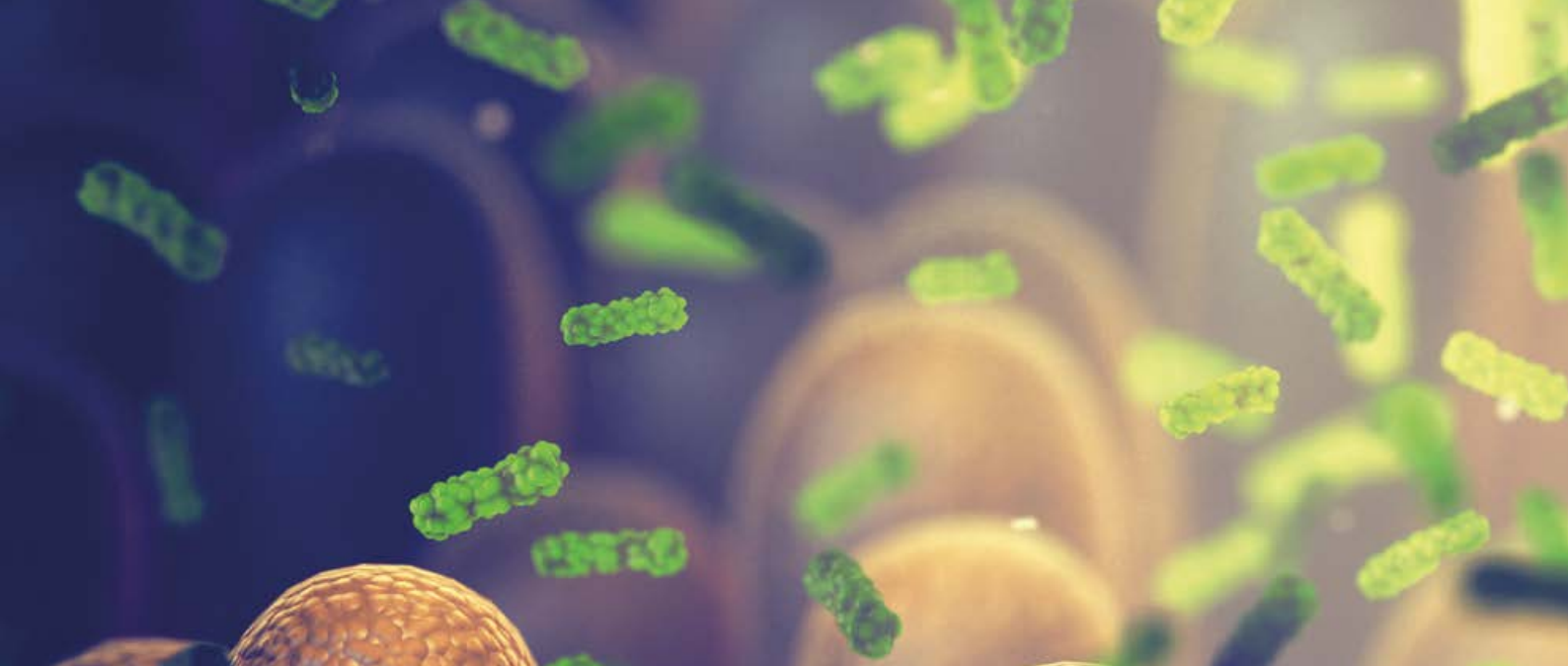


GUIDA AL MONDO  
PROFILING  
DEL MICROBIOMA





## INTRODUZIONE

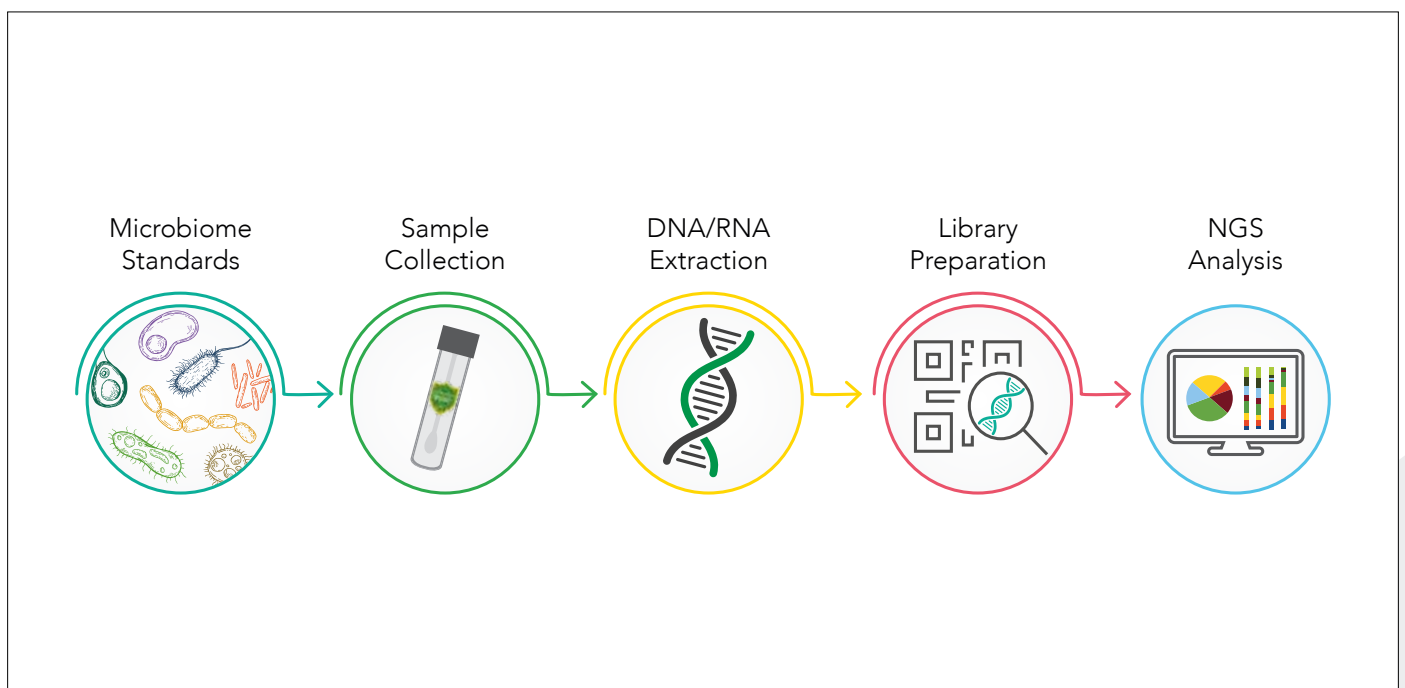
Migliaia di studi eseguiti negli ultimi vent'anni hanno dimostrato l'impatto enorme che il microbioma ha sulla salute umana, sull'agricoltura e in molti altri aspetti della vita.

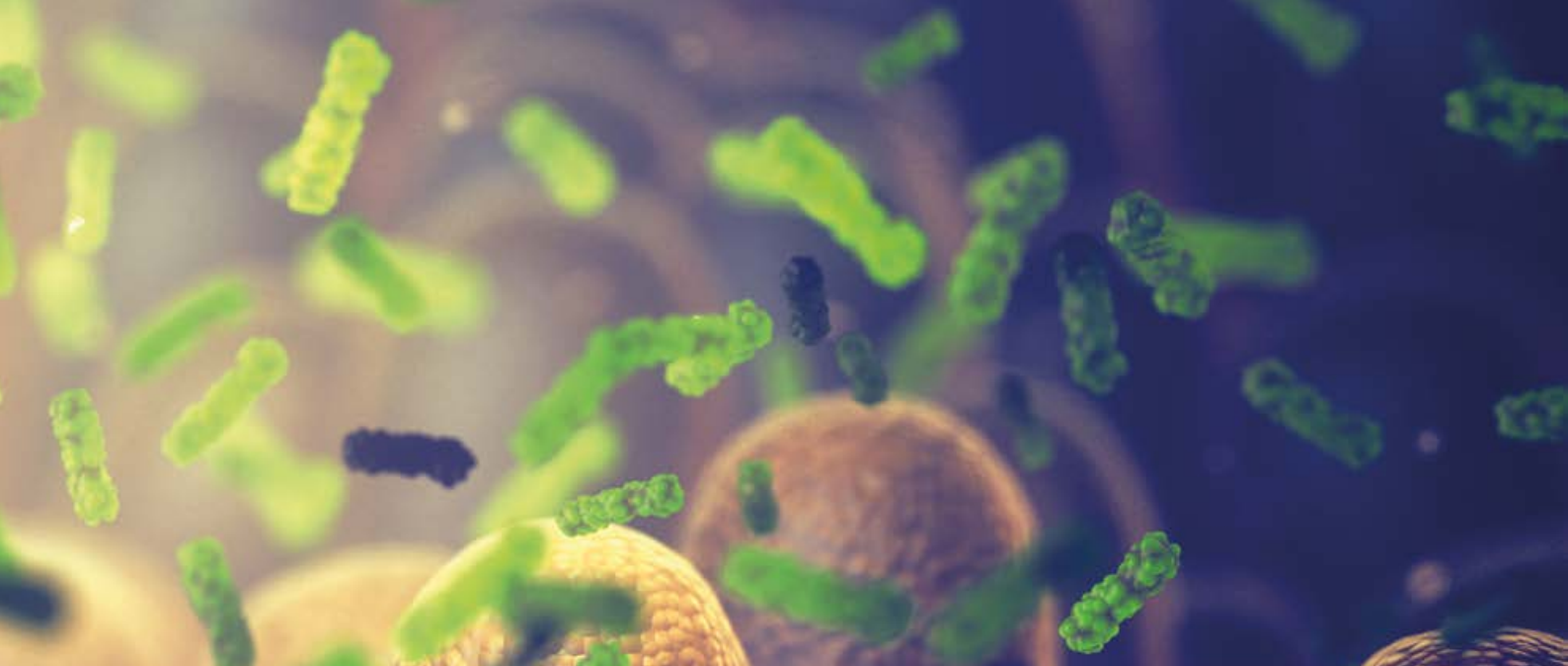
L'evoluzione delle tecniche di Next Generation Sequencing (NGS) ha determinato un'accelerazione della ricerca sul microbioma nel tentativo di chiarire la composizione della flora batterica, le sue funzioni e le sue interazioni con l'uomo e il suo ambiente. D'altra parte, altrettanto velocemente sono emerse discrepanze negli studi condotti da diversi laboratori che impiegano

diversi metodi per l'estrazione degli acidi nucleici e per la preparazione delle library NGS.

Per migliorare l'accuratezza dei dati di MICROBIOME PROFILING e la loro riproducibilità è fondamentale utilizzare campioni correttamente prelevati e conservati, reagenti di qualità, protocolli validati e, soprattutto, standard adeguati.

In questa guida troverai risorse e suggerimenti per ottimizzare il tuo flusso di lavoro e garantire solidità ai tuoi risultati.





LINKS

**LINK PER APPROFONDIRE:**

- [Webinar: Interactions Between the Mycobiome and Bacteriome Impact Health and Disease.](#)

01.

MICROBIOME  
STANDARDS

02.

SAMPLE COLLECTION

03.

DNA/RNA EXTRACTION

04.

4.1 NGS LIBRARY PREP  
4.2 ZYMOBIOMICS NGS  
SERVICES

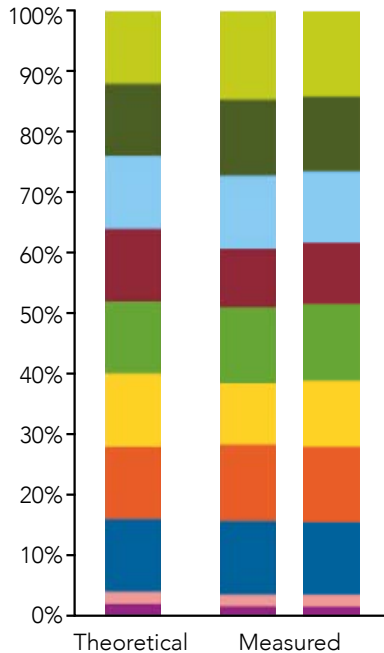
# 01. MICROBIOME STANDARDS

## OBIETTIVI:

- Migliorare la qualità e la riproducibilità delle analisi sul microbioma
- Valutare il bias e testare il limite di detection del workflow

Link per approfondire:

- [Blog: How to Choose a Microbiome Standard | ZYMO RESEARCH](#)
- [Webinar: Standardizing Microbiomics](#)
- [Public database: ZymoBIOMICS Fecal Reference Database \(ZFRD\) \(ZymoBIOMICS Fecal Reference Database | ZYMO RESEARCH\)](#)



Species	Gram Stain	gDNA Abun. (%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	12
<i>Escherichia coli</i>	-	12
<i>Salmonella enterica</i>	-	12
<i>Lactobacillus fermentum</i>	+	12
<i>Enterococcus faecalis</i>	+	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	12
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	12
<i>Bacillus subtilis</i>	+	12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Yeast	2
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Yeast	2

ZymoBIOMICS™ Microbial Community Standard è composto da 8 specie di batteri e 2 di funghi e rappresenta un ampio spettro di robustezza della parete cellulare; contiene 3 ceppi di batteri facili da lisare, 5 ceppi di batteri e 2 ceppi di lievito difficili da lisare. I ricercatori usano questo standard per assicurare un profiling accurato e preciso dei loro campioni microbici.

## PRODOTTI CHIAVE

Codice	Prodotto	Descrizione
ZYD6300	<a href="#">Microbial Community Standard (cellulare)</a>	Standard per il profiling del microbioma
ZYD6305/ ZYD6306	<a href="#">Microbial Community DNA Standard (isolated)</a>	Controllo del bias negli step di Library Prep & Sequencing
ZYD6310	<a href="#">Microbial Community Standard II (cellulare)</a>	Comunità microbica a composizione nota (mock) con distribuzione logaritmica per la valutazione del limite di detection e della sensibilità
ZYD6311	<a href="#">Microbial Community DNA Standard II (isolated)</a>	Miscela di DNA genomico a composizione nota (distribuzione logaritmica) proveniente da diversi ceppi di funghi e batteri
ZYD6320/ ZYD632010	<a href="#">Spike-in Control I</a>	Quantificazione assoluta di campioni con elevata carica batterica (e.g. feci)
ZYD6321/ ZYD632110	<a href="#">Spike-in Control II</a>	Quantificazione assoluta di campioni con bassa carica batterica (saliva)
ZYD6322	<a href="#">HMW DNA Standard</a>	Standard per il profiling del microbioma per sequenziamento long-read
ZYD6331	<a href="#">Gut Microbiome Standard (cellulare)</a>	Standard per il profiling del microbioma intestinale
ZYD6323	<a href="#">ZymoBIOMICS Fecal Reference with TruMatrix™ Technology</a>	Riferimento composto da materiale fecale umano (donatori sani)

## 02. SAMPLE COLLECTION

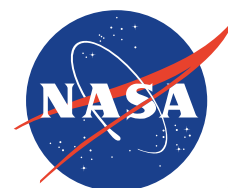
### OBIETTIVI:

- Preservare l'integrità genetica e il profilo di espressione dei campioni.
- Trasporto agevole e a temperatura ambiente dei campioni
- Garantire la sicurezza dell'operatore inattivando agenti infettivi (virus, batteri, funghi e parassiti)

Link per approfondire:

- [Blog: How to Choose A Sample Collection Device for Self-Collected, At-Scale Testing \(zymoresearch.com\)](#)
- [Blog: The Microbiome of Fermented Foods | ZYMO RESEARCH](#)
- [Brochure: b1010\\_shield\\_brochure.pdf \(zymoresearch.com\)](#)
- [Blog: Zymo Research recognized by NASA for its support of research aboard the international space station - DNA/RNA SHIELD™ protects biological samples even in space](#)

Sample Type/Device	DNA/RNA Shield Reagent	Fecal Collection Tube	Swab Collection Tube	Blood Collection Tube	Saliva Collection Kit	Lysis Tubes	Urine Conditioning Buffer
Tampone	✓		✓			✓	
Sangue	✓		✓	✓			
Feci	✓	✓	✓			✓	
Saliva	✓		✓		✓	✓	
Campioni ambientali	✓	✓	✓			✓	
Vettore (Tessuto & insetto)	✓		✓			✓	
Urina							✓



## PRODOTTI CHIAVE

Codice	Prodotto	Descrizione
ZYR110050	<a href="#">DNA/RNA Shield Reagent</a>	Reagente universale per la lisi del campione e la stabilizzazione del DNA/RNA
ZYR1103	<a href="#">Lysis Tube</a>	Provetta da 2 mL (preriempita con 1 mL di DNA/RNA Shield) e Microbe Bashing Beads per la raccolta e l'omogenizzazione di campioni microbici
ZYR1102	<a href="#">Collection Tube</a>	Provetta da 2 mL (preriempita con 1 mL di DNA/RNA Shield) per la raccolta di qualsiasi tipo di campione
ZYR1107	<a href="#">Collection Tube w/ Swab*</a>	Provetta con tampone a vite 12 x 80 mm (preriempita con 1 mL di DNA/RNA Shield) con tampone sterile per la raccolta dei campioni
ZYR1211	<a href="#">SafeCollect Saliva Collection Kit</a>	Contenitore per la raccolta in sicurezza della saliva con tappo a vite (provetta 12 x 80 mm contenente 2 mL di soluzione DNA/RNA shield)
MGI1000025954	<a href="#">Saliva DNA Sample Collection Kit (MGI)</a>	Il kit Saliva DNA Sample Collection per la raccolta e la conservazione di campioni di saliva umana.
ZYR1101	<a href="#">Fecal Collection Tube*</a>	Provetta da 15 mL (preriempita con 9 mL di DNA/RNA shield) per la raccolta di 1 g o 1 mL di feci. Cucchiaino di raccolta incluso nel tappo del contenitore
MGI1000003702	<a href="#">MGIEasy Stool Sample Collection Kit (MGI)</a>	Kit per la raccolta e la conservazione di campioni di feci

\*Disponibilità versione CE-IVD

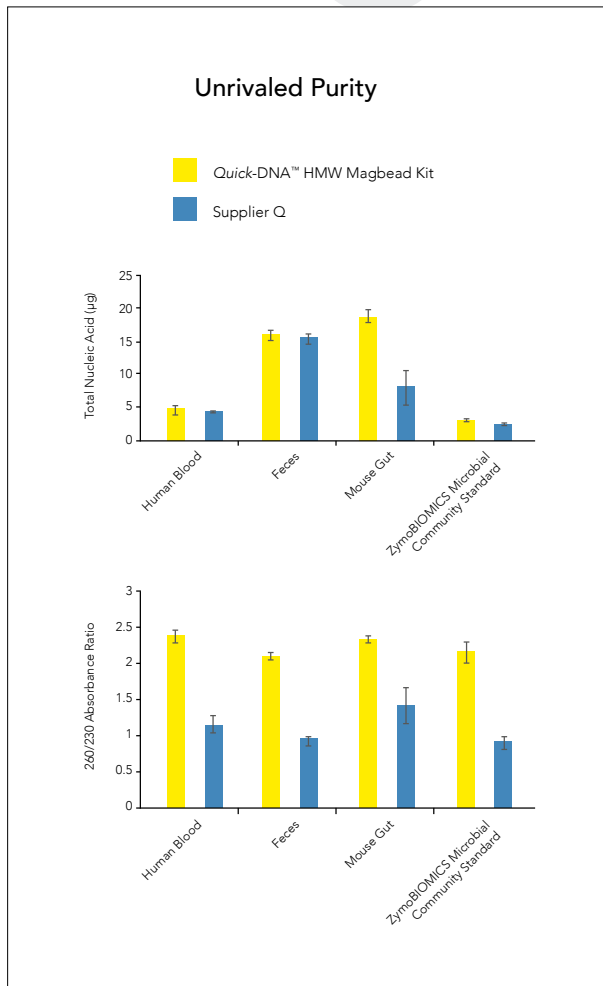
## 03. DNA/RNA EXTRACTION

### OBIETTIVI:

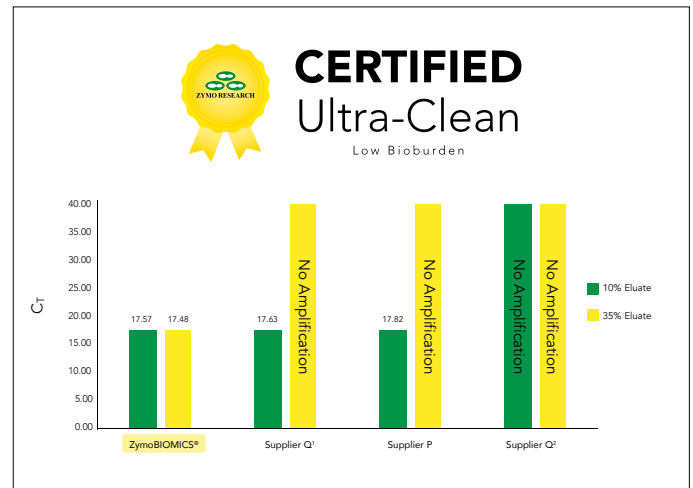
- Estrazione “unbiased”
- Protocollo facile e veloce
- Validato su diverse matrici di partenza
- Eluito ultra-puro

Link per approfondire:

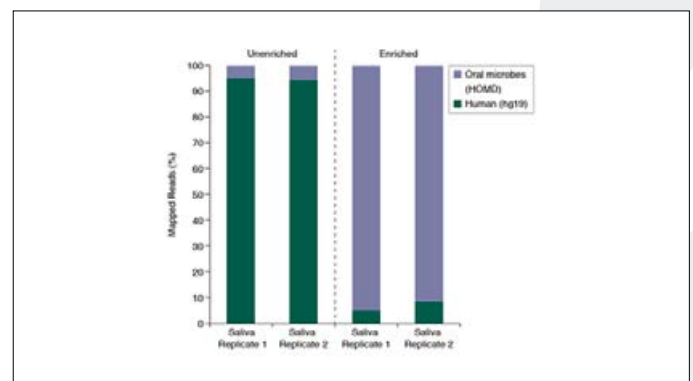
- [Blog: Tips & Tricks to Reduce Bioburden for Microbiome Analyses | ZYMO RESEARCH](#)
- [Paper: iScience\\_2021\\_Oct\\_16\\_fc42 | Bioz | Ratings For Life-Science Research](#)
- [Paper: A Method for Selectively Enriching Microbial DNA from Contaminating Vertebrate Host DNA | PLOS ONE](#)
- [Paper: BMC\\_Microbiol\\_2021\\_May\\_29\\_6e6a | Bioz | Ratings For Life-Science Research](#)



Il kit **Quick-DNA™ HMW Magbead** consente l'estrazione di DNA ad alto peso molecolare con livelli elevati di resa e purezza. 200 µl di sangue umano, 50 mg di feci, 25 mg di intestino di topo e 75 µl ZymoBIOMICS® Microbial Community Standard (D6300) sono stati trattati con il kit Quick-DNA™ HMW MagBead e con il kit del Competitor Q (n=2). I campioni trattati con il prodotto Zymo mostrano livelli di purezza elevati (A260/230: >1.8). Gli acidi nucleici sono stati quantificati mediante NanoDrop™ 2000.



Il Kit ZymoBIOMICS DNA Miniprep genera DNA privo di inibitori anche da campioni difficili e molto ricchi di inibitori. La qualità del DNA estratto con il kit ZymoBIOMICS DNA Miniprep è stata confrontata con quella dei kit dei produttori Q¹, P e Q² tramite Real-Time PCR. L'amplificazione tardiva o l'assenza di amplificazione indicano che la reazione di PCR è inibita per una rimozione inefficiente degli inibitori dal campione.



Il kit **NEBNext® Microbiome DNA Enrichment Kit** consente l'arricchimento del DNA microbico da campioni contenenti DNA ospite metilato e rimozione del DNA CpG metilato dell'ospite. Il DNA è stato estratto da un pool di DNA di saliva umano e sottoposto a enrichment. Le library sono state allestite utilizzando campioni arricchiti e non, e sono state sequenziate sulla piattaforma SOLID 4.



## PRODOTTI CHIAVE

Codice	Prodotto	Formato	Descrizione
ZYD4301	<a href="#">ZymoBIOMICS DNA Microprep Kit</a>	Spin Column	<p><b>Purezza:</b> DNA ad alta qualità e privo di inibitori</p> <p><b>Tipo di campione:</b> il DNA di batteri, funghi, protozoi, alghe, mitocondri, virus è isolato da feci, suolo, cellule batteriche/fungine, biofilm e acqua</p> <p><b>Size Range:</b> Tipicamente 15-20 kb, post omogeneizzazione a biglie. Per un'integrità ottimale del DNA preservare i campioni in DNA/RNA shield</p>
ZYD4300	<a href="#">ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit</a>	Spin Column	
ZYD4309	<a href="#">ZymoBIOMICS-96 DNA Kit</a>	96-Well Spin Column	
ZYD4302	<a href="#">ZymoBIOMICS-96 Magbead DNA Kit</a>	96 Magbead	
BT3010S/L	<a href="#">Monarch® Genomic DNA Purification Kit</a>	Spin Column	Purificazione semplice e veloce per l'ottenimento di gDNA ad elevato peso molecolare
MGI94000012200/ MGI94000012300	<a href="#">MGIEasy Stool Microbiome DNA Extraction Kit (MGI)</a>	Spin Column	Estrazione e purificazione DNA genomico microbico di elevata qualità da campioni di feci umane fresche e congelate Compatibile con i sistemi di automazione MGI
ZYD6060	<a href="#">Quick-DNA™ HMW MagBead Kit</a>	Magbead	Ottimizzato per sequenziamento long read (DNA > 100 kb da qualsiasi tipo di campione)
BE2612S/L	<a href="#">NEBNext® Microbiome DNA Enrichment Kit (NEB)</a>	MBD2-Fc Beads	Arricchimento del DNA microbico da campioni contenenti DNA ospite metilato (inclusi campioni umani), mediante binding selettivo e rimozione del DNA CpG metilato dell'ospite. La diversità microbica rimane intatta dopo l'enrichment
ZYD4310	<a href="#">HostZERO™ Microbial DNA Kit</a>	Spin Column	Eliminazione del host DNA e arricchimento del DNA batterico
ZYR2001	<a href="#">ZymoBIOMICS® RNA Miniprep Kit</a>	Spin Column	Estrazione RNA Totale (inclusi small/microRNA)
ZYR2137/ ZYR2138	<a href="#">ZymoBIOMICS® RNA MagBead Kit</a>	Magbead	
ZYR2002	<a href="#">ZymoBIOMICS® DNA/RNA Miniprep Kit</a>	Spin Column	Estrazione DNA e RNA Totale (inclusi small/microRNA) dallo stesso campione
ZYR2135/ ZYR2136	<a href="#">ZymoBIOMICS MagBead DNA/RNA</a>	Magbead	
ZYS6021	<a href="#">RotaPrep MonoLyser</a>		Omogeneizzatore per provette da 2 mL
S1600SSP	<a href="#">1600 MiniG</a>		Omogeneizzatore a biglie mid-throughput

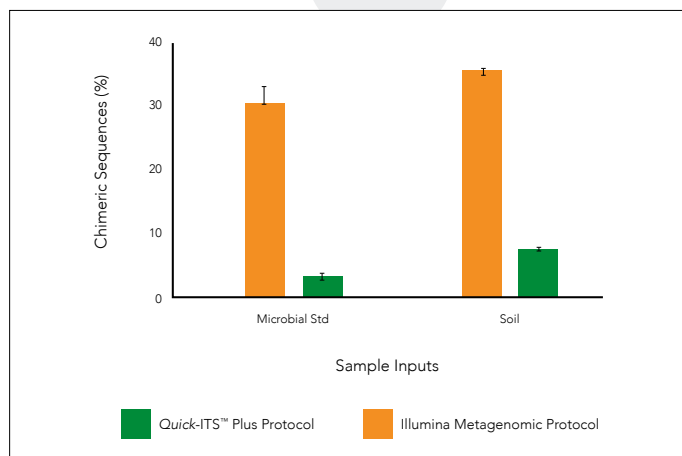
## 4.1 NGS LIBRARY PREP

### OBIETTIVI:

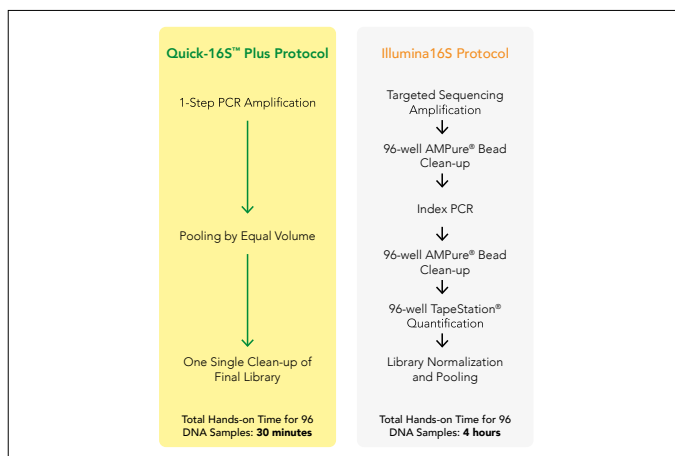
- Protocollo veloce, facile e automatizzabile
- Nessuna necessità di normalizzazione
- No clean-up/size-selection

Link per approfondire:

- [Blog: 16S Sequencing vs Shotgun Metagenomic Sequencing | ZYMO RESEARCH](#)
- [Blog: Microbiome Informatics: OTU vs. ASV \(zymoresearch.com\)](#)



Riduzione fino al 70% della formazione di chimere senza limitare il numero dei cicli di PCR. Il protocollo di Zymo Research che prevede l'uso di PCR 1-step ed Equalase è stato confrontato con il protocollo metagenomico illumina® usando come input uguali quantità di DNA da suolo e di ZymoBIOMICS Microbial Community DNA standard (42 cicli di amplificazione). Le sequenze chimeriche sono state predette tramite UCHIME ([https://www.drive5.com/usearch/manual/uchime\\_algo.html](https://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html)).



Confronto tra protocollo Quick 16S plus e illumina® 16S. I tempi indicati sono stimati per la preparazione di 96 campioni.

### PRODOTTI CHIAVE

Codice	Prodotto	Descrizione	Sequenziatore
ZYD6420/ ZYD6422	<a href="#">Quick-16S Plus NGS Library Prep Kit</a>	Preparazione semplice e veloce di library NGS per il sequenziamento specifico delle regioni V3-V4 del gene 16S o ITS su piattaforma illumina®. Tempo effettivo di lavorazione manuale di 30 minuti e protocollo compatibile con sistemi di automazione.	Compatibile con sequenziatori illumina®
ZYD6424/ ZYD6426	<a href="#">Quick-ITS Plus NGS Library Prep Kit</a>		
BE7103L/S	<a href="#">NEBNext® Ultra™ II DNA Library Prep Kit</a>	Preparazione di library NGS per piattaforme illumina® Protocollo classico	Compatibile con sequenziatori illumina®
BE7805S/G/L	<a href="#">NEBNext Ultra II FS DNA Library Prep Kit</a>	Preparazione di library NGS per piattaforme illumina® Frammentazione, End-Repair e dA Tailing con una singola miscela di enzimi	
MGI94000002900/ MGI94000003000	<a href="#">MGIEasy Fast FS DNA Library Prep Set</a>	Creazione di library NGS per piattaforme MGI a partire da 1-200 ng di DNA microbico; produce inserti uniformi per dimensioni e coverage, indipendentemente dalle variabilità del contenuto GC ed è applicabile sia al sequenziamento del genoma microbico che metagenomico.	Compatibile con sequenziatori MGI

## 4.2 ZYMOBIOMICS NGS SERVICES

### OBIETTIVI:

- Esperienza e competenza al servizio del ricercatore
- Report completi e risultati pronti per la pubblicazione

Link per approfondire:

- [Sito: Microbiome Analysis Service for Any Sample | ZYMO RESEARCH](#)
- [Paper: biorxiv\\_2022\\_May\\_06\\_490868 | Bioz | Ratings For Life-Science Research](#)
- [Brochure: b1014-02\\_microbiomics\\_services\\_brochure.pdf \(zymoresearch.com\)](#)
- [Video: Virtual Tour of Microbiomics Services Report](#)



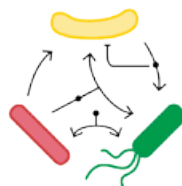
#### Amplicon Sequencing

*Risoluzione a livello di specie per batteri e funghi, sequenziamento specifico delle regioni per le regioni 16S, 18S e ITS.*



#### Shotgun Metagenomic Sequencing

*Identificazione e profiling funzionale di microrganismi appartenenti a regni diversi, con massima sensibilità e precisione.*



#### Metatranscriptomic Sequencing

*Analisi dell'espressione genica del microbioma.*



#### Custom Solutions for Industry Partners

*Tutti i servizi di analisi del microbioma possono essere personalizzati per soddisfare esigenze individuali.*

### PRODOTTI CHIAVE

Servizio	Descrizione
16S/ITS Amplicon Sequencing	Elevata risoluzione per profiling funghi e batteri
Shotgun Metagenomics Sequencing	Identificazione di microrganismi appartenenti a regni diversi e profiling delle funzioni metaboliche

## Servizi

I nostri servizi sono stati sviluppati per supportare la vita quotidiana dei ricercatori e offrire soluzioni flessibili in risposta alle esigenze dei clienti.

### Technical Sales Specialist

Gli specialisti di Euroclone offrono un supporto in grado di soddisfare ogni esigenza del cliente (sia per i prodotti Euroclone che per i prodotti distribuiti) offrendo così un importante supporto diretto sul territorio italiano.

- ✓ Consulenza pre e post vendita
- ✓ Installazione dello strumento
- ✓ Formazione nell'utilizzo degli strumenti
- ✓ Dimostrazioni tecniche e pratiche
- ✓ Assistenza tecnica
- ✓ Risoluzione dei problemi
- ✓ Supporto scientifico

### Technical Sales Assistant

L'assistente tecnico si occupa di tutte le esigenze operative post vendita.

- ✓ Fornisce informazioni tecniche
- ✓ Gestisce le richieste in sinergia con il supporto tecnico del fornitore
- ✓ Supporto tecnico sul consumabile

Contatti: [tsa@euroclone.it](mailto:tsa@euroclone.it)

## Qualità/Regolatorio

I dispositivi medici da noi commercializzati e i dispositivi diagnostici in vitro fabbricati o distribuiti da Euroclone sono conformi ai regolamenti europei 2017/745 e 2017/746.

Euroclone rilascia i prodotti con il proprio brand in Europa e nel resto del mondo in conformità con le regolamentazioni internazionali.

Inoltre, Euroclone è un fornitore di aziende nell'area Biotech - Pharma o di altre aziende che lavorano secondo le GMP, garantendo prodotti di alta qualità e FFM.

Su richiesta Euroclone può supportare i clienti nella redazione di specifici accordi tecnici di qualità.

## Certificazioni

Euroclone ha un sistema di qualità certificato secondo le norme **EN ISO 9001**, **EN ISO 13485** e **EN ISO 14001**.

Le procedure aziendali danno garanzia di conformità alle normative attualmente in vigore in ambito di progettazione, sviluppo, produzione, assistenza tecnica e commercializzazione di prodotti per la Life Science, MED e IVD, oltre che agire nel pieno rispetto dell'ambiente e della sostenibilità ecologica.

**EuroClone®**  
serving science through innovation

**Euroclone SpA Società a Socio Unico**  
Via Figino, 20/22 - 20016 Pero (MI)  
Tel. +39 02.381951 - +39 02.38101465  
[info@euroclone.it](mailto:info@euroclone.it) - [www.euroclone.it](http://www.euroclone.it)

Quality Management System Certified to ISO 9001  
and ISO 13485 international standard



**PER RICHIEDERE UN PREVENTIVO  
CONTATTA IL TUO AGENTE DI ZONA**

Per vedere l'intero portafoglio prodotti visita il sito  
[www.euroclone.it](http://www.euroclone.it)