poiché un tempo prolungato di conservazione a bordo dello strumento può provocarne l'evaporazione.
- ❗ Durante la preparazione dei puntali e del porta-puntali, toccare solo la parte superiore dei puntali con i guanti.
- ❗ Assicurarsi che le provette di eluizione (Elution Tube, ET, provette da 1,5 ml) siano caricate senza tappo.
- ❗ Assicurarsi che le provette campione siano caricate nelle posizioni corrette, come selezionato nel passaggio 5. Opzionale: utilizzare il modello riportato nell'Appendice C: Scheda campionamento da utilizzare con il sistema EZ1 DSP DNA Blood" per monitorare l'ID e l'orientamento del campione.
- ❗ Assicurarsi che le provette campione siano caricate senza tappo.
- ❗ Assicurarsi che le provette contengano il volume corretto di materiale da analizzare.
- ❗ Evitare la formazione di schiuma o bolle sulla parte superiore del campione o sul bordo delle provette.

8. Caricare nello strumento il rack delle cartucce e il rack per puntali preparati.
 Non scambiare i rack delle cartucce e i rack per puntali tra strumenti diversi.
9. Chiudere lo sportello dello strumento.
10. Premere START (AVVIA) per avviare il protocollo.
11. Al termine del protocollo, sul display compare il messaggio "Protocol finished" (Protocollo finito).
12. Aprire lo sportello dello strumento, rimuovere con cautela il porta-puntali e posizionarlo sul banco.
13. Rimuovere le provette di eluizione (ET) contenenti il DNA purificato dalla fila 1. Evitare di toccare altre provette mentre si rimuovono le singole provette di eluizione. Chiudere le ET con i tappi forniti con il kit.
 Al termine della sessione, rimuovere immediatamente gli eluiti e conservarli.
14. Smaltire i residui per la preparazione dei campioni. * Scartare i porta-puntali e i puntali.
15. Rimuovere il rack delle cartucce e gettare l'RCB.
 Seguire le norme di sicurezza locali per lo smaltimento dei rifiuti (vedere anche "Avvertenze e precauzioni", pag. 11).
16. Eseguire la manutenzione periodicamente come descritto nel manuale d'uso fornito con lo strumento EZ1.
La manutenzione ordinaria deve avvenire alla fine di ciascuna esecuzione del protocollo. Essa prevede la pulizia del perforatore e delle superfici del piano di lavoro.
 Il perforatore è affilato! Si raccomanda l'uso di due guanti.
17. Per eseguire un altro protocollo, premere START (AVVIA), eseguire il passaggio 1 del protocollo, quindi seguire il protocollo del passaggio 4. Altrimenti, premere due volte STOP (ARRESTO) per tornare alla prima schermata del display, chiudere lo sportello dello strumento e spegnere lo strumento EZ1.
I passaggi 2 e 3 non servono quando si esegue un altro protocollo. Saltare questi passaggi.

* I residui dei campioni contengono sali di guanidina e pertanto non sono compatibili con gli sbiancanti. Vedere pag. 11 per Avvertenze e precauzioni.

Controllo di qualità

In conformità al Sistema di Gestione della Qualità QIAGEN, con certificazione ISO, ciascun lotto di kit EZ1 DSP DNA Blood viene testato con le 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 di valutazione delle prestazioni QIAGEN.

Le prestazioni del sistema sono state stabilite in studi di valutazione utilizzando sangue umano intero per l'isolamento del DNA genomico e per applicazioni a valle esemplari. Poiché le prestazioni complessive dipendono fortemente dall'applicazione a valle, è responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni dell'intero flusso di lavoro diagnostico, compresa la preparazione del campione e l'applicazione specifica a valle.

Per minimizzare il rischio di un impatto negativo sui risultati diagnostici, è necessario ricorrere ad adeguati controlli delle applicazioni a valle. Per un'ulteriore convalida, si consiglia di attenersi alle linee guida della Conferenza Internazionale sull'Armonizzazione dei Requisiti Tecnici (ICH) riportate in ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology.

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

Caratteristiche delle prestazioni

Le caratteristiche di prestazione applicabili disponibili nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Guida alla risoluzione dei problemi

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

Commenti e suggerimenti

Trattamento generale

- | | |
|---|--|
| a) Messaggio di errore sul display dello strumento | Consultare il manuale utente fornito con lo strumento EZ1/EZ2 Connect MDx. |
| b) File di referto non stampato (per EZ1) | Verificare che la stampante sia collegata al sistema EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL tramite la porta seriale "PC/Printer" (PC/Stampante).
Verificare che la porta seriale sia configurata per l'uso con una stampante. |
| c) Il file di referto non viene inviato al PC (per EZ1) | Verificare che il PC sia collegato al sistema EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL tramite la porta seriale "PC/Printer" (PC/Stampante).
Verificare che la porta seriale sia configurata per l'uso con un PC. |
| d) Immissione di un ID Q-Card errato (per EZ1) | Se al posto dell'ID della Q-Card è stato immesso un ID sbagliato, il sistema EZ1 Advanced o EZ1 Advanced XL non accetta l'ID e richiede l'ID della Q-Card finché non viene immesso l'ID corretto.
Premere STOP (ARRESTO) per andare al menu principale. |
| e) ID Q-Card errato inserito (per EZ2 Connect MDx) | Se è stato inserito l'ID sbagliato al posto dell'ID della Q-card, il sistema EZ2 Connect MDx non visualizza il protocollo corretto da utilizzare. Inserire l'ID della Q-Card corretta per la visualizzazione del protocollo richiesto.

Durante il controllo del carico, EZ2 Connect MDx verifica che il protocollo scelto e le cartucce reagenti caricate siano compatibili. Se è stato scelto il protocollo sbagliato a causa di un ID della Q-Card errato, interrompere la sessione e ricominciare a configurare la sessione dello strumento dall'inizio. |

Bassa resa del DNA

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Particelle magnetiche risospese non completamente | Assicurarsi di risospesare completamente le particelle magnetiche prima di caricare le cartucce reagenti (RCB) nell'apposito rack. |
| b) | Precipitati visibili sul fondo dei pozzetti delle cartucce reagenti (RCB) | Prima dell'uso, portare la cartuccia reagenti (RCB) a temperatura ambiente. Controllare accuratamente che il pozzetto 1 non contenga precipitati prima del caricamento, capovolgendolo 4 volte. Se necessario, sciogliere di nuovo il campione portando la temperatura RCB fino a 40°C e capovolgendolo 4 volte senza creare schiuma.
Non usare le cartucce reagenti (RCB) se i precipitati non si ridissolvono. |
| c) | Volume campione errato nella provetta | Assicurarsi di pipettare l'esatto volume di campione nella provetta. |
| d) | Quantità di campione trasferita errata (volume trasferito dalla provetta inferiore a quello previsto) | Controllare che le provette campione siano quasi vuote dopo la sessione. Verificare che il volume del campione selezionato e quello fornito siano coerenti. Verificare che il materiale rimanente nelle provette non contenga coaguli o precipitati. Controllare lo stato di lubrificazione degli o-ring del pipettatore (manutenzione settimanale). |
| e) | Campioni di sangue congelati non omogenizzati correttamente dopo lo scongelamento | Scongellare i campioni di sangue congelati in un'incubatrice* oppure immergere in un bagno d'acqua* a 30–40°C agitando leggermente per garantire una corretta miscela. |
| f) | Campioni di sangue coagulato nelle provette | Evitare di trasferire il materiale di campione coagulato nelle provette. In questo modo si rischia di interrompere la procedura e di provocare un potenziale blocco dello strumento. |
| g) | Reagenti caricati sul piano di lavoro in ordine errato | Assicurarsi che tutti le provette (ET, ST, EtOH opzionali), le scatole dei puntali (DTH) coi puntali (DFT) siano caricati sul piano di lavoro nel giusto ordine. Seguire le istruzioni a schermo. Ripetere il processo di purificazione con nuovi campioni. |

Il DNA non rende bene nelle applicazioni a valle

- | | | |
|----|---|---|
| a) | DNA insufficiente nell'applicazione a valle | Quantificare il DNA purificato usando uno spettrofotometro per determinare l'assorbanza a 260 nm (vedere "Quantificazione del DNA", pag. 98). |
| b) | DNA in eccesso nell'applicazione a valle | L'eccesso di DNA può inibire alcune reazioni enzimatiche. Quantificare il DNA purificato usando uno spettrofotometro per determinare l'assorbanza a 260 nm (vedere "Quantificazione del DNA", pag. 98). |

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

Commenti e suggerimenti

- | | | |
|----|--|---|
| c) | Inibizione dell'applicazione a valle | Alcune applicazioni a valle possono registrare prestazioni superiori se si eseguono lavaggi con etanolo all'80% anziché con tamponi nelle cartucce reagenti. Questa opzione è disponibile quando si utilizza la EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card V2.0 (vedere pag. 47) o la EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card (vedere pag. 42) nonché EZ2 Connect MDx (vedere pag. 34). |
| d) | Carryover tra le particelle magnetiche | Il carryover tra le particelle magnetiche negli eluiti non influirà per lo più sulle applicazioni a valle. Se è necessario ridurre al minimo il rischio di carryover delle particelle magnetiche, posizionare prima le provette contenenti l'eluito in un separatore magnetico adatto per 1 minuto, quindi trasferire gli eluiti in provette pulite. In caso di indisponibilità di un apposito magnete, centrifugare il tubo contenente gli eluiti per un minuto alla massima velocità in una microcentrifuga per rimuovere qualsiasi particella magnetica residua e trasferire i supernatanti per pulire i tubi. |













Bassa proporzione A_{260}/A_{280} per gli acidi nucleici purificati

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

Per correggere la presenza di particelle magnetiche nell'eluito, è consigliabile prendere un valore di assorbanza a 320 nm sottraendolo dai valori di assorbanza ottenuti a 260 e 280 nm.

Simboli



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

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

Simbolo

Definizione del simbolo

	Codice GTIN (Global Trade Item Number)
Rn	R sta per revisione delle istruzioni per l'uso e n è il numero di revisione
	Limite di temperatura
	Indirizzo/Produttore legale
	Nota importante
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Istruzioni per l'uso
	Avvertenza/Cautela
	Da utilizzarsi esclusivamente con
	RCB: cartuccia reagenti sangue
	DFT: puntali con filtro monouso
	DTH: porta-puntali monouso
	ST: provetta campione
	ET: provetta di eluizione

Simbolo	Definizione del simbolo
GITC	Guanidina isotiocianato
GuHCl	Guanidina cloridrato
EtOH	Etanolo
LiCl	Cloruro di litio
	Aprire alla consegna; conservare le cartucce reagenti (RCB) a 2–8°C
	Abbassare questo lato al momento dell'apertura

Informazioni di contatto

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

Appendice A: Visualizzazione dei messaggi sugli strumenti EZ1/EZ2

I messaggi visualizzati dal protocollo software sugli strumenti EZ1 durante la preparazione del piano di lavoro, durante l'esecuzione del protocollo e dopo l'esecuzione dello stesso sono elencati dalla Tabella 2 alla Tabella 5. I numeri dei messaggi elencati nelle tabelle corrispondono ai numeri dei messaggi visualizzati dal software.

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

Per i messaggi di errore generali visualizzati sullo strumento EZ2 Connect MDx, consultare il relativo manuale utente. Contattare l'Assistenza Tecnica QIAGEN per ricevere supporto per la risoluzione dei problemi.

Tabella 2. Messaggi del protocollo EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced XL
Nessuno	Guida	Date/time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup (Data/Ora AVVIA: Ciclo: 1: UV 2: Manuale 3: Test 4: Impostaz.)
1	Guida	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Version 1.0 (EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Versione 1.0)
2	Monitoraggio dati	Enter user ID ENT: Next (Inserisci ID utente ENT: Avanti)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced XL
3	Monitoraggio dati	Enter Q-Card barcode ENT: Next (Inserisci il codice a barre della Q-Card ENT: Avanti)
4	Guida	Wrong kit! Please load DSP DNA Blood kit ENT: Back (Kit errato! Carica DSP DNA Blood Kit ENT: Indietro)
5	Guida	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Kit scaduto! MMAA: ENT: Usa un nuovo kit ESC: Arresta protocollo)
6	Monitoraggio dati	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 14 ENT: Next (Usa i dati Q-Card con il campione da 1 a [X] Inserisci da 1 a 14 ENT: Avanti)
7	Monitoraggio dati	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No (Elaborare più campioni con un altro lotto del kit? ENT: Sì, ESC: No)
8	Monitoraggio dati	Do you want to add sample IDs? ENT: Yes ESC: No (Aggiungere ID campione? ENT: Sì ESC: No)
9	Monitoraggio dati	Enter sample ID for sample no. [X] ENT: Next (Inserisci ID campione per il campione n. [x] ENT: Avanti)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced XL
10	Monitoraggio dati	Do you want to check sample lds? ENT: Yes ESC: No (Controllare gli ID campione? ENT: Sì ESC: No)
11	Monitoraggio dati	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next (ID 1: ID 2: ID 3: GIÙ: Avanti)
12	Monitoraggio dati	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back (ID 4: ID 5: ID 6: GIÙ: Avanti, SU: Indietro)
13	Monitoraggio dati	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back (ID 7: ID 8: ID 9: GIÙ: Avanti, SU: Indietro)
14	Monitoraggio dati	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, Back (ID 10: ID 11: ID 12: GIÙ: Avanti, SU: Indietro)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced XL
15	Monitoraggio dati	ID 13: ID 14: ESC: Rescan ENT: Next, UP: Back (ID 13: ID 14: ESC: Riprendi la scansione ENT: Avanti, SU: Indietro)
16	Monitoraggio dati	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Aggiungere informazioni sull'esame? ENT: Sì, ESC: No)
17	Monitoraggio dati	Enter assay ID for sample no.[X] ENT: Next (Inserisci ID esame per il campione n.[X] ENT: Avanti)
18	Monitoraggio dati	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No (Controllare gli ID esame? ENT: Sì ESC: No)
19	Monitoraggio dati	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Aggiungere note? ENT: Sì ESC: No)
20	Monitoraggio dati	Enter notes for sample no. [X] ENT: Next (Inserisci note per il campione n. [x] ENT: Avanti)
21	Monitoraggio dati	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No (Controllare le note? ENT: Sì ESC: No)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced XL
22	Guida	Select protocol 1: 200 µl DSP Blood 2: 350 µl DSP Blood Choose 1 or 2 (Seleziona protocollo 1: 200 µl di sangue DSP 2: 350 µl di sangue DSP Scegli 1 o 2)
23	Guida	Select elution volume: 1: 50 µl 2: 100 µl 3: 200 µl (Seleziona volume di eluizione: 1: 50 µl 2: 100 µl 3: 200 µl)
24	Guida	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2 (Lavaggio con etanolo puro? 1: No 2: Sì Scegli 1 o 2)
25	Guida	You have chosen: [xxx] µl blood, EtOH [xxx] µl elution ENT: Next, ESC: Back (È stato selezionato: [xxx] µl di sangue, EtOH [xxx] µl di eluizione ENT: Avanti, ESC: Indietro)
26	Guida	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back (Carica cartucce nelle stesse posizioni dei campioni ENT: Avanti, ESC: Indietro)
27	Guida	Load elution tubes (ET) (1.5 ml) into first row ENT: Next, ESC: Back (Carica provette di eluizione (ET) (1,5 ml) nella prima fila ENT: Avanti, ESC: Indietro)
28	Guida	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back (Carica porta-puntali (DTH) e puntali (DFT) nella seconda fila ENT: Avanti, ESC: Indietro)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced XL
29	Guida	Load 2 ml tubes with 1800 µl 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back (Carica provette da 2 ml con 1800 µl di EtOH all'80% in terza fila ENT: Avanti, ESC: Indietro)
30	Guida	Load 2 ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next ESC: Back (Carica provette da 2 ml (ST) 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 AVVIA ESC: Indietro)
32	Guida	Please close door! ENT: Next (Chiudi lo sportello! ENT: Avanti)
33	Stato	Protocol started (Protocollo avviato)
34	Stato	Piercing foil [x] of [x] min left (Pellicola di perforazione [x] di [x] min rimasti)
35	Stato	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left (Raccolta tampone di eluizione [x] di [x] min rimasti)
36	Stato	Deliver at heat block [x] of [x] min left (Invia a blocco riscaldante [x] di [x] min rimasti)
37	Stato	Collecting Beads [x] of [x] min left (Raccolta microsfere [x] di [x] min rimasti)
38	Stato	Resuspension of Beads [x] of [x] min left (Risospensione microsfere [x] di [x] min rimasti)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced XL
39	Stato	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left (Raccolta tampone di lisi [x] di [x] min rimasti)
40	Stato	Mixing Lysate [x] of [x] min left (Miscelazione lisato [x] di [x] min rimasti)
41	Stato	Collecting Beads [x] of [x] min left (Raccolta microsfere [x] di [x] min rimasti)
42	Stato	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left (Legame DNA microsfere Separazione magnetica [x] di [x] min rimasti)
43	Stato	Wash 1 Magnetic separation [x] of [x] min left (Lavaggio 1 Separazione magnetica [x] di [x] min rimasti)
44	Stato	Wash 2 Magnetic separation [x] of [x] min left (Lavaggio 2 Separazione magnetica [x] di [x] min rimasti)
45	Stato	Wash 3 Magnetic separation [x] of [x] min left (Lavaggio 3 Separazione magnetica [x] di [x] min rimasti)

Numero del messaggio Tipo di messaggio Testo dei messaggi EZ1 Advanced XL

46	Stato	Wash 4 Magnetic separation [x] of [x] min left (Lavaggio 4 Separazione magnetica [x] di [x] min rimasti)
47	Stato	Rinse [x] of [x] min left (Risciacquo [x] di [x] min rimasti)
48	Stato	Check Temp. Set: Cur.: [x] of [x] min left (Controllo temp. Impos.: Reale: [x] di [x] min rimasti)
49	Stato	Elution [x] of [x] min left (Eluizione [x] di [x] min rimasti)
50	Guida	Protocol finished! ENT: Next (Protocollo concluso! ENT: Avanti)
51	Stato	Transferring report file Attempt no. (Trasferimento file referto Tentativo n.)
52	Nessuno	
None	Guida	SEND REPORT Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k. ESC: Back (INVIA REFERTO Stampa ok? 1: va bene 2: non va bene ESC: Indietro)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced XL
53	Stato	Report file sent ENT: Next (File referto inviato ENT: Avanti)
54	Stato	Report file could not be sent ENT: Resend (Impossibile inviare il file referto ENT: Ripeti invio)
55	Guida	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (Eseguire ciclo UV? ENT: Sì ESC: No)
56	Guida	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next (Rimuovi eluiti e materiali di consumo dal piano di lavoro ENT: Avanti)
57	Guida	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next (Lampada UV prossima alla scadenza Cicli UV rimasti: ENT: Avanti)
58	Guida	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort (Le lampade UV sono scadute ENT: Avanti ESC: Interrompi)
59	Guida	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next (Decontaminazione UV. Inserisci da 20 a 60 ENT: Avanti)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced XL
60	Guida	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back (Il tempo di decontaminazione UV deve essere compreso tra 20 e 60 minuti. ESC: Indietro)
61	Guida	UV lamp did not ignite! ESC: Back (La lampada UV non si è accesa! ESC: Indietro)
62	Guida	UV decontamination Total time: min Time left: min (Decontaminazione UV Tempo totale: min Tempo rimasto: min)
63	Stato	Decontamination UV lamps cooling Please stand by (Raffreddamento lampade decontaminazione UV Attendere)
64	Guida	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (Eseguire manutenzione ordinaria dopo ogni ciclo ESC: Menu principale)

Tabella 3. Messaggi visualizzati nel protocollo EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V2.0)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
Nessuno	Guida	Date/time START:Run 1:UV 2:Man 3:Test 4:Setup Key: START , 1,2,3,4 (Data/ora AVVIA: Ciclo 1: UV 2: Manuale 3:Test 4:Impostaz. Tasto: AVVIA,1,2,3,4)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
1	Guida	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 2.0 (EZ1 Advanced DSP DNA Blood Versione 2.0)
2	Monitoraggio dati	Enter user ID ENT: Next (Inserisci ID utente ENT: Avanti)
3	Monitoraggio dati	Enter Q-Card barcode ENT: Next (Inserisci il codice a barre della Q-Card ENT: Avanti)
4	Guida	Wrong kit! Please load DSP DNA Blood kit ENT: Back (Kit errato! Carica DSP DNA Blood Kit ENT: Indietro)
5	Guida	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Kit scaduto! MMAA: ENT: Usa un nuovo kit ESC: Arresta protocollo)
6	Monitoraggio dati	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 6 ENT: Next (Usa dati Q-Card con il campione da 1 a [X] Inserisci da 1 a 6 ENT: Avanti)
7	Monitoraggio dati	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes (Si), ESC: No (Elaborare più campioni con un altro lotto di kit? ENT: Sì, ESC: No)
8	Monitoraggio dati	Do you want to add sample IDs? ENT: Yes ESC: No (Aggiungere ID campione? ENT: Sì ESC: No)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
9	Monitoraggio dati	Enter sample ID for sample no. [X] ENT: Next (Inserisci ID campione per il campione n. [x] ENT: Avanti)
10	Monitoraggio dati	Do you want to check sample lds? ENT: Yes ESC: No (Controllare gli ID campione? ENT: Sì ESC: No)
11	Monitoraggio dati	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next (ID 1: ID 2: ID 3: GIÙ: Avanti)
12	Monitoraggio dati	ID 4: ID 5: ID 6: ENT: Next; Esc: Rescan (ID 4: ID 5: ID 6: ENT: Avanti; Esc: Riprendi la scansione)
13	Nessuno	
14	Nessuno	
15	Nessuno	
16	Monitoraggio dati	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Aggiungere informazioni sull'esame? ENT: Sì, ESC: No)
17	Monitoraggio dati	Enter assay ID for sample no. [X] ENT: Next (Inserisci ID esame per il campione n.[X] ENT: Avanti)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
18	Monitoraggio dati	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No (Controllare gli ID esame?) ENT: Sì ESC: No)
19	Monitoraggio dati	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Aggiungere note?) ENT: Sì ESC: No)
20	Monitoraggio dati	Enter notes for sample no. [X] ENT: Next (Inserisci note per il campione n. [x]) ENT: Avanti)
21	Monitoraggio dati	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No (Controllare le note?) ENT: Sì ESC: No)
22	Guida	Select protocol 1: 200 µl DSP Blood 2: 350 µl DSP Blood Choose 1 or 2 (Seleziona il protocollo 1: 200 µl di sangue DSP 2: 350 µl di sangue DSP Scegli 1 o 2)
23	Guida	Select elution volume: 1: 50 µl 2: 100 µl 3: 200 µl (Seleziona volume di eluizione: 1: 50 µl 2: 100 µl 3: 200 µl)
24	Guida	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2 (Lavaggio con etanolo puro?) 1: No 2: Sì Scegli 1 o 2)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
25	Guida	You have chosen: [xxx] µl blood, EtOH [xxx] µl elution ENT: Next, ESC: Back (È stato selezionato: [xxx] µl di sangue, EtOH [xxx] µl di eluizione ENT: Avanti, ESC: Indietro)
26	Guida	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back (Carica le cartucce nelle stesse posizioni dei campioni ENT: Avanti, ESC: Indietro)
27	Guida	Load elution tubes (ET) (1.5 ml) into first row ENT: Next, ESC: Back (Carica provette di eluizione (ET) (1,5 ml) nella prima fila ENT: Avanti, ESC: Indietro)
28	Guida	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back (Carica porta-puntali (DTH) e puntali (DFT) nella seconda fila ENT: Avanti, ESC: Indietro)
29	Guida	Load 2 ml tubes with 1800 µl 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back (Carica provette da 2 ml con 1800 µl di EtOH all'80% in terza fila ENT: Avanti, ESC: Indietro)
30	Guida	Load 2 ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back (Carica provette da 2 ml (ST) 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 AVVIA ESC: Indietro)
32	Guida	Please close door! ENT: Next (Chiudi lo sportello! ENT: Avanti)
33	Stato	Protocol started (Protocollo avviato)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
34	Stato	Piercing foil [x] of [x] min left (Pellicola di perforazione [x] di [x] min rimasti)
35	Stato	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left (Raccolta tampone di eluizione [x] di [x] min rimasti)
36	Stato	Deliver at heat block [x] of [x] min left (Invia a blocco riscaldante [x] di [x] min rimasti)
37	Stato	Collecting Beads [x] of [x] min left (Raccolta microsfere [x] di [x] min rimasti)
38	Stato	Resuspension of Beads [x] of [x] min left (Risospensione microsfere [x] di [x] min rimasti)
39	Stato	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left (Raccolta tampone di lisi [x] di [x] min rimasti)
40	Stato	Mixing Lysate [x] of [x] min left (Miscelazione lisato [x] di [x] min rimasti)
41	Stato	Collecting Beads [x] of [x] min left (Raccolta microsfere [x] di [x] min rimasti)
42	Stato	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left (Legame DNA microsfere Separazione magnetica [x] di [x] min rimasti)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
43	Stato	Wash 1 Magnetic separation [x] of [x] min left (Lavaggio 1 Separazione magnetica [x] di [x] min rimasti)
44	Stato	Wash 2 Magnetic separation [x] of [x] min left (Lavaggio 2 Separazione magnetica [x] di [x] min rimasti)
45	Stato	Wash 3 Magnetic separation [x] of [x] min left (Lavaggio 3 Separazione magnetica [x] di [x] min rimasti)
46	Stato	Wash 4 Magnetic separation [x] of [x] min left (Lavaggio 4 Separazione magnetica [x] di [x] min rimasti)
47	Stato	Rinse [x] of [x] min left (Risciacquo [x] di [x] min rimasti)
48	Stato	Check Temp. Set: Cur.: [x] of [x] min left (Controllo Temp. Impos.: Reale: [x] di [x] min rimasti)
49	Stato	Elution [x] of [x] min left (Eluizione [x] di [x] min rimasti)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
50	Guida	Protocol finished! ENT: Next (Protocollo concluso! ENT: Avanti)
51	Stato	Transferring report file Attempt no. (Trasferimento file referto Tentativo n.)
52	Nessuno	
Nessuno	Guida	SEND REPORT Print out o.k.? 1 = o.k. 2 = not o.k. Key : 1, 2, ESC (INVIA REFERTO Stampa o.k.? 1 = va bene 2 = non va bene Tasto: 1, 2, ESC)
53	Stato	Report file sent ENT: Next (File referto inviato ENT: Avanti)
54	Stato	Report file could not be sent ENT: Resend (Impossibile inviare il file referto ENT: Ripeti invio)
55	Guida	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (Eseguire ciclo UV? ENT: Sì ESC: No)
56	Guida	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next (Rimuovi eluati e materiali di consumo dal piano di lavoro ENT: Avanti)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V2.0)
57	Guida	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next (Lampada UV prossima alla scadenza Cicli UV rimasti ENT: Avanti)
58	Guida	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort (Lampade UV scadute ENT: Avanti ESC: Interrompi)
59	Guida	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next (Decontaminazione UV. Inserisci da 20 a 60 ENT: Avanti)
60	Guida	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back (Il tempo di decontaminazione UV deve essere compreso tra 20 e 60 minuti. ESC: Indietro)
61	Guida	UV lamp did not ignite! ESC: Back (La lampada UV non si è accesa! ESC: Indietro)
62	Guida	UV decontamination Total time: min Time left: min (Decontaminazione UV Tempo totale: min Tempo rimanente: min)
63	Stato	Decontamination UV lamps cooling Please stand by (Decontaminazione raffreddamento lampada UV Attendere)
64	Guida	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu (Eseguire manutenzione ordinaria dopo ogni ciclo ESC: Menu principale)

Tabella 4. Messaggi visualizzati nel protocollo EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V1.0)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
Nessuno	Guida	Date/time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4 (Data/Ora AVVIA: Ciclo 1: UV 2: Manuale 3: Test 4: Impost. Tasto: AVVIA, 1, 2, 3, 4)
1	Guida	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 1.0 (EZ1 Advanced DSP DNA Blood Versione 1.0)
2	Monitoraggio dati	Scan/enter user ID (Scansiona/inserisci ID utente)
3	Monitoraggio dati	Scan/enter Q-Card barcode (Scansiona il codice a barre Q-Card)
4	Guida	Wrong kit! Please load EZ1 DSP DNA Blood ENT: Back (Kit errato! Carica EZ1 DSP DNA Blood ENT: indietro)
5	Guida	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol (Kit scaduto ENT: Usa un nuovo kit ESC: Arresta protocollo)
6	Monitoraggio dati	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6 (Usa dati Q-Card con campione n. 1 per inserire da 1 a 6)
7	Guida	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No (Elaborare più campioni con un altro lotto di kit? ENT: Sì, ESC: No)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
8	Monitoraggio dati	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No (Aggiungere ID campione?) ENT: Sì ESC: No)
9	Monitoraggio dati	Scan/enter sample ID sample no. [X] (Scandisci/inserisci n. campione ID [x])
10	Monitoraggio dati	ID1: ID2: ID3: Next=ENT (ID1: ID2: ID3: Avanti=ENT)
11	Monitoraggio dati	ID1: ID2: ID3: Next = ENT, ID1-3 = Up (ID1: ID2: ID3: Avanti= ENT, ID1-3 = Su)
12	Monitoraggio dati	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No (Aggiungere informazioni sull'esame?) ENT: Sì, ESC: No)
13	Monitoraggio dati	Scan/enter assay ID sample no. [X] (Scandisci/inserisci ID esame n. campione [x])
14	Monitoraggio dati	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No (Aggiungere note?) ENT: Sì ESC: No)
15	Monitoraggio dati	Scan/enter notes sample no. [X] (Scandisci/inserisci n. campione note [x])

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
16	Guida	The protocol use Sample Volume: 350 µl Elution Volume: 200 µl Next = Any (Il protocollo utilizza Volume del campione: 350 µl Volume di eluizione: 200 µl Avanti = Qualsiasi)
17	Guida	Load cartridges at same positions as samples Next = Any, Prev = Esc (Carica le cartucce nelle stesse posizioni dei campioni Avanti = Qualsiasi, Avanti = Esc)
18	Guida	Load elution tubes (ET) (1.5 ml) into first row Next = Any, Prev = Esc (Carica provette di eluizione (ET) (1,5 ml) nella prima fila Avanti = Qualsiasi, Prec. = Esc)
19	Guida	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next = Any, Prev = Esc (Carica porta-puntali (DTH) e puntali (DFT) nella seconda fila Avanti = Qualsiasi, Prec. = Esc)
20	Guida	Leave third row empty Next = Any, Prev = Esc (Lascia vuota la terza fila Avanti = Qualsiasi, Prec. = Esc)
21	Guida	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next = Any, Prev = Esc = Esc (Carica provette da 2 ml (ST) con campione nella quarta fila Avanti = Qualsiasi, Prec. = Esc)
22	Guida	Loading finished. Close door and press START Prev = Esc (Caricamento terminato. Chiudi lo sportello e premi AVVIA Prec. = Esc)
23	Guida	Please close door! (Chiudi lo sportello!)
24	Stato	Protocol started (Protocollo avviato)
25	Stato	Piercing Foil [x] of 23 min left (Pellicola di perforazione [x] di 23 min rimasti)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
26	Stato	Collecting Elution Buffer [x] of 23 min left (Raccolta tampone di eluizione [x] di 23 min rimasti)
27	Stato	Deliver at Heat Block [x] of 23 min left (Invia a blocco riscaldante [x] di 23 min rimasti)
28	Stato	Collecting Magnetic Beads [x] of 23 min left (Raccolta microsferi magnetiche [x] di 23 min rimasti)
29	Stato	Resuspension of Magnetic Beads [x] of 23 min left (Risospensione microsferi magnetiche [x] di 23 min rimasti)
30	Stato	Adding Lysis Buffer [x] of 23 min left (Aggiunta tampone di lisi [x] di 23 min rimasti)
31	Stato	Mixing Lysate [x] of 23 min left (Miscelazione lisato [x] di 23 min rimasti)
32	Stato	Adding Magnetic Beads [x] of 23 min left (Aggiunta microsferi magnetiche [x] di 23 min rimasti)
33	Stato	DNA binding to Magnetic Beads Magnetic separation [x] of 23 min left (Legame DNA a microsferi magnetiche Separazione magnetica [x] di 23 min rimasti)
34	Stato	Wash 1 Magnetic separation [x] of 23 min left (Lavaggio 1 Separazione magnetica) [x] di 23 min rimasti)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
35	Stato	Wash 2 Magnetic separation [x] of 23 min left (Lavaggio 2 Separazione magnetica [x] di 23 min rimasti)
36	Stato	Wash 3 Magnetic separation [x] of 23 min left (Lavaggio 3 Separazione magnetica [x] di 23 min rimasti)
37	Stato	Wash 4 Magnetic separation [x] of 23 min left (Lavaggio 4 Separazione magnetica [x] di 23 min rimasti)
38	Stato	Rinse [x] of 23 min left (Risciacquo [x] di 23 min rimasti)
39	Stato	Checking Temperature Set: Cur.: (Controllo temperatura Impos.: Reale:)
40	Stato	Elution [x] of 23 min left (Eluizione [x] di 23 min rimasti)
41	Guida	Protocol finished (Protocollo concluso)
42	Monitoraggio dati	Transfer Report file, attempt no. (Trasferisci file referto, tentativo n.)
43	Guida	Report file sent Next = ENT (File referto inviato Avanti = ENT))

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
44	Guida	Report file could not be sent Resend =ENT (Impossibile inviare il file refert Ripeti invio = ENT)
45	Guida	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No (Eseguire ciclo UV? ENT: Sì ESC: No)
46	Guida	UV DECONTAMINATION Set time min Key: 0-9, ENT (DECONTAMINAZIONE UV Imposta tempo min Tasto:0-9, ENT)
47	Guida	UV lamp expires soon UV runs left ENT= continue (Lampada UV prossima alla scadenza Cicli UV rimasti ENT = continua)
48	Guida	UV lamp is expired ENT= continue ESC=abort (Lampada UV scaduta ENT= continua ESC= interrompi)
49	Guida	UV DECONTAMINATION Time must be between 20-60 min Key:ESC (DECONTAMINAZIONE UV Il tempo deve essere compreso tra 20-60 min Tasto: ESC)
50	Guida	UV DECONTAMINATION Total Time: min Time left: min (DECONTAMINAZIONE UV Tempo totale: min Tempo rimanente: min)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Testo dei messaggi EZ1 Advanced (protocollo V1.0)
51	Guida	Decontamination UV lamps cooling Please stand by (Raffreddamento lampada decontaminazione UV Attendere)
52	Guida	Perform regular maintenance before next run! ESC= Main menu (Esegui manutenzione ordinaria prima della prossima seduta! ESC= Menu principale)

Tabella 5. Messaggi visualizzati nel protocollo del BioRobot EZ1 DSP DNA Blood

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Messaggi di BioRobot EZ1 DSP
Nessuno	Guida	Choose button: START: Protocols 1 : Tools 2 : Tests (Scegli il pulsante: AVVIA: Protocolli 1 : Strumenti 2 : Test)
1	Guida	EZ1 DSP DNA Blood Version 1.0.0 (EZ1 DSP DNA Blood Versione 1.0.0)
2	Guida	The protocol uses Sample Volume: [SampleVolume] µl Elution Volume: [ElutionVolume] µl Next = Any (Il protocollo utilizza Volume del campione: [VolumeCampione] µl Volume di eluizione: [VolumeEluizione] µl Avanti = Qualsiasi)
3	Guida	Load sufficient cartridges (RCB) for samples Next = Any, Prev = ESC (Carica cartucce sufficienti (RCB) per i campioni Avanti = Qualsiasi, Prec. = ESC)
4	Guida	Load elution tubes (ET) (1.5 ml) into first row Next = Any, Prev = ESC (Carica provette di eluizione (ET) (1,5 ml) nella prima fila Avanti = Qualsiasi, Prec. = ESC)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Messaggi di BioRobot EZ1 DSP
5	Guida	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next = Any, Prev = ESC (Carica porta-puntali (DTH) e puntali (DFT) nella seconda fila Avanti = Qualsiasi, Prec. = ESC)
6	Guida	Leave third row empty Next = Any, Prev = ESC (Lascia vuota la terza fila Avanti = Qualsiasi, Prec. = ESC)
7	Guida	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next = Any, Prev = ESC (Carica provette da 2 ml (ST) con campione nella quarta fila Avanti = Qualsiasi, Prec. = ESC)
8	Guida	Start protocol Press START Prev = ESC (Avvia protocollo Premi AVVIA Prec. = ESC)
9	Stato	Protocol started (Protocollo avviato)
10	Stato	Piercing Foil (Pellicola di perforazione)
11	Stato	Collecting Elution Buffer (Raccolta tampone di eluizione)
12	Stato	Deliver at Heat Block (Invia a blocco riscaldante)
13	Stato	Collecting Magnetic Beads (Raccolta microsfere magnetiche)
14	Stato	Resuspension of Magnetic Beads (Risospensione microsfere magnetiche)
15	Stato	Adding Lysis Buffer (Aggiunta tampone di lisi)
16	Stato	Mixing Lysate (Miscelazione lisato)
17	Stato	Adding Magnetic Beads (Aggiunta microsfere magnetiche)
18	Stato	DNA binding to Magnetic Beads Magnetic separation (Legame DNA a microsfere magnetiche Separazione magnetica)
19	Stato	Wash 1 Magnetic Separation (Lavaggio 1 Separazione magnetica)

Numero del messaggio	Tipo di messaggio	Messaggi di BioRobot EZ1 DSP
20	Stato	Wash 2 Magnetic Separation (Lavaggio 2 Separazione magnetica)
21	Stato	Wash 3 Magnetic Separation (Lavaggio 3 Separazione magnetica)
22	Stato	Wash 4 Magnetic Separation (Lavaggio 4 Separazione magnetica)
23	Stato	Rinse (Risciacquo)
24	Stato	Checking Temperature Se: 65 [°] Cur: [°] (Controllo temperatura Impost.: 65 [°] Reale: [°])
25	Stato	Elution (Eluizione)
26	Guida	Protocol finished! Press ESC to return to menu (Protocollo concluso. Premere ESC per tornare al menu)

Appendice B: Quantificazione e determinazione della purezza del DNA

Quantificazione del DNA

La concentrazione di DNA può essere valutata misurando l'assorbanza a 260 nm (A_{260}) con uno spettrofotometro. Usare un A tampone di pH neutro (ad esempio, 10 mM Tris-Cl, * Ph 7.0) per diluire i campioni e per calibrare lo spettrofotometro. Il carryover tra le particelle magnetiche nell'eluato potrebbe influire sul valore A_{260} , anche se non dovrebbe mai incidere sul rendimento del DNA nelle applicazioni a valle. Se il DNA purificato deve essere analizzato dal sequenziamento capillare fluorescente, la provetta contenente l'eluato andrebbe innanzi tutto applicato ad un apposito separatore magnetico e l'eluato dovrebbe essere trasferito in un tubo pulito (vedi in basso).

Per quantificare il DNA isolato con l'uso del sistema EZ1 DSP DNA Blood:

- Se le microsferi sono visibili nell'eluato, si raccomanda di applicare la provetta contenente il DNA a un separatore magnetico adatto per 1 minuto. Qualora il separatore magnetico non fosse disponibile, centrifugare la provetta contenente il DNA per 1 minuto alla massima velocità in una microcentrifuga per sedimentare le eventuali particelle magnetiche residue.
- Una volta completata la separazione, eseguire la quantificazione come descritto sopra.
- Misurare l'assorbanza a 320 e 260 nm. Sottrarre il valore di assorbanza ottenuto a 320 nm dal valore ottenuto a 260 nm per correggere la presenza delle particelle magnetiche.

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

Purezza del DNA

- ① Il conservante contenuto nel tampone di eluizione può interferire con la misurazione. Per la determinazione spettrofotometrica della purezza del DNA, contattare i Servizi tecnici QIAGEN.

Appendice C: Scheda campionamento da utilizzare con il sistema EZ1 DSP DNA Blood

Questo modello di scheda di campionamento può essere utile per l'archiviazione quando si usa il sistema EZ1 DSP DNA Blood di estrazione del DNA dal sangue. Questa scheda può essere fotocopiata o stampata ed etichettata con le descrizioni dei campioni insieme ai dettagli della seduta.

Sistema EZ1 DSP DNA Blood

Data/orario: _____ Numero del lotto kit: _____

Operatore: _____ ID processo: _____

Numero di serie EZ1: _____

Posizione sul piano di lavoro	ID campione	Materiale campione	RCB caricata?	ST caricata?	ET caricata?	DTH con DFT caricato?	80% EtOH caricato (opzionale)?
1 (sinistra)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14 (destra)							

Data/orario: _____ Numero del lotto kit: _____

Operatore: _____ ID processo: _____

Numero di serie EZ2: _____

Posizione sul piano di lavoro	ID campione	Materiale campione	RCB caricata?	ST caricata?	ET caricata?	DTH con DFT caricato?	80% EtOH caricato (opzionale)?
1 (sinistra)							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24 (destra)							

Informazioni per gli ordini

Prodotto	Indice	N. cat.
EZ1 DSP DNA Blood Kit (48)	Per 48 preparazioni di DNA: cartucce reagenti preriempite, scatole puntali monouso, puntali con filtro monouso, tubi di campionamento, tubi di eluizione	62124
EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card	Scheda preprogrammata per il protocollo EZ1 DSP DNA Blood; da utilizzare con lo strumento EZ1 Advanced XL	9018702
EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card	Scheda preprogrammata per il protocollo EZ1 DSP DNA Blood; da utilizzare con lo strumento EZ1 Advanced	9018305
EZ1 DSP DNA Blood Card	Scheda preprogrammata per il protocollo EZ1 DSP DNA Blood; da utilizzare con lo strumento BioRobot EZ1 DSP.	9017713
EZ1 Advanced XL	Strumento robotizzato per la purificazione automatica di acidi nucleici da un massimo di 14 campioni utilizzando i kit EZ1, garanzia di 1 anno su parti e manodopera	9001492

Prodotto	Indice	N. cat.
EZ2 Connect MDx	<p>Strumento da banco per l'isolamento automatico di acidi nucleici da un massimo di 24 campioni in parallelo, utilizzando cartucce sigillate pre-riempite del kit EZ1; include una garanzia di 1 anno su parti e manodopera.</p> <p>Connettività WiFi per la facilità d'uso di LIMS e QIASphere</p>	9003230

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

Cronologia delle revisioni del documento

Revisione	Descrizione
R1, giugno 2022	<ul style="list-style-type: none">● Nuova versione del kit V4 secondo il nuovo regolamento UE 2017/746 (IVDR)● Aggiunta dell'utilizzo dello strumento EZ2 Connect MDx● Aggiornamento dei materiali forniti (aggiunta di principi attivi)● Aggiornamento avvertenze e precauzioni● Aggiornamento della sezione Conservazione e manipolazione dei reagenti● Aggiunta della sezione Smaltimento● Aggiornamento della guida alla risoluzione dei problemi● Aggiornamento dell'Appendice B: raccomandazioni per le misurazioni spettrofotometriche

Pagina lasciata vuota intenzionalmente

Pagina lasciata vuota intenzionalmente

Contratto di Licenza Limitato per EZ1 DSP DNA Blood Kit

L'uso di questo prodotto implica l'accordo di qualsiasi acquirente o utente del prodotto ai seguenti termini:

1. Il prodotto può essere utilizzato esclusivamente in conformità ai protocolli forniti insieme al prodotto e alle presenti Istruzioni per l'uso e soltanto con i componenti contenuti nel pannello. QIAGEN non concede nessuna licenza, nell'ambito della sua proprietà intellettuale, per l'utilizzo o l'integrazione dei componenti di questo pannello con qualsiasi componente non incluso in questo pannello, fatta eccezione per i protocolli forniti con il prodotto, le presenti Istruzioni per l'uso e i protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com. Alcuni di questi protocolli aggiuntivi sono stati messi a punto da utenti QIAGEN a beneficio degli utenti QIAGEN. Si tratta di protocolli che non sono stati collaudati o ottimizzati da QIAGEN. QIAGEN non offre alcuna garanzia in merito a essi né alla violazione da parte di essi di eventuali diritti di terzi.
2. Al di fuori delle licenze espressamente dichiarate, QIAGEN non garantisce che questo pannello e/o il suo utilizzo non violino i diritti di terzi.
3. Questo pannello e i relativi componenti sono concessi in licenza per un unico uso e non possono essere riutilizzati, rinnovati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del pannello accettano di non prendere o permettere a chiunque altro di prendere misure che potrebbero portare o facilitare qualsiasi atto vietato sopra. QIAGEN farà valere i divieti di questo Contratto di licenza limitata presso qualsiasi foro e otterrà il risarcimento di tutte le spese sostenute a scopo di indagine e consulenza legale, ivi comprese le parcelle degli avvocati, con riferimento a qualsiasi causa legale intentata per fare rispettare questo Contratto di licenza limitata o qualsiasi altro diritto di proprietà intellettuale correlato a questo pannello e/o ai relativi componenti.

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

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, EZ1®, EZ2®, BioRobot® (QIAGEN Group); Sarsted® (Sarstedt AG and Co.). I marchi registrati, di fabbrica e così via utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, devono essere considerati come protetti dalla legge.

06/2022 HB-3025-001 1127535 © 2022 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

