

Febbraio 2018

Manuale utente del plug-in base UDT di Rotor-Gene AssayManager v1.0



REF

R3



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
GERMANIA

Contenuto

1 Manuale utente del plug-in base UDT di Rotor-Gene AssayManager v1.0.....	1-1
1.1 Informazioni di sicurezza.....	1-2
1.2 Introduzione.....	1-2
1.2.1 Manuali utente forniti	1-3
1.2.2 Informazioni sul presente manuale utente	1-3
1.2.3 Informazioni generali	1-3
1.2.4 Come ricevere aiuto	1-4
1.3 Operazioni e procedure specifiche per i plug-in base UDT.....	1-7
1.3.1 Approvazione di campioni	1-7
Esame dei dati di dosaggio.....	1-7
Calcolo della concentrazione dei campioni.....	1-9
Informazioni generali sull'approvazione dei campioni.....	1-12
Principio dei pulsanti di approvazione nel plug-in base UDT.....	1-17
Risultati del target.....	1-27
Flag dei campioni.....	1-28
1.3.2 Ambiente "Development" (sviluppo)	1-33
Flusso di lavoro generale dello sviluppo del profilo di dosaggio ...	1-33
Descrizione generale dell'interfaccia grafica utente (GUI).....	1-35
Uso dell'ambiente "Development" (sviluppo).....	1-39
Profili dei referti per i dosaggi del plug-in base UDT	1-106
1.4 Informazioni sulla documentazione online.....	1-109
1.4.1 Guida per la tabella "Plots and information" (grafici e informazioni)	1-109
1.4.2 Guida per la tabella "Results" (risultati)	1-110
1.4.3 "Core Analysis" (analisi principale).....	1-111
1.4.4 Analisi di dosaggi e campioni	1-111
1.5 Messaggi di errore	1-111

1.6 Appendice	1-116
---------------------	-------

Manuale utente del plug-in base UDT di Rotor-Gene AssayManager v1.0

1 Manuale utente del plug-in base UDT di Rotor-Gene AssayManager v1.0

Benvenuti nel Manuale utente del plug-in base UDT di Rotor-Gene AssayManager v1.0.

1.1 Informazioni di sicurezza

L'intuitivo software Rotor-Gene AssayManager™ v1.0 è stato sviluppato specificamente per l'uso con un massimo di quattro diversi strumenti Rotor-Gene® Q. Prima di utilizzare Rotor-Gene AssayManager v1.0, è fondamentale leggere attentamente il presente manuale di istruzioni, prestando particolare attenzione alle informazioni sulla sicurezza. Le istruzioni e le informazioni sulla sicurezza contenute nel manuale utente devono essere rispettate per garantire il funzionamento sicuro del termociclatore e per mantenere lo stesso in condizioni di sicurezza.

Il Manuale utente di Rotor-Gene AssayManager v1.0 non fornisce informazioni dettagliate sullo strumento Rotor-Gene Q e sulla manutenzione dell'hardware. Il Manuale utente di Rotor-Gene AssayManager v1.0 descrive soltanto le funzioni del software Rotor-Gene AssayManager v1.0 in combinazione con gli strumenti Rotor-Gene Q.

Nota: i termini “Rotor-Gene Q” e “strumento Rotor-Gene Q” usati in questo manuale si riferiscono a tutti gli strumenti Rotor-Gene Q e Rotor-Gene Q MDx (non disponibili in tutti i paesi) salvo diversa specifica.

1.2 Introduzione

Grazie per aver scelto Rotor-Gene AssayManager v1.0. Siamo certi che diventerà parte integrante del vostro laboratorio.

Rotor-Gene AssayManager v1.0 è un software per le analisi di routine in combinazione con strumenti Rotor-Gene Q. Rotor-Gene AssayManager v1.0 è in grado di leggere informazioni dei campioni, impostare esperimenti, controllare fino a quattro diversi termociclatori Rotor-Gene Q, acquisire dati da questi strumenti, analizzare automaticamente i risultati e creare referti.

Rotor-Gene AssayManager v1.0 è formato da diversi componenti che operano insieme. L'applicazione core è integrata da diversi plug-in che contengono l'analisi specifica del tipo di dosaggio e la visualizzazione dei risultati. L'applicazione core è obbligatoria per operare con Rotor-Gene AssayManager v1.0. È possibile installare plug-in addizionali in via opzionale. È necessario installare almeno un plug-in. È possibile che non tutti i plug-in siano disponibili in tutti i paesi. Fare riferimento a ► www.qiagen.com/Products/Rotor-GeneAssayManager.aspx per scoprire la nostra gamma di plug-in in continua espansione.

1.2.1 Manuali utente forniti

L'applicazione core e ogni plug-in disponibile sono provvisti di rispettivi manuali utente con informazioni specifiche sulle funzioni dei vari componenti di Rotor-Gene AssayManager v1.0. I manuali utente forniscono una guida sensibile al contesto che può essere aperta semplicemente premendo il tasto "F1".

Quando si installano plug-in aggiuntivi, i corrispondenti manuali utente sono aggiunti automaticamente al sistema di guida già esistente. In alternativa, i vari manuali utente possono essere aperti, letti e stampati come file *.pdf.

Manuale utente dell'applicazione core di Rotor-Gene AssayManager v1.0	<ul style="list-style-type: none">▪ Fornisce una descrizione del software.▪ Descrive le funzioni che sono uguali per l'applicazione core e per tutti i vari plug-in.▪ Fornisce informazioni sulla risoluzione dei problemi.
---	---

Manuali utente dei plug-in di Rotor-Gene AssayManager v1.0	Forniscono informazioni su <ul style="list-style-type: none">▪ come utilizzare i plug-in specifici per il tipo di dosaggio▪ le loro funzioni.
--	--

1.2.2 Informazioni sul presente manuale utente

Il presente manuale utente fornisce informazioni sul plug-in base UDT per Rotor-Gene AssayManager v1.0, versione 1.0.x (dove $x \geq 6$) nelle seguenti sezioni:

1. ► Introduzione
2. ► Operazioni e procedure specifiche per UDT

1.2.3 Informazioni generali

Politica aziendale

La politica aziendale di QIAGEN si pone l'obiettivo di migliorare i prodotti di pari passo con la disponibilità di nuove tecnologie e nuovi componenti. QIAGEN si riserva il diritto di modificare le specifiche tecniche in qualsiasi momento.

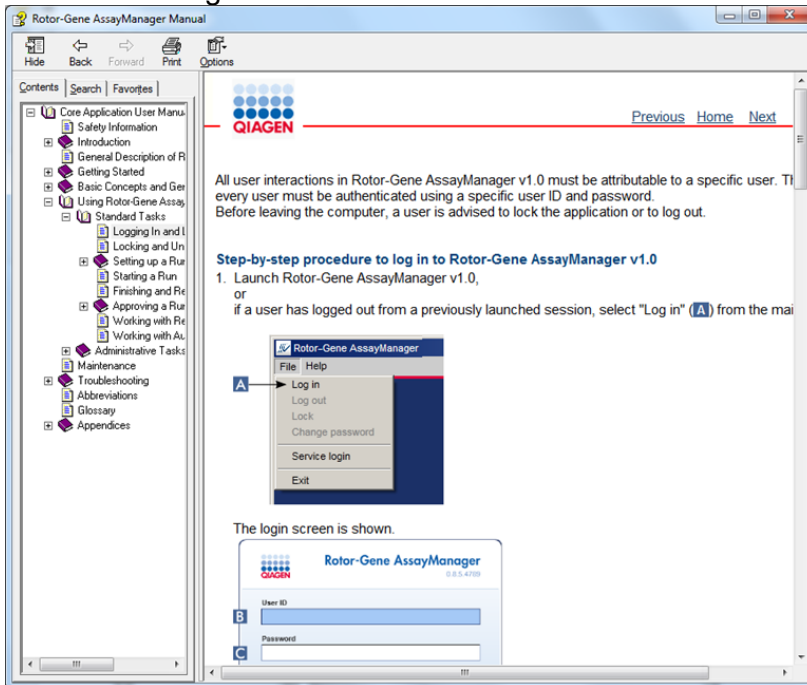
Nel tentativo di produrre una documentazione sempre utile e pertinente, saremo lieti di ricevere i vostri commenti su questo manuale utente. Contattate il servizio di assistenza tecnica QIAGEN.

Gestione delle versioni

Questo documento è il manuale utente del plug-in base UDT di Rotor-Gene AssayManager v 1.0, che fornisce informazioni sul plug-in base UDT, versione 1.0.x (dove $x \geq 6$).

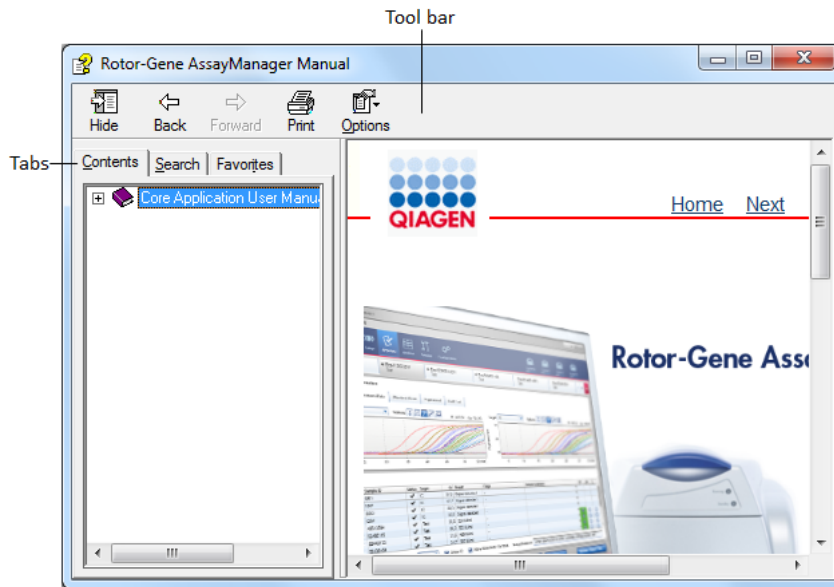
1.2.4 Come ricevere aiuto

Rotor-Gene AssayManager v1.0 è dotato di un sistema dettagliato di guida. La guida è fornita come file *.pdf e come file *.chm (compiled help file, file guida compilato). L'immagine seguente mostra come esempio la pagina della guida corrispondente alla schermata di login:



Rotor-Gene AssayManager v1.0 ha un sistema di guida sensibile al contesto. Premendo il tasto "F1" nelle finestre di dialogo, si visualizza una pagina della guida sensibile al contesto.






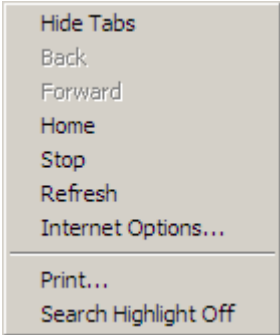
Uso della guida di Rotor-Gene AssayManager v1.0



Il file guida contiene due aree funzionali:

- Barra strumenti
- Schede

La barra strumenti contiene i seguenti pulsanti:

Nome	Icona	Descrizione
“Hide” (nascondi) o “Show” (mostra)		Nasconde la scheda di navigazione sul lato sinistro. Per visualizzare di nuovo la scheda di navigazione, fare clic su “Show” (mostra). Questo pulsante compare al posto di “Hide” (nascondi).
“Back” (indietro)		Torna alla schermata precedente.
“Forward” (avanti)		Torna alla schermata visualizzata prima di usare il pulsante “Back (indietro)”.
“Print” (stampa)		L’utente ha due scelte: 1) stampare l’argomento selezionato. 2) stampare il titolo selezionato e tutti i sottoargomenti. Selezionare un’opzione e confermare con “OK” oppure selezionare “Cancel” (annulla) per tornare indietro.
“Options” (opzioni)		Aprire il menu delle opzioni con le seguenti voci: 

La scheda di navigazione contiene le seguenti schede:

Nome	Descrizione
“Contents” (sommario)	Nella scheda “Contents”(sommario) il contenuto della guida può essere esplorato per argomento.
“Search” (c erca)	Consente di trovare argomenti specifici inserendo dei termini di ricerca.
“Favorites” (preferiti)	Si possono aggiungere e gestire percorsi abbreviati per singoli argomenti della guida.

1.3 Operazioni e procedure specifiche per i plug-in base UDT

In questo capitolo si descrivono operazioni e procedure specifiche del plug-in base UDT. Per una descrizione generale, consultare il Manuale utente dell'applicazione core Rotor-Gene AssayManager v1.0.

1.3.1 Approvazione di campioni

Il funzionamento generale dell'ambiente “Approval” (convalida) è descritto nel manuale utente dell'applicazione core. Qui vengono descritte soltanto le funzioni dedicate al plug-in base UDT.

1.3.1.1 Esame dei dati di dosaggio

Procedura dettagliata per esaminare i dati di un dosaggio specifico

Dopo l'avvio del processo di approvazione si apre una schermata divisa in due aree principali: “Plots and information” (grafici e informazioni) e “Results” (risultati). Se sono stati selezionati più dosaggi, tutti i dosaggi selezionati saranno riportati nell'elenco della scheda.

A seconda del tipo di dosaggio, le informazioni sull'esperimento possono essere esaminate in sei diverse sottoschede:

- “Raw Data” (dati non elaborati)
- “Processed data” (dati elaborati)
- “Standard curve” (curva standard)
- “Experiment” (esperimento)
- “Assay” (dosaggio)
- “Audit trail” (registrazione operazioni effettuate)

Per impostazione predefinita, all'avvio del processo di approvazione si apre la scheda "Experiment" (esperimento).

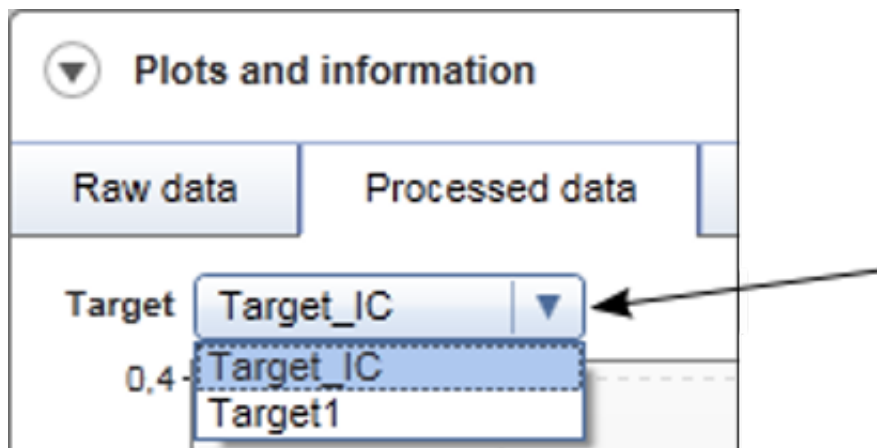
Procedura dettagliata per esaminare i grafici di amplificazione mediante le sottoschede "Raw data" (dati non elaborati) e "Processed data" (dati elaborati)

1. Per visualizzare solo le curve di amplificazione di campioni specifici:
 - a) Per impostazione predefinita sono selezionati tutti i campioni di un dosaggio. Fare clic sull'icona "Column select" (selezione colonna) sull'intestazione della tabella dei risultati per deselegionare tutti i campioni.

Pos.	<input checked="" type="checkbox"/>	Style	Sample ID	Status	Type	Targets	Ct	Result
1	<input checked="" type="checkbox"/>	—	Sample 1		Test	Target1	26,67	Signal detected
2	<input checked="" type="checkbox"/>	—	Sample 2		Test	Target1	26,64	Signal detected
3	<input checked="" type="checkbox"/>	—	Sample 3		Test	Target1	26,68	Signal detected
4	<input checked="" type="checkbox"/>	—	Sample 4		Test	Target1	26,77	Signal detected
5	<input checked="" type="checkbox"/>	—	Sample 5		Test	Target1	27,50	Signal detected
6	<input checked="" type="checkbox"/>	—	Sample 6		Test	Target1	26,77	Signal detected

- b) Fare clic sulla casella di controllo "Sample selector" (selettore campioni) dei campioni di cui si vuole visualizzare la curva di amplificazione.

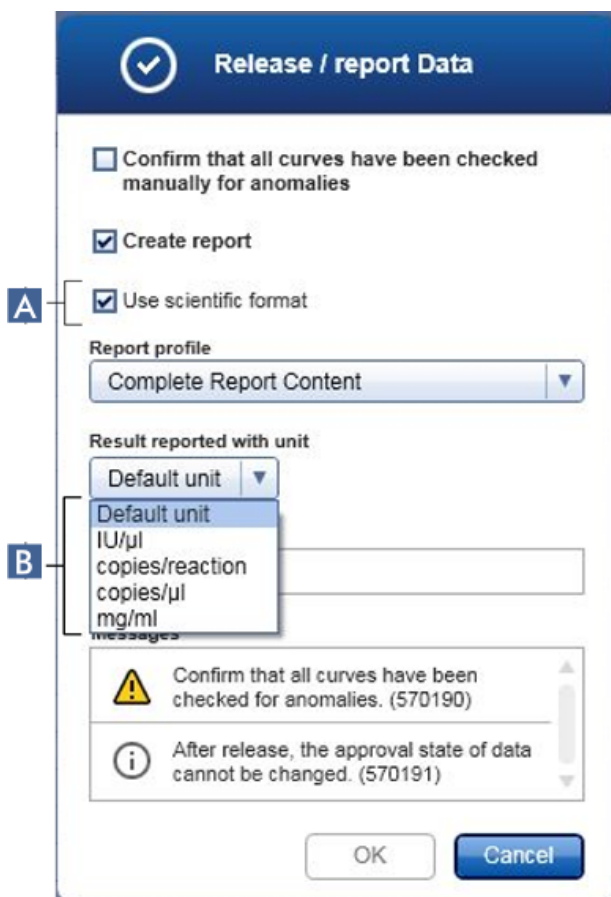
2. Selezionare il target dal menu a tendina "Target".



3. Esaminare le singole curve di amplificazione.

Visualizzazione in notazione scientifica

Sono disponibili opzioni per visualizzare i risultati in notazione scientifica (A) e per scegliere l'unità di concentrazione nella tabella riassuntiva del referto (B). Se la casella di controllo è spuntata (A), nel referto tutte le concentrazioni sono visualizzate in notazione scientifica.



1.3.1.2 Calcolo della concentrazione dei campioni

Condizioni preliminari

Per i dosaggi quantitativi, Rotor-Gene AssayManager v1.0 mostra la concentrazione nell'eluato e nel campione originale, in base alle informazioni riportate nel profilo del dosaggio.

Se sono soddisfatte le condizioni riportate di seguito, è possibile definire il volume di ingresso del campione e il volume di eluizione nell'ambiente "Approval" (convalida).

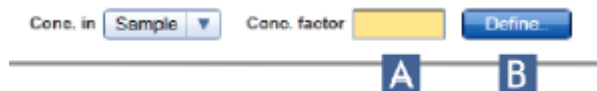
- Il dosaggio è quantitativo.

- Nel profilo di dosaggio è definito uno set di parametri di dosaggio, mentre il volume di trasferimento del campione e il volume di eluizione iniziale non sono definiti. ►
Creazione di un profilo di dosaggio
- L'elenco di lavoro per il processo è stato generato importando un file di risultati di QIASymphony AS da un processo di QIASymphony AS indipendente.

Soltanto se sono soddisfatte tali condizioni preliminari è possibile fornire informazioni sul volume di ingresso del campione e sul volume di eluizione iniziale nell'ambiente "Approval" (convalida). Utilizzando queste informazioni, Rotor-Gene AssayManager può convertire la concentrazione dell'eluato in concentrazione del campione.

Procedura dettagliata per definire il volume di ingresso del campione e il volume di eluizione iniziale

1. Se disponibili per l'esperimento, sotto la tabella dei risultati vengono visualizzati il campo "Conc. factor" (fattore di concentrazione) (A) e il pulsante "Define.." (definisci..) (B).



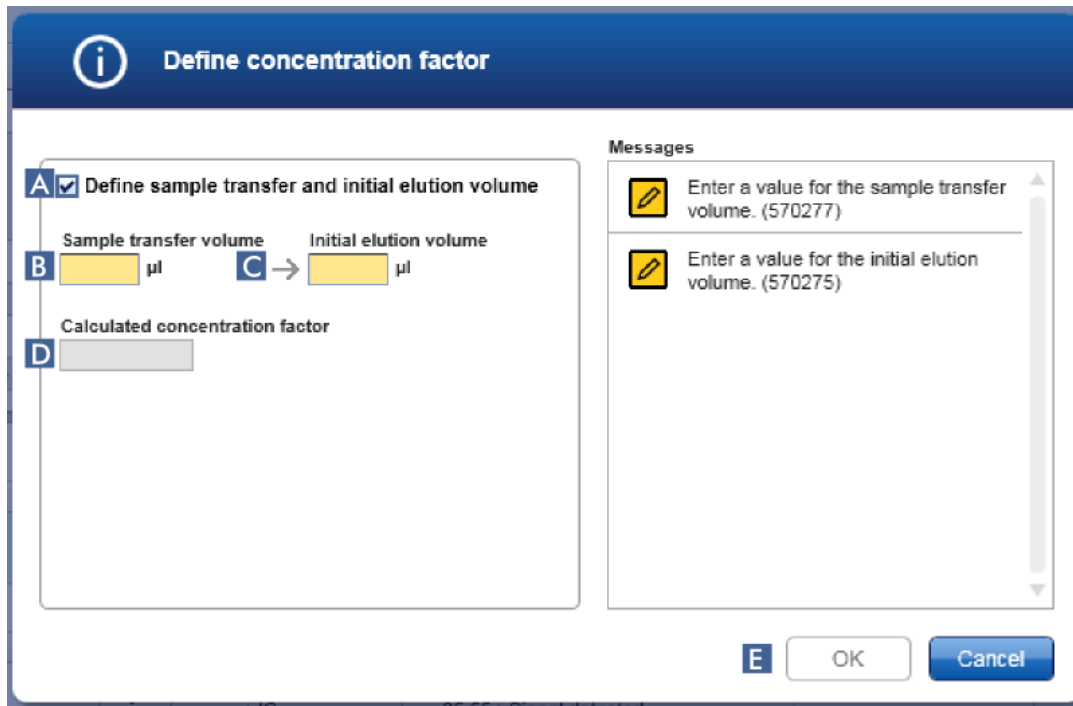
Nota

Non viene visualizzata alcuna concentrazione a livello del campione fino a quando non è definito il fattore di concentrazione.

Nota

Il pulsante di rilascio è disabilitato finché non è definito il fattore di concentrazione.

2. Fare clic su "Define.." (definisci..). Si apre una finestra di dialogo che consente di definire il fattore di concentrazione.



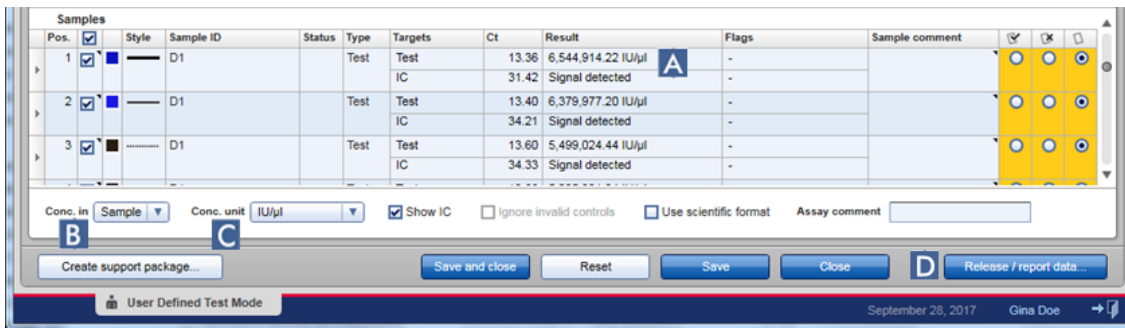
Per definire un fattore di concentrazione

- a) Spuntare la casella di controllo “Define sample transfer and initial elution volume” (definisci il volume di trasferimento dei campioni e il volume di eluzione iniziale) **(A)**.
- b) Inserire il volume di trasferimento del campione **(B)**.
- c) Inserire il volume di eluzione iniziale **(C)**.
- d) Verrà visualizzato il fattore di concentrazione calcolato **(D)**.
- e) Fare clic su “OK” **(E)**.

Se non deve essere definito alcun fattore di concentrazione

- a) Disattivare la casella di controllo “Define sample transfer and initial elution volume” (definisci il volume di trasferimento dei campioni e il volume di eluzione iniziale) **(A)**.
- b) Fare clic su “OK” **(E)**. Non verrà visualizzata alcuna concentrazione a livello del campione.

3. Dopo aver definito il fattore di concentrazione, accade quanto riportato di seguito.



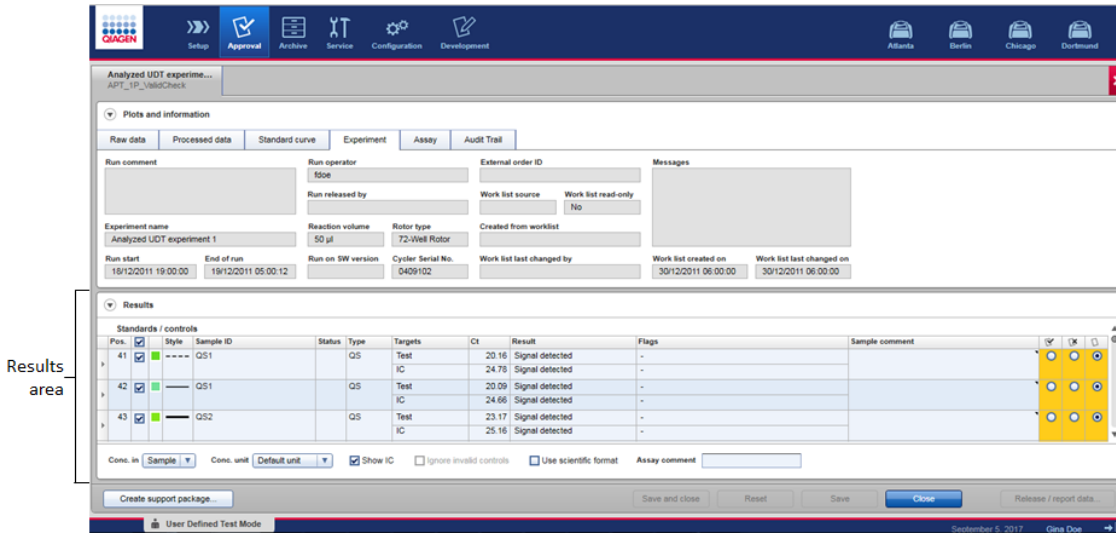
- Se si seleziona “Conc. in sample” (concentrazione nel campione) (B), viene visualizzato un risultato quantitativo (A).
- Viene visualizzato il fattore di concentrazione (C).
- Il pulsante “Release/ report data...” (rilascio/referto dei dati...) (D) è abilitato.
- Il fattore di concentrazione definito verrà annotato nel referto.

Nota

Una volta rilasciato il dosaggio, il fattore di concentrazione non può essere modificato.

1.3.1.3 Informazioni generali sull'approvazione dei campioni

I risultati di tutti i campioni determinati da Rotor-Gene AssayManager v1.0 devono essere approvati (accettati o rifiutati) nell'area “Results” (risultati) della schermata “Approval” (convalida).



La tabella “Results” (risultati) è formata da due tabelle:

- “Standards / controls” (standard/controlli)
- “Samples” (campioni)

Table for external controls

Standards / controls			
Pos.	Style	Sample ID	
1	█	Standard 1_1	
2	█	Standard 1_2	
3	█	Standard 1_3	
4	█	Standard 1_4	
5	█	Standard 2_1	
⋮			
30	█	NTC_2	
31	█	NTC_3	
32	█	NTC_4	

Table for samples

Samples			
Pos.	Style	Sample ID	
21	█	Unknown 1_1	
22	█	Unknown 1_2	
23	█	Unknown 1_3	
24	█	Unknown 1_4	
25	█	Unknown 2_1	

Comportamento della tabella “Results” (risultati)

Inizialmente, i pulsanti di approvazione della tabella “Samples” (campioni) sono disattivati; sono attivati solo i pulsanti di approvazione della tabella “Standards/controls” (standard/controlli). I controlli esterni devono essere approvati per primi. Dopo l'approvazione di tutti i controlli esterni, i pulsanti di approvazione della tabella “Samples” (campioni) vengono abilitati.

L'area dei risultati contiene la tabella “Results” (risultati) con le seguenti informazioni dettagliate sui singoli campioni.

- “Position” (posizione)
- “Color” (colore)
- “Style” (stile)
- “Sample ID” (ID campione)
- “Status” (stato)
- “Type” (tipo)
- “Target”
- “C_T”
- “Result” (risultato)
- “Flags” (flag)
- “Sample comment” (commento sul campione)

I risultati dei campioni da approvare hanno altri tre pulsanti di approvazione all'estremità della riga dedicata. Questi pulsanti sono usati per l'accettazione o il rifiuto interattivi dei risultati del campione.

Come aiuto visivo, il colore di sfondo della barra di approvazione cambia in base allo stato di approvazione. Inizialmente, tutti i campioni di analisi di un esperimento finito hanno lo stato “Undefined” (indefinito) e sono visualizzati su sfondo **giallo**. Per un campione “Accepted” (accettato) il colore dello sfondo passa a **verde**. Per un campione “Rejected” (rifiutato) il colore dello sfondo passa a **rosso**.

Colore dello sfondo	Stato del campione di analisi
	Indefinito
	Accettato
	Rifiutato

Procedura dettagliata per l'approvazione dei campioni

1. Scorrere la tabella "Results" (risultati) fino al campione da approvare. Ogni risultato di campione da approvare ha altri tre pulsanti di opzione all'estremità della riga dedicata.

Results								
Standards / controls								
Pos.	Style	Sample ID	Status	Type	Targets	Ct	Result	
1	—	Standard 1_1		QS	GPER	26,67	Signal detected	
2	—	Standard 1_2		QS	GPER	26,64	Signal detected	
3	—	Standard 1_3		QS	GPER	26,68	Signal detected	
4	Standard 1_4		QS	GPER	26,77	Signal detected	
5	---	Standard 2_1		QS	GPER	27,50	Signal detected	
6	Standard 2_2		QS	GPER	27,65	Signal detected	


Here approval buttons for external controls

Approval buttons

2. Accettare o rifiutare il risultato di un campione.

	Fare clic su	Passa a
Per accettare un risultato del campione, fare clic sul primo pulsante della riga.		
Per rifiutare un risultato del campione, fare clic sul secondo pulsante della riga.		

Opzionale: inserire un commento nella colonna “Sample comment” (commento sul campione).

3. Ripetere i passaggi 1 e 2 per ogni campione fino a che tutti i risultati siano stati accettati o rifiutati. Per approvare diversi risultati contemporaneamente, evidenziare le righe dedicate con l'apposito selettore . Per evidenziare righe adiacenti, fare clic sul selettore di riga del primo elemento, tenere premuto il tasto sinistro del mouse e spostare il cursore sull'ultimo elemento da evidenziare mediante la rotellina del mouse. Tutte le righe nell'intervallo saranno evidenziate. Usare il tasto “CTRL” per la selezione multipla di righe non adiacenti. Facendo clic con il tasto destro nelle righe evidenziate si apre il menu contestuale, che può essere usato per approvare o rifiutare contemporaneamente i risultati di tutti i campioni evidenziati.

Nota

È possibile anche approvare i risultati dei campioni solo parzialmente e approvare in seguito gli altri risultati dei campioni di un dosaggio. La barra dei pulsanti offre i seguenti pulsanti per la gestione del processo di approvazione:

Save and close

Reset

Save

Close

Per	Fare clic su
<ul style="list-style-type: none">▪ Salvare tutte le modifiche▪ Andare alla schermata "Assay selection" (selezione dosaggio)	<p>Save and close</p>
<ul style="list-style-type: none">▪ Annullare tutte le modifiche▪ Tornare allo stato di approvazione salvato in precedenza; i grafici di amplificazione e le opzioni della tabella dei risultati non vengono resettati	<p>Reset</p>
<ul style="list-style-type: none">▪ Salvare tutte le modifiche e restare in questa schermata	<p>Save</p>
<ul style="list-style-type: none">▪ Rifiutare tutte le modifiche tornando allo stato precedente▪ Chiudere questa schermata e passare alla schermata "Assay selection" (selezione dosaggio)	<p>Close</p>

1.3.1.4 Principio dei pulsanti di approvazione nel plug-in base UDT

Approvazione di controlli esterni

Dopo aver fatto clic su "Start Approval" (inizia approvazione) nella schermata di selezione del dosaggio, viene visualizzata la schermata "Approval" (convalida). Nel plug-in base UDT, ai dati non elaborati è possibile applicare soltanto le regole e i parametri definiti in "Core Analysis" (analisi principale) e "Assay & Sample Analysis" (analisi di dosaggi e campioni) dell'ambiente "Development" (sviluppo). Il metodo di scansione automatica dei dati (AUDAS) non può essere applicato all'analisi dei dosaggi. Questo significa che le curve di amplificazione dei controlli esterni, quali standard di quantificazione, controlli senza template, controlli positivi ecc., e le curve di amplificazione dei campioni di analisi non possono essere controllate automaticamente da Rotor-Gene AssayManager v1.0 per riscontrare eventuali anomalie.

Nel plug-in base UDT, i risultati di tutti i controlli esterni devono essere approvati prima dei risultati dei campioni di analisi. Per questo motivo, all'inizio del processo di approvazione sono attivati soltanto i pulsanti di approvazione per i controlli esterni. I pulsanti di approvazione dei campioni di analisi saranno attivati non appena saranno approvati tutti i controlli esterni.

Nota

Durante il processo di approvazione in modalità UDT, controllare manualmente la forma delle curve di amplificazione per riscontrare eventuali anomalie e rifiutare i risultati dei controlli esterni con curve di amplificazione anomale.

L'elenco seguente fornisce una panoramica delle comuni anomalie da ricercare nelle curve di amplificazione:

- La curva di amplificazione contiene picchi?
- La fluorescenza della linea di base contiene una forte flessione?
- La fluorescenza della linea di base mostra un tratto ripido ascendente, indicando una crescita lineare troppo marcata?
- La fluorescenza della linea di base presenta eccessive fluttuazioni?
- La curva di amplificazione presenta saturazione?
- La curva di amplificazione contiene altre anomalie?

Se una o più di queste condizioni risultano soddisfatte, il risultato del corrispondente controllo esterno deve essere rifiutato. Questi controlli esterni sono quindi esclusi dall'analisi dei campioni di analisi. Sono state aggiunte caselle di controllo che consentono di ignorare i controlli non validi (A)

The screenshot shows the 'Results' window in the Rotor-Gene AssayManager software. It features a table with columns for 'Pos.', 'Style', 'Sample ID', 'Status', 'Type', 'Targets', 'Ct', 'Result', 'Flags', and 'Sample comment'. The table contains three rows of data for 'Sample ID' D1, each with two 'Targets' (Test and IC) and their respective 'Ct' and 'Result' values. Below the table, there are several control options: 'Conc. in' (Sample), 'Conc. unit' (IU/ul), 'Show IC' (checked), 'Ignore invalid controls' (unchecked), and 'Use scientific format' (checked). At the bottom, there are buttons for 'Create support package...', 'Save and close', 'Reset', 'Save', 'Close', and 'Release / report data...'. A red box labeled 'A' highlights the 'Ignore invalid controls' checkbox.

Pos.	Style	Sample ID	Status	Type	Targets	Ct	Result	Flags	Sample comment
1	[Icon]	D1		Test	Test	13.36	6,544,914.22 IU/ul	-	
					IC	31.42	Signal detected	-	
2	[Icon]	D1		Test	Test	13.40	6,379,977.20 IU/ul	-	
					IC	34.21	Signal detected	-	
3	[Icon]	D1		Test	Test	13.60	5,499,024.44 IU/ul	-	
					IC	34.33	Signal detected	-	

Nota

Il rifiuto di uno o più controlli esterni può comportare la non validità dell'intero dosaggio, sulla base delle regole definite nella sezione "Sample and Assay Analysis" (analisi di dosaggi e campioni) dell'ambiente "Development" (sviluppo).

Per le curve di amplificazione che non presentano alcuna delle anomalie sopra indicate, occorre utilizzare i pulsanti di approvazione per accettare o rifiutare il risultato dei controlli esterni fornito da Rotor-Gene AssayManager v1.0. La tabella seguente fornisce una panoramica dei diversi scenari:

Analisi di Rotor-Gene AssayManager v1.0	L'approvatore accetta il risultato dei controlli esterni	Comportamento dell'approvatore previsto
Il risultato dei controlli esterni è valido e visualizzato ("Signal detected" (segnale rilevato), "No signal" (nessun segnale) o concentrazione del target).	Sì	Fare clic su "Accepted" (accettato).
Il risultato dei controlli esterni è non valido, con la giustificazione di almeno un flag corrispondente.	Sì	Fare clic su "Accepted" (accettato).
Il risultato dei controlli esterni è valido e visualizzato ("Signal detected" (segnale rilevato), "No signal" (nessun segnale) o concentrazione del target).	No (ad es., le regole di analisi definite durante lo sviluppo del profilo di dosaggio non sono abbastanza rigorose e un risultato non valido non è individuato automaticamente da Rotor-Gene AssayManager v1.0)	Fare clic su "Rejected" (rifiutato).
Il risultato dei controlli esterni è non valido, con la giustificazione di almeno un flag corrispondente.	No (ad es., il risultato di un controllo esterno che apparentemente non presenta anomalie è stato impostato come non valido a causa di una regola di analisi troppo rigorosa definita durante lo sviluppo del profilo di dosaggio)	Fare clic su "Rejected" (rifiutato).

Nota

Un risultato impostato automaticamente come non valido da Rotor-Gene AssayManager v1.0 non può essere più convertito in un risultato valido neanche rifiutando il risultato.

Per l'approvazione di dosaggi quantitativi, la curva standard non viene visualizzata finché non sono stati approvati tutti i controlli esterni con lo stato "Accepted" (accettato) o "Rejected" (rifiutato). Dopo l'approvazione di tutti i controlli esterni, la curva standard e i relativi parametri dedicati, come l'efficienza, sono calcolati e visualizzati nella sottoscheda "Standard curve" (curva standard). Le risultanti concentrazioni dei target nei campioni di analisi sono calcolate sulla base della curva standard e visualizzate nell'area dei risultati dei campioni.

Nota

Se viene rifiutato uno standard di quantificazione valido, la curva standard sarà ricalcolata senza lo standard di quantificazione rifiutato. Tutti i campioni saranno poi analizzati secondo la curva standard ricalcolata.

Approvazione dei risultati dei campioni di analisi

Dopo l'approvazione dei controlli esterni, i risultati dei campioni di analisi sono analizzati e impostati automaticamente da Rotor-Gene AssayManager v1.0. I risultati devono essere approvati e rilasciati dall'utente che ha eseguito il login con il ruolo di approvatore.

Nota

Durante il processo di approvazione con il plug-in base UDT in modalità UDT, controllare manualmente la forma delle curve di amplificazione per riscontrare eventuali anomalie e rifiutare i risultati dei campioni con curve di amplificazione anomale.

L'elenco seguente fornisce una panoramica delle comuni anomalie da ricercare nelle curve di amplificazione:

- La curva di amplificazione contiene picchi?
- La fluorescenza della linea di base contiene una forte flessione?
- La fluorescenza della linea di base mostra un tratto ripido ascendente, indicando una crescita lineare troppo marcata?
- La fluorescenza della linea di base presenta eccessive fluttuazioni?
- La curva di amplificazione presenta saturazione?
- La curva di amplificazione contiene altre anomalie?

Se una o più di queste condizioni risultano soddisfatte, il risultato del corrispondente campione di analisi deve essere rifiutato.

Per le curve di amplificazione che non presentano alcuna delle anomalie sopra indicate, occorre utilizzare i pulsanti di approvazione per accettare o rifiutare il risultato dei campioni fornito da Rotor-Gene AssayManager v1.0. La tabella seguente fornisce una panoramica dei diversi scenari:

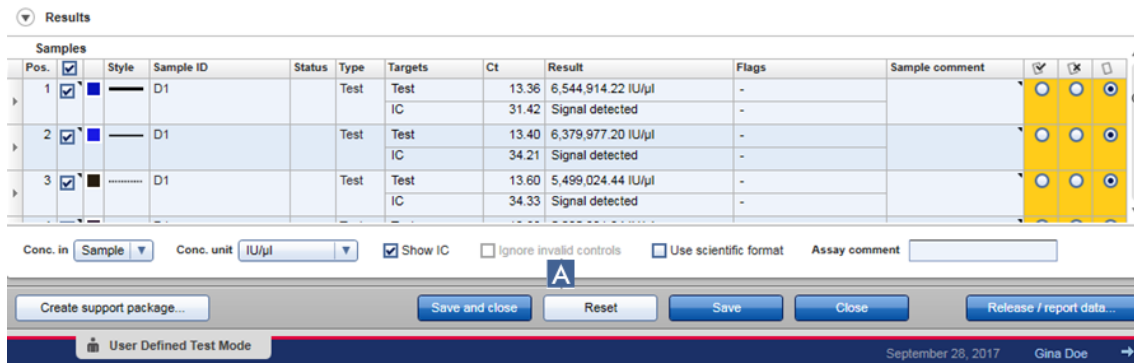
Analisi di Rotor-Gene AssayManager v1.0	L'approvatore accetta il risultato del campione di analisi	Comportamento dell'approvatore previsto
Il risultato del campione è valido e visualizzato ("Signal detected" (segnale rilevato), "No signal" (nessun segnale), o concentrazione target).	Sì	Fare clic su "Accepted" (accettato).
Il risultato del campione è non valido, con la giustificazione di almeno un flag corrispondente.	Sì	Fare clic su "Accepted" (accettato) e rianalizzare il campione.
Il risultato del campione è valido e visualizzato ("Signal detected" (segnale rilevato), "No signal" (nessun segnale) o concentrazione target).	No (ad es., le regole di analisi definite durante lo sviluppo del profilo di dosaggio non sono abbastanza rigorose e un risultato non valido non è individuato automaticamente da Rotor-Gene AssayManager v1.0)	Fare clic su "Rejected" (rifiutato) e rianalizzare il campione.
Il risultato del campione è non valido, con la giustificazione di almeno un flag corrispondente.	No (ad es., il risultato di un campione di analisi che apparentemente non presenta anomalie è stato impostato come non valido a causa di una regola di analisi troppo rigorosa definita durante lo sviluppo del profilo di dosaggio)	Fare clic su "Rejected" (rifiutato) e rianalizzare il campione.

Nota

Un risultato impostato automaticamente come non valido da Rotor-Gene AssayManager v1.0 non può essere più convertito in un risultato valido neanche rifiutando il risultato.

Ignorare controlli non validi

Il software plug-in base UDT di Rotor-Gene AssayManager v1.0 permette di ignorare controlli non validi nell'ambiente "Approval" (convalida). A tale scopo, fare clic sulla casella di controllo "Ignore invalid controls" (ignora controlli non validi) (A) e i risultati dei campioni non saranno invalidati.



Quando la casella di controllo è attivata, l'approvatore deve confermare il messaggio nella finestra di dialogo "Ignore invalid controls" (ignora controlli non validi).



Una volta confermato il messaggio, sono riportati i risultati validi dei campioni di analisi. Il referto contiene la frase "Invalid controls were overruled by the approver to enforce assay validity" (i controlli non validi sono stati ignorati dall'approvatore per imporre la validità del dosaggio)

Assay Information

Assay Profile:	APT_1P_ValidCheck_ignore_invalid_controls_UDT (Version 2.3.1)
Assay Kit:	Material number: 0937055 (deviating from assay profile), Lot number: 1234, Expiry date: 8/5/2015 (not expired)
Assay status:	Successful (Invalid controls were overruled by approver to enforce assay validity)

Opzioni della tabella “Results” (risultati)

Conc. in
 Conc. unit
 Show IC
 Ignore invalid controls
 Use scientific format
 Assay comment

A
B
C
D
E
F

Opzione	Spiegazione
A Conc. in <input type="text" value="Eluate"/>	A seconda della scelta effettuata in questo menu a tendina, la concentrazione rilevata sarà automaticamente calcolata per l'eluato oppure per il materiale del campione nel suo stato originale, ovvero prima della preparazione del campione. Questa funzione è disponibile soltanto per dosaggi quantitativi con un fattore di concentrazione definito nel profilo del dosaggio o quando un fattore di concentrazione è stato definito nell'ambiente “Approval” (convalida) ► Calcolo della concentrazione dei campioni.
B Conc. unit <input type="text" value="Default Unit"/>	Se nel profilo del dosaggio sono state definite diverse unità di concentrazione, questo menu è popolato con l'unità di concentrazione predefinita e le unità di concentrazione alternative. L'unità di concentrazione desiderata può essere selezionata da questo menu a tendina.
C <input checked="" type="checkbox"/> Show IC	Per impostazione predefinita, questa casella di controllo è attivata se un dosaggio contiene un target di tipo IC. Disattivare la casella di controllo per nascondere le informazioni IC (nome target, valore C_T , risultato e flag del risultato) dalla tabella “Results” (risultati).
D <input type="checkbox"/> Ignore invalid controls	Questa casella di controllo è disattivata e deselezionata per impostazione predefinita. La casella di controllo “Ignore invalid controls” (ignora controlli non validi) può essere attivata spuntando la casella di controllo “Enable to set assay to valid (UDT Mode)” (consenti l'impostazione del dosaggio come valido (modalità UDT)) nella scheda “Settings” (impostazioni) dell'ambiente “Configuration” (configurazione). “Ignore invalid

controls” (ignora controlli non validi) ha la seguente funzione:

- se un dosaggio in modalità UDT è non valido, è possibile impostarlo manualmente come valido spuntando la casella di controllo “Ignore invalid controls”. Se si utilizza questa funzione, vengono esclusi dall’analisi i singoli controlli esterni che sono stati valutati come non validi da Rotor-Gene AssayManager v1.0. I risultati dei campioni di analisi sono impostati come validi. Gli standard di quantificazione non validi saranno esclusi dal calcolo della curva standard. Se la casella di controllo “Ignore invalid controls” (ignora controlli non validi) viene usata per l’approvazione del dosaggio, ciò verrà indicato nel report dei risultati

E Use scientific format

Se questa casella di controllo è attivata, le concentrazioni nella colonna dei risultati del referto sono visualizzate in notazione scientifica

F
Assay comment

Campo di testo per inserire un commento sul dosaggio.
Il commento non deve superare i 256 caratteri.
Una volta rilasciato il primo campione, il commento non può essere più modificato.

Visualizzazione in notazione scientifica

Per visualizzare risultati quantitativi, il software plug-in base UDT di Rotor-Gene AssayManager v1.0 consente all’utente di scegliere tra la notazione scientifica e quella decimale nell’ambiente “Approval” (convalida) e nel referto. La schermata di convalida contiene una casella di controllo “Use scientific format” (usa notazione scientifica) posta nell’area dei risultati sotto la tabella dei risultati (**A**). Se questa casella di controllo è attivata, le concentrazioni nella colonna dei risultati del referto sono visualizzate in notazione scientifica (ad es., la concentrazione 222.732,63 IU/ml sarà visualizzata come 2,23E+05 IU/ml).

Samples													
Pos.	<input checked="" type="checkbox"/>	Style	Sample ID	Status	Type	Targets	Ct	Result	Flags	Sample comment	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
1	<input checked="" type="checkbox"/>	■	D1		Test	Test	13.36	6,544,914.22 IU/μl	-		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
						IC		31.42	Signal detected	-		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
2	<input checked="" type="checkbox"/>	■	D1		Test	Test	13.40	6,379,977.20 IU/μl	-		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
						IC		34.21	Signal detected	-		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
3	<input checked="" type="checkbox"/>	■	D1		Test	Test	13.60	5,499,024.44 IU/μl	-		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
						IC		34.33	Signal detected	-		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Conc. in: Conc. unit: Show IC Ignore invalid controls Use scientific format Assay comment:

User Defined Test Mode September 28, 2017 Gina Doe

Le colonne del referto “Test Results - Overview” (risultati analisi - panoramica) mostrano lo stato di approvazione di ogni campione e controllo (A), il risultato in unità di concentrazione e notazione scientifica (B) e gli eventuali flag assegnati a un target (C)

Id	Color	A		B		C
		Approval	Target	Ct	Result	Flags
D7	■	✓	Virus	32.29	2.86E+01 IU/ml	
			IC	26.85	Signal detected	

All concentrations given in this table are concentrations in the eluate

! This target has flags

✓ Accepted

x Rejected

1.3.1.5 Risultati del target

Rotor-Gene AssayManager v1.0 determina il risultato di un target combinando tutti i risultati delle relative analisi secondo opzioni di normalizzazione e regole per campioni e dosaggi definite nel profilo di dosaggio corrispondente. Il risultato del target può essere “Signal detected” (segnale rilevato), “No signal” (nessun segnale), la concentrazione calcolata del target combinata con l’unità selezionata, oppure “INVALID” (non valido).

1. Al target viene assegnato il risultato “Signal detected” (segnale rilevato) se viene rilevato un valore C_T e il dosaggio non è quantitativo. Anche i target quantitativi possono ottenere il risultato “Signal detected” (segnale rilevato) qualora non sia stato possibile calcolare la corrispondente curva standard.
2. Il target ottiene il risultato “No signal” (nessun segnale) se non viene rilevato alcun valore C_T .
3. Il target ottiene un valore di concentrazione se come risultato viene rilevato un valore C_T , il dosaggio è quantitativo e la quantificazione del target è riuscita. La concentrazione viene calcolata automaticamente in base all’unità di concentrazione selezionata.
4. Il risultato del target è impostato su “INVALID” (non valido) se durante l’analisi Rotor-Gene AssayManager assegna al campione uno o più flag definiti in modo tale da impostare su “INVALID” (non valido) il risultato del target. Se la casella di controllo “Enable processing of unclear samples” (abilita elaborazione dei campioni equivoci) nelle impostazioni di configurazione è disattivata, anche i risultati dei campioni con il

flag a monte “Unclear” (equivoco) (ad es. con flag assegnato da QIASymphony AS) sono impostati su “INVALID” (non valido).

1.3.1.6 Flag dei campioni

I seguenti flag dei campioni possono essere assegnati a singoli target durante l’analisi effettuata da Rotor-Gene AssayManager v1.0. Questo è un elenco completo di tutti i flag che possono presentarsi quando si usa il plug-in base UDT. A seconda delle impostazioni in un profilo di dosaggio specifico, è possibile che non tutti i flag siano pertinenti.

La comparsa di flag in Rotor-Gene AssayManager v1.0 può essere legata all’invalidazione del target corrispondente per un campione di analisi, un controllo o uno standard, oppure il flag è visualizzato solo come “avvertenza” senza conseguenze per il risultato. La sottostante colonna “Behavior” (comportamento) indica come Rotor-Gene AssayManager v1.0 reagisce a un certo flag. Per il flag di tipo “Variable” (variabile), il comportamento di Rotor-Gene AssayManager v1.0 dipende dalle impostazioni nel profilo di dosaggio specifico.

Flag	Comportamento	Descrizione
ABOVE_UPPER_LOQ	Variabile	Il limite superiore della quantificazione è stato superato. La concentrazione del target è troppo elevata. È presentato solo un risultato qualitativo.
ASSAY_INVALID	Non valido	Il dosaggio viene impostato come “non valido” perché almeno un controllo esterno è non valido.
BELOW_LOWER_LOQ	Variabile	Il limite inferiore di quantificazione non è stato raggiunto. La concentrazione del target è troppo bassa. È presentato solo un risultato qualitativo.
CONCENTRATION_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Variabile	La concentrazione del target è superiore alla concentrazione di cutoff definita.

CONCENTRATION_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Variabile	La concentrazione del target è inferiore alla concentrazione di cutoff definita.
CORRESPONDING_CONTROL_INVALID	Non valido	Il test viene impostato come "non valido" perché almeno un controllo esterno corrispondente è non valido.
CORRESPONDING_POSITIVE_CONTROL_TARGET_INVALID	Non valido	Il risultato del target viene impostato come "non valido" perché il controllo positivo corrispondente è non valido.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Variabile	Il valore C_T rilevato è superiore al C_T di cutoff definito.
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Variabile	Il valore C_T rilevato è inferiore al C_T di cutoff definito.
FLUORESCENCE_TOO_LOW	Variabile	Il segnale di fluorescenza è inferiore al valore di cutoff della fluorescenza definito.
FLUORESCENCE_TOO_STRONG	Variabile	Il segnale di fluorescenza è superiore al valore di cutoff della fluorescenza definito.
IC_INVALID	Non valido	Un controllo interno presente nella stessa provetta è non valido.
IC_NO_SIGNAL	Non valido	Nessun segnale viene rilevato per un controllo interno presente nella stessa provetta.
INHIBITION_BY_CT	Variabile	È stato superato il valore massimo definito per l'intervallo di C_T fra il valore di C_T per il controllo interno del campione e il valore di

		C_T per il controllo interno dell'NTC.
INHIBITION_BY_FLUORESCENCE	Variabile	È stato superato il valore massimo definito per la differenza di fluorescenza fra la fluorescenza del controllo interno dell'NTC e la fluorescenza del controllo interno del campione per l'ultimo ciclo.
LOW_FLUORESCENCE_CHANGE	Avvertenza	La variazione percentuale della fluorescenza per questo campione rispetto a quella della provetta di campione con la massima variazione della fluorescenza è inferiore a un limite definito. Questo flag corrisponde al flag NEG (NTC) del software Rotor-Gene e può comparire solo se la funzione "NTC threshold outlier removal" (rimozione valori estremi soglia NTC) del software Rotor-Gene è stata abilitata nel file .qit importato. Per maggiori informazioni consultare il <i>Manuale utente di Rotor-Gene Q</i> .
LOW_REACTION_EFFICIENCY	Avvertenza	L'efficienza di reazione per questo campione è inferiore a un limite definito. Questo flag corrisponde al flag NEG (R.Eff) del software Rotor-Gene e può comparire solo se la funzione "Reaction Efficiency Threshold outlier removal" (rimozione valori estremi soglia efficienza di reazione) del software Rotor-Gene è stata abilitata

		nel file .qit importato. Per maggiori informazioni consultare il <i>Manuale utente di Rotor-Gene Q</i> .
MAX_CORRELATION_IN_STANDARD_CURVE_EXCEEDED	Variabile	È stato superato un limite superiore per il valore R ² oppure un limite superiore per il valore R.
MAX_EFFICIENCY_EXCEEDED	Variabile	È stato superato il limite superiore per l'efficienza di reazione.
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	Non valido	La curva di amplificazione attraversa la soglia più di una volta. Non è possibile stabilire un valore C _T univoco. Questo flag corrisponde al flag "NEG (Multi C _T)" del software Rotor-Gene. Per maggiori informazioni consultare il <i>Manuale utente di Rotor-Gene Q</i> .
NO_CT_DETECTED	Variabile	Non viene rilevato alcun valore C _T per questo target.
NORM_FACTOR_ALTERATION	Avvertenza	Deviazione durante la procedura di normalizzazione. La curva di amplificazione è visualizzata con una normalizzazione predefinita; la correttezza dei risultati deve essere controllata manualmente.
OTHER_IC_INVALID	Non valido	Un controllo interno presente in un'altra provetta è non valido.
OTHER_IC_NO_SIGNAL	Non valido	Non viene rilevato alcun segnale per un controllo

		interno presente in un'altra provetta.
OTHER_TARGET_INVALID	Non valido	Un target presente in un'altra provetta è non valido.
OUT_OF_COMPUTATION_RANGE	Non valido	Il calcolo della concentrazione per questo campione supera il limite tecnico.
TOO_LESS_CORRELATION_IN_STANDARD_CURVE	Variabile	Un limite inferiore per il valore R ² oppure un limite inferiore per il valore R non è stato raggiunto.
TOO_LESS_EFFICIENCY	Variabile	Un limite inferiore per l'efficienza di reazione non è stato raggiunto.
TOO_MANY_QUANTIFICATION_STANDARDS_INVALID	Variabile	Il numero di standard di quantificazione non validi supera il numero richiesto.
UNCERTAIN	Variabile	I risultati della scansione automatica dei dati (AUDAS) sono in conflitto con i risultati dell'analisi principale. Non è possibile una valutazione automatica univoca della validità dei dati.
UNEXPECTED_CT_DETECTED	Variabile	È stato rilevato un valore C _T per un target che non dovrebbe essere amplificato.
UPSTREAM	Variabile	Lo stato dei campioni è stato impostato su "invalid" (non valido) o "unclear" (equivoco) da un processo a monte (ad es. da "QIASymphony Assay Setup" (setup del dosaggio di QIASymphony)).

		<p>Nota: per i flag “unclear” (equivoco) dei processi a monte, il comportamento di Rotor-Gene AssayManager v1.0 è definito nell’ambiente “Configuration” (configurazione) e non in “Assay Profile” (profilo di dosaggio). I flag “invalid” (non valido) di processi a monte hanno sempre come risultato un campione corrispondente non valido in Rotor-Gene AssayManager v1.0.</p>
--	--	---

- ▶ “Core Analysis” (analisi principale)
- ▶ Analisi di dosaggi e campioni

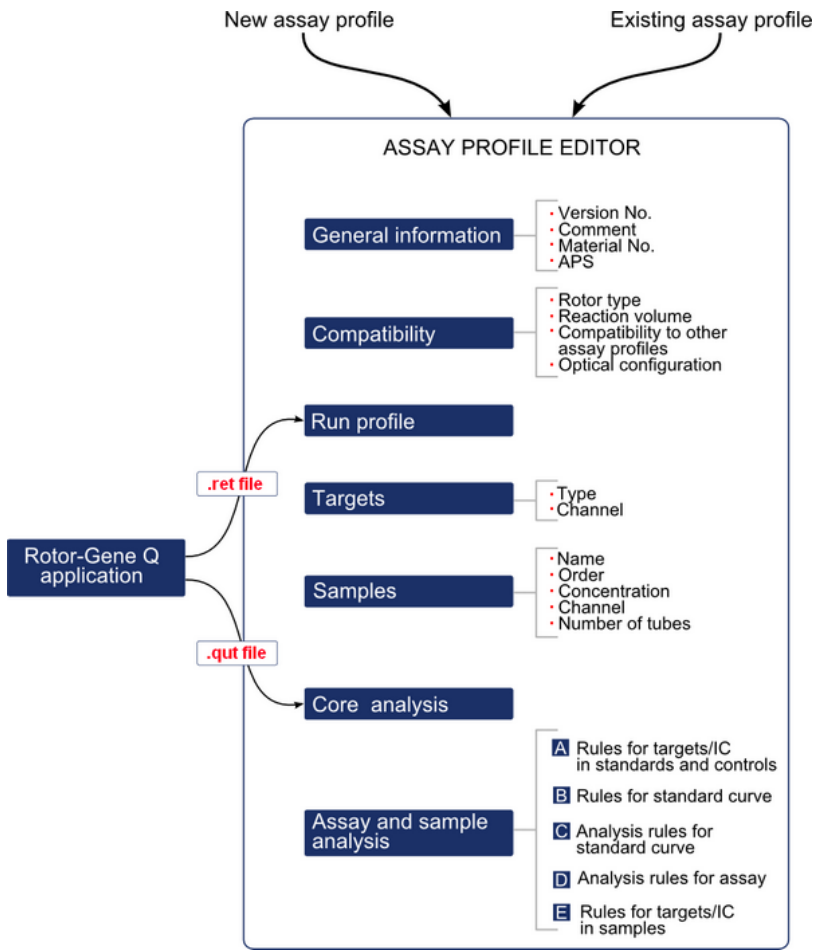
1.3.2 Ambiente “Development” (sviluppo)

L’ambiente “Development” (sviluppo) del plug-in base UDT consente all’utente di progettare i propri profili di dosaggio. I dosaggi corrispondenti devono essere stati precedentemente ottimizzati usando il software Rotor-Gene standard. I file template di analisi della quantificazione e degli esperimenti di Rotor-Gene derivanti dal software Rotor-Gene possono essere importati in Rotor-Gene AssayManager e completati in un profilo di dosaggio.

1.3.2.1 Flusso di lavoro generale dello sviluppo del profilo di dosaggio

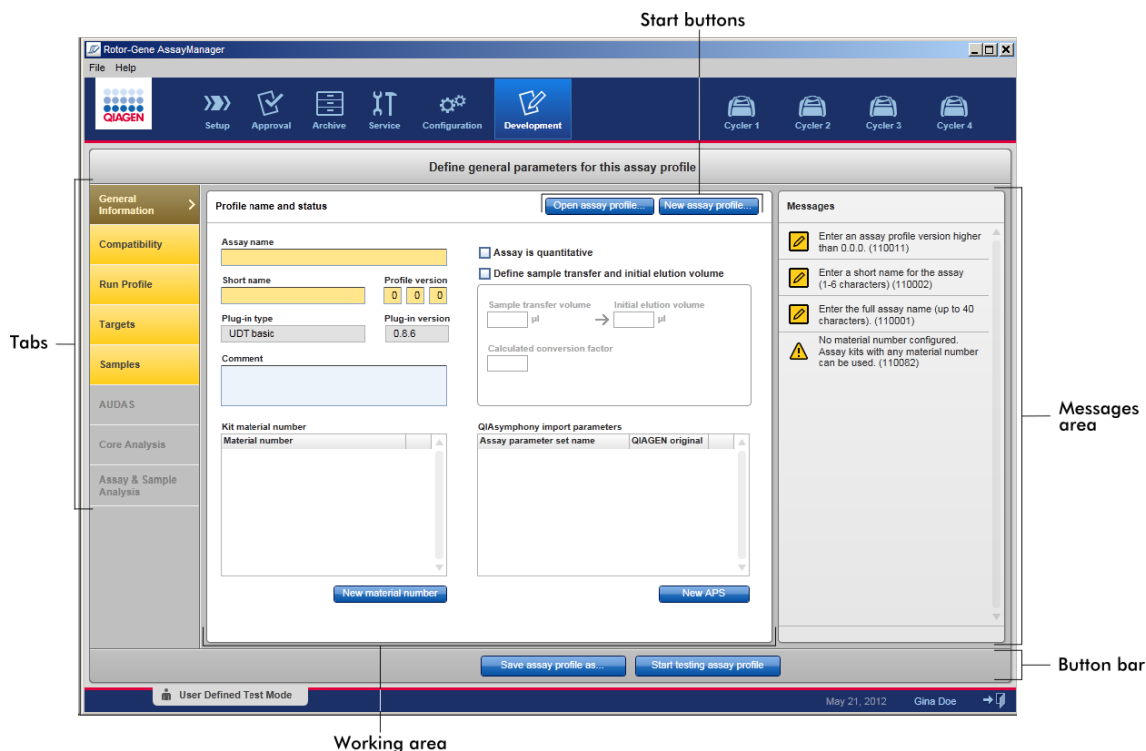
È possibile creare un profilo di dosaggio modificando un profilo di dosaggio esistente o creandone uno nuovo. Il flusso di lavoro generale nell’editor dei profili di dosaggio prevede otto passaggi che sono suddivisi in otto schede. Lo sviluppatore dei dosaggi inserisce le informazioni necessarie in ogni passaggio tranne “Run profile” (profilo del processo) e “Core analysis” (analisi principale), per cui le informazioni necessarie sono importate dal software Rotor-gene Q utilizzando i file *.ret (template dell’esperimento di Rotor-Gene) e *.qut (template dell’analisi di quantificazione).

Il profilo di dosaggio può essere salvato e importato nel database di Rotor-Gene AssayManager dopo aver inserito tutte le informazioni a condizione che non si sia verificato alcun errore.



1.3.2.2 Descrizione generale dell'interfaccia grafica utente (GUI)

L'ambiente "Development" (sviluppo) contiene i seguenti elementi:



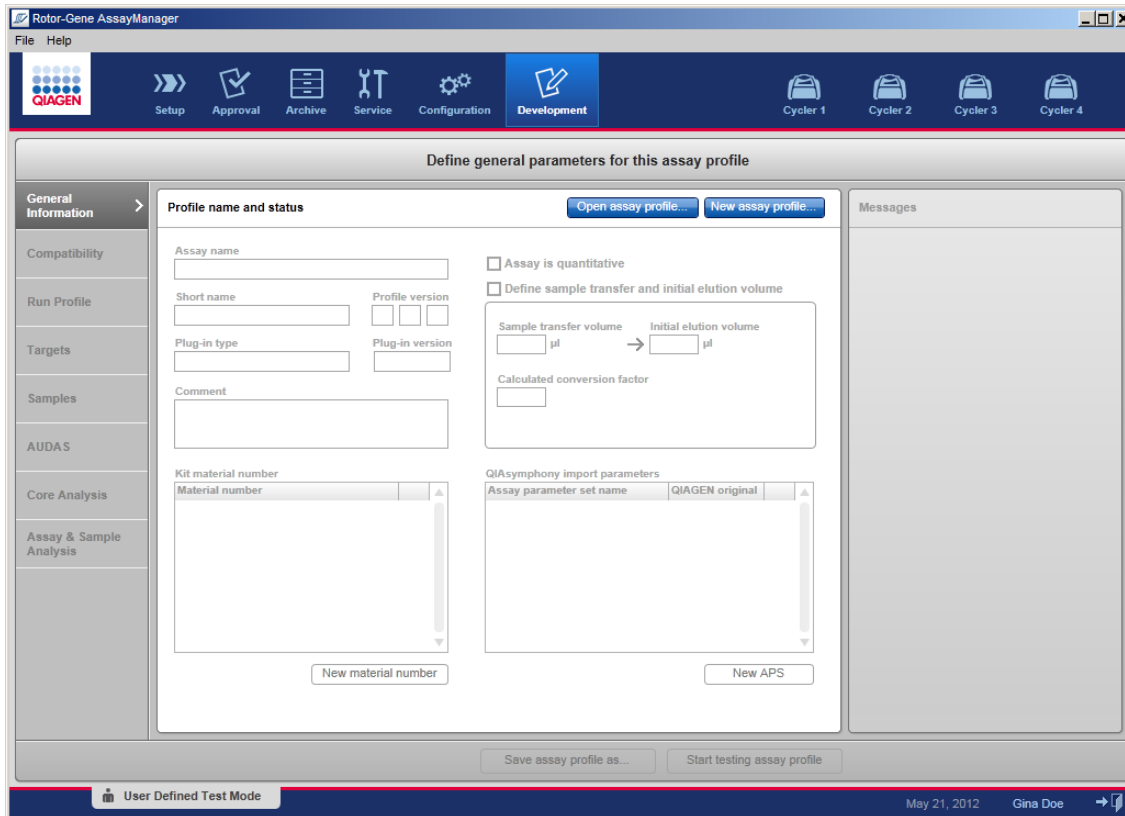
- Pulsanti di avvio
- Schede
- Area "Messages" (messaggi)
- Area operativa
- Barra dei pulsanti

Pulsanti di avvio



I pulsanti di avvio vengono utilizzati per iniziare a lavorare sullo sviluppo del profilo di dosaggio.

Quando un utente passa all'ambiente "Development" (sviluppo), sono abilitati soltanto due pulsanti di avvio:



Un profilo di dosaggio può essere personalizzato creando un nuovo profilo di dosaggio (pulsante "New assay profile..." (nuovo profilo di dosaggio...)) oppure aprendo e modificando un profilo di dosaggio esistente (pulsante "Open assay profile..." (apri profilo di dosaggio...)).

Schede

L'intero processo di creazione/modifica di un profilo di dosaggio è suddiviso in otto diverse schede:

- "General Information" (informazioni generali)
- "Compatibility" (compatibilità)
- "Run Profile" (profilo del processo)
- "Targets" (target)
- "Samples" (campioni)
- "AUDAS"
- "Core Analysis" (analisi principale)
- "Assay & Sample Analysis" (analisi di dosaggi e campioni)

Area operativa

Il contenuto e il layout dell'area operativa dipendono dalla scheda attiva.

Area "Messages" (messaggi)

L'area dei messaggi contiene tutte le avvertenze, gli errori e le informazioni relativi al passaggio corrente.

Barra dei pulsanti

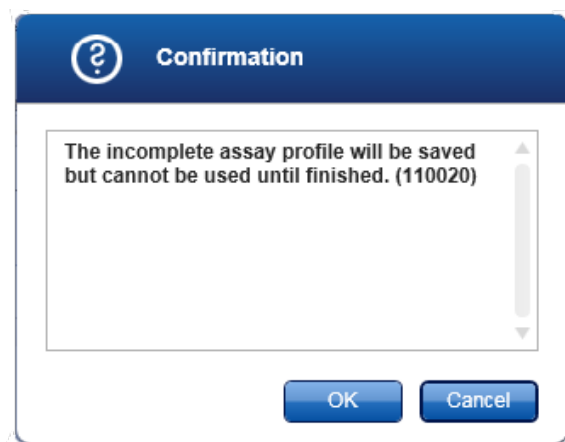
La barra dei pulsanti posta nella parte inferiore della schermata è disponibile non appena nome del dosaggio, nome abbreviato e versione del profilo vengono definiti nella sottoscheda "General information" (informazioni generali). La barra dei pulsanti contiene due pulsanti che consentono di salvare il profilo di dosaggio e di analizzare il profilo di dosaggio quando è pronto.



Descrizione

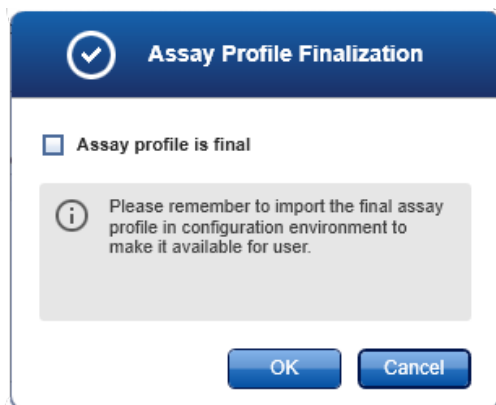
A Salvare il profilo del dosaggio.

- Se questo pulsante viene premuto prima che sia finito lo sviluppo del profilo di dosaggio e tutti i dati obbligatori siano stati inseriti, compare il seguente messaggio:



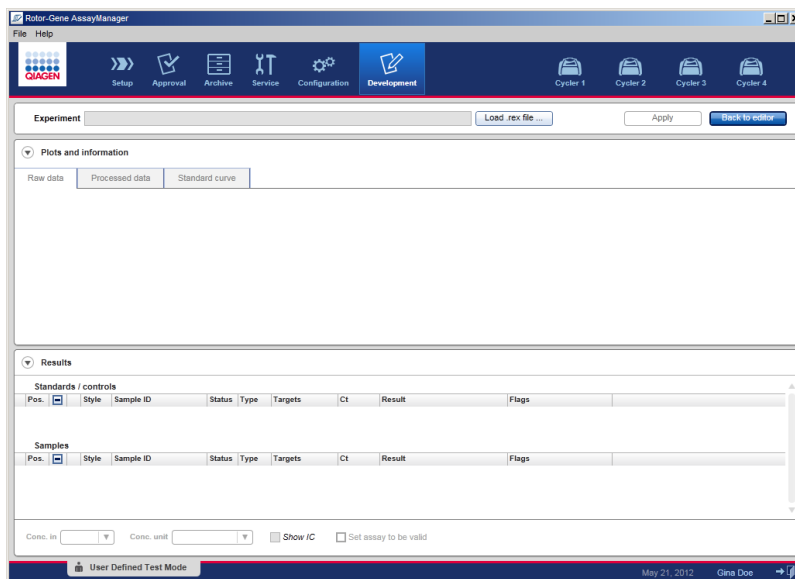
Prima di potere utilizzare il profilo di dosaggio, è necessario inserire i dati mancanti nelle schede evidenziate in giallo.

- Se tutti i dati obbligatori sono stati inseriti, facendo clic sul pulsante “Save assay profile as...” (salva il profilo di dosaggio con nome) si apre la seguente finestra di dialogo:



L'utente deve attivare la casella di controllo “Assay profile is final” (il profilo di dosaggio è definitivo). Soltanto i profili di dosaggio con questa opzione attivata possono essere importati nell'ambiente “Configuration” (configurazione) per essere usati successivamente.

- B** Analizzare il profilo di dosaggio sviluppato ed eseguire un'analisi virtuale dell'esperimento PCR terminato in precedenza. Utilizzando questo pulsante, si apre una schermata che consente di caricare un file *.rex da un esperimento effettuato con il software Rotor-Gene o anche con Rotor-Gene AssayManager.



Per maggiori informazioni e per una procedura dettagliata, consultare ► **Analisi di un profilo di dosaggio**

1.3.2.3 Uso dell'ambiente "Development" (sviluppo)

L'ambiente "Development" (sviluppo) viene utilizzato per creare un nuovo profilo di dosaggio partendo da zero o modificando un profilo di dosaggio esistente. Entrambe le alternative seguono lo stesso flusso di lavoro ma la modifica di un profilo di dosaggio esistente ha un diverso punto di partenza: occorre aprire un profilo di dosaggio esistente.

Il profilo di dosaggio creato o modificato può essere analizzato in un passaggio finale.

Attività assegnate all'ambiente "Development" (sviluppo):

- Creazione di un profilo di dosaggio
- Modifica di un profilo di dosaggio
- Analisi di un profilo di dosaggio

Per svolgere le prime due attività, sono necessari file aggiuntivi tratti dall'applicazione Rotor-Gene. Queste attività sono descritte in due argomenti distinti:

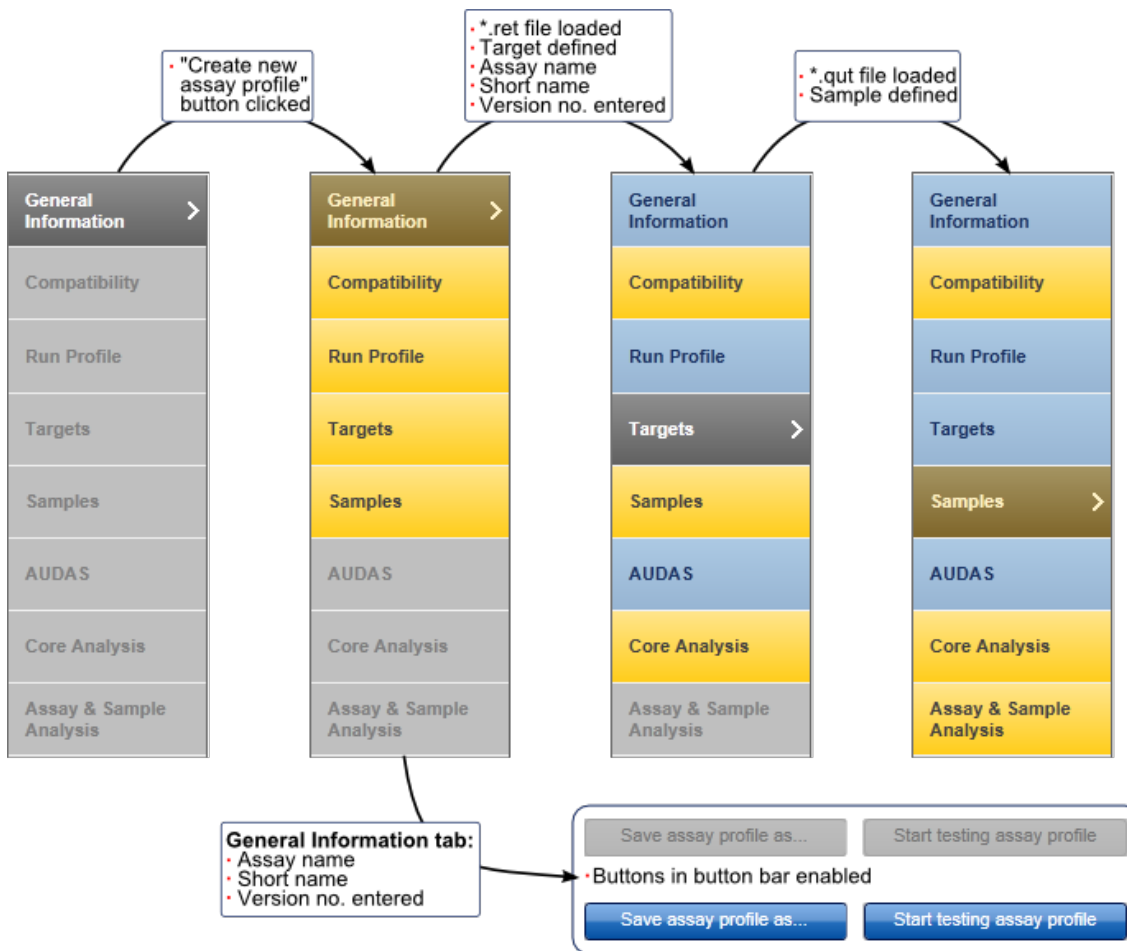
- Creazione di un file *.qut
- Creazione di un file *.ret

Creazione di un profilo di dosaggio

Le fasi per creare un profilo di dosaggio sono contenute nell'ambiente "Development" (sviluppo).

Comportamento dell'ambiente "Development" (sviluppo)

Quando viene creato un nuovo profilo di dosaggio, le prime cinque schede si attivano e assumono il colore giallo. I pulsanti "Save assay profiles as..." (salva dosaggio con nome) e "Start testing assay profile" (avvia l'analisi del profilo di dosaggio) nella barra dei pulsanti sono inizialmente disabilitati. Questi pulsanti vengono abilitati quando vengono inseriti valori validi nei campi obbligatori della scheda "General Information" (informazioni generali). Ciò consente di salvare un profilo di dosaggio e continuare a lavorarvi in un momento successivo. I pulsanti necessari per creare nuovi target e campioni nelle schede "Targets" (target) e "Samples" (campioni) all'inizio sono disabilitati; vengono abilitati se viene caricato un file *.ret nella scheda "Run Profile" (profilo del processo). Dopo avere definito un target, vengono abilitate le schede "AUDAS" e "Core Analysis" (analisi principale). La scheda "Assay & Sample Analysis" (analisi di dosaggi e campioni) è abilitata quando nella scheda "Samples" (campioni) è definito un campione.

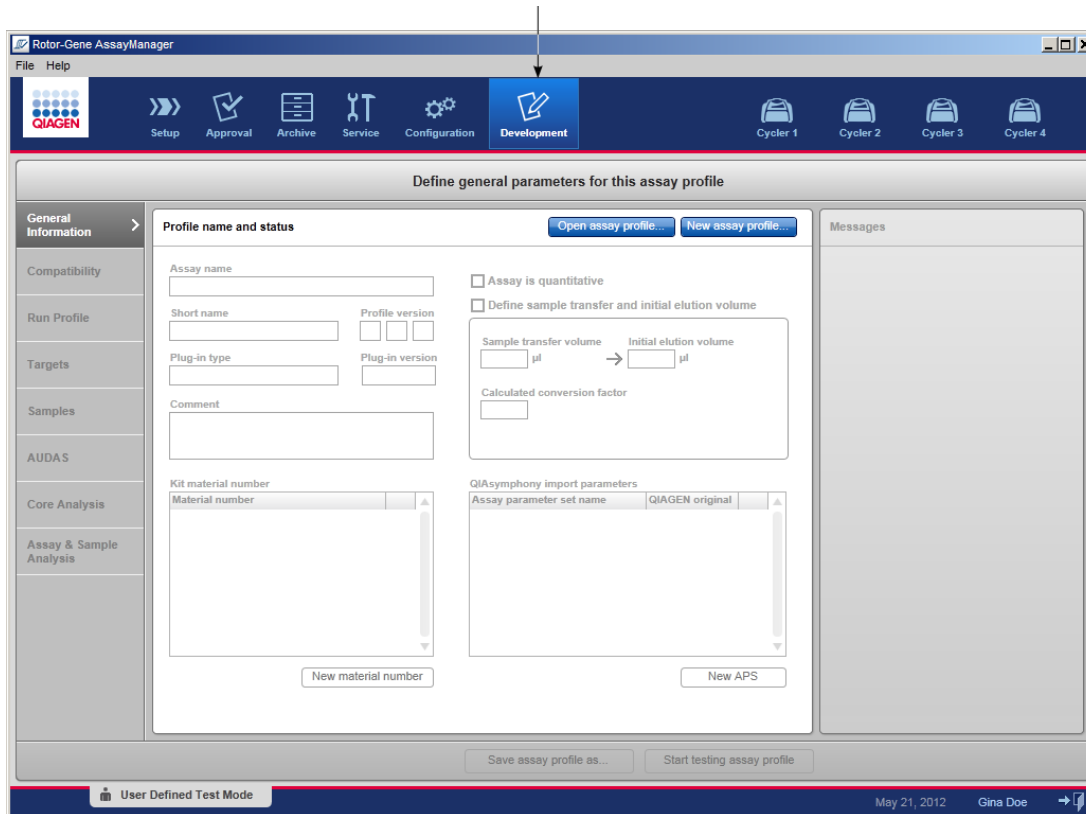


Procedura dettagliata per la creazione di un profilo di dosaggio

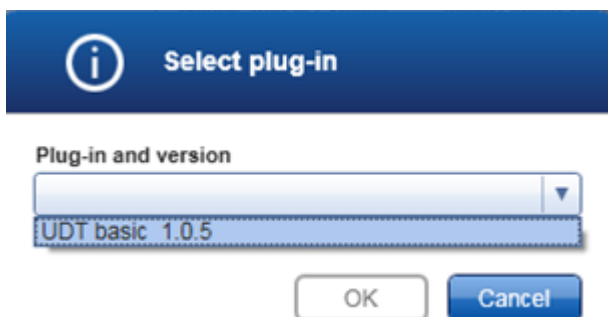
Condizione preliminare: nelle fasi “Run profile” (profilo del processo) e “Core Analysis” (analisi principale) sono necessari almeno un file *.qut e un file *.ret. Questi file devono essere creati con il software Rotor-Gene. Per maggiori informazioni si rimanda a:

- ▶ Creazione di un file *.qut
- ▶ Creazione di un file *.ret

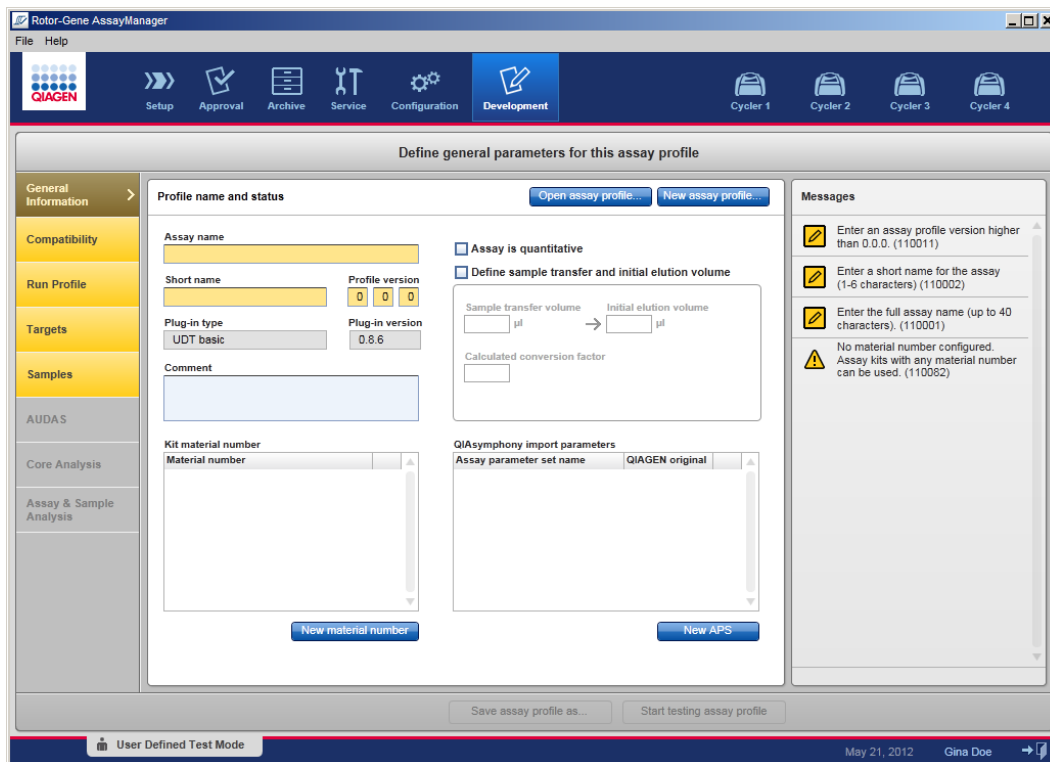
1. Fare clic sull'icona "Development" (sviluppo) per passare all'ambiente "Development" (sviluppo).



2. Si apre l'ambiente "Development" (sviluppo). In questo stato iniziale sono abilitati soltanto due pulsanti, "Open assay profile..." (apri profilo di dosaggio...) e "New assay profile..." (nuovo profilo di dosaggio...). Tutti gli altri elementi sono disabilitati.
3. Fare clic su "New assay profile..." (nuovo profilo di dosaggio).
4. Si apre la finestra di dialogo "Select plug-in" (seleziona plug-in).

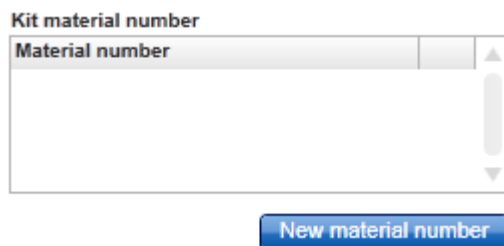


5. Selezionare la voce “UDT basic” (UDT base) dall’elenco a discesa “Plug-in and version” (plug-in e versione).
6. Fare clic su “OK”.
7. La finestra di dialogo si chiude. Le prime cinque schede sono abilitate. Le schede sono evidenziate in giallo, a indicare che risultano mancanti voci obbligatorie. La scheda “General Information” (informazioni generali) è attiva; i campi “Assay name” (nome del dosaggio), “Short name” (nome abbreviato) e “Profile version” (versione del profilo) sono anch’essi evidenziati in giallo. Nell’area “Messages” (messaggi) sono visualizzati i messaggi corrispondenti.

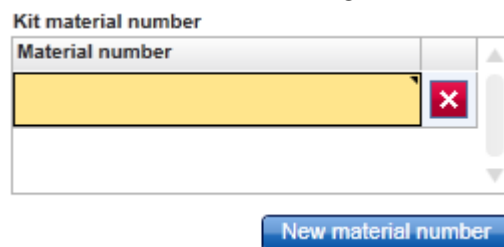



8. Digitare un nome per il profilo di dosaggio con un massimo di 40 caratteri nel campo “Assay name” (nome del dosaggio).
9. Digitare un nome abbreviato con un massimo di 6 caratteri nel campo “Short name” (nome abbreviato).
10. Inserire la versione del profilo di dosaggio.
11. Fasi opzionali nella scheda “General Information” (informazioni generali).
 - Digitare un commento
Digitare un commento specifico per questo profilo di dosaggio nel campo “Comment” (commento).

- Definire un numero di materiale del kit
L'utente può definire i numeri di materiale per i kit di dosaggio da utilizzare insieme al profilo di dosaggio. Il numero di materiale inserito durante l'impostazione dell'elenco di lavoro o trasferiti dal file dei risultati di QIA Symphony AS deve corrispondere al numero del materiale inserito in questo punto. In caso contrario, il processo non può essere avviato.
 - a) Fare clic su "New material number" (nuovo numero di materiale).



Viene inserita una nuova riga di numero di materiale, evidenziata in giallo.



- b) Digitare un numero di materiale.
Il nuovo numero del materiale è visualizzato nella tabella "Kit material number" (numero di materiale del kit).
Ripetere i passaggi a-b per inserire altri numeri di materiale.
Nota: fare clic sull'icona  per rimuovere un numero di materiale.

- Definire un profilo di dosaggio come quantitativo
Spuntare la casella di controllo "Assay is quantitative" (il dosaggio è quantitativo) per definire il dosaggio come quantitativo. In questo caso, deve essere aggiunto almeno un target quantitativo.

Assay is quantitative

Nota

Se il dosaggio non contiene standard di quantificazione, la casella di controllo deve essere deselezionata.

- Definire il volume di trasferimento del campione e il volume iniziale
Spuntare la casella di controllo "Define sample transfer and initial elution volume"

(definisci il volume di trasferimento dei campioni e il volume di eluizione iniziale) per permettere il calcolo automatico della concentrazione target per il materiale originale del campione.

The image shows two screenshots of a software interface, connected by a downward-pointing arrow. Both screenshots show a section titled "Define sample transfer and initial elution volume".

The top screenshot shows the checkbox for "Define sample transfer and initial elution volume" is unchecked. Below the title, there are two input fields: "Sample transfer volume" and "Initial elution volume", both followed by the unit "µl". An arrow points from the "Sample transfer volume" field to the "Initial elution volume" field. Below these fields is a third input field labeled "Calculated concentration factor".

The bottom screenshot shows the same section, but the checkbox is now checked. The "Sample transfer volume" and "Initial elution volume" input fields are highlighted in yellow. The "Calculated concentration factor" field is highlighted in grey.

- Spuntare la casella di controllo "Define sample transfer and initial elution volume" (definisci il volume di trasferimento dei campioni e il volume di eluizione iniziale).
I campi "Sample transfer volume" (volume di trasferimento del campione) e "Initial elution volume" (volume di eluizione iniziale) vengono abilitati ed evidenziati in giallo.
- Inserire il volume del campione da trasferire al processo di purificazione degli acidi nucleici nel campo "Sample transfer volume" (volume di trasferimento del campione).
- Inserire il volume inizialmente utilizzato per l'eluizione nel campo "Initial elution volume" (volume di eluizione iniziale).
Il fattore di concentrazione risultante sarà calcolato automaticamente da Rotor-Gene AssayManager e riportato nel campo "Calculated concentration factor" (fattore di concentrazione calcolato).

Se questa informazione non viene inserita, Rotor-Gene AssayManager può calcolare soltanto la concentrazione target nell'eluato.

- Definire un set di parametri di dosaggio (APS)
Quando si utilizza QIASymphony per la purificazione degli acidi nucleici e per l'impostazione del dosaggio, è possibile trasferire a Rotor-Gene AssayManager le informazioni riguardanti i campioni e i processi. Per collegare le informazioni di QIASymphony al profilo di dosaggio corretto, fare clic su "New APS" (nuovo APS) per inserire il nome del set dei parametri di dosaggio dedicato. Il nome dell'APS nel profilo di dosaggio deve corrispondere esattamente al nome dell'APS nel file dei risultati di QIASymphony AS; in caso contrario, non sarà possibile importare il file dei risultati in Rotor-Gene AssayManager.

a) Fare clic su "New APS" (nuovo APS).

Assay parameter set name	QIAGEN original
	QIAGEN original

New APS

Viene inserita una nuova riga di APS, evidenziata in giallo.

Assay parameter set name	QIAGEN original
	<input type="checkbox"/> ✖

New APS

b) Inserire un nome per l'APS.

Il nuovo nome dell'APS viene visualizzato nella tabella dei parametri di importazione di QIASymphony.

c) Spuntare la casella di controllo "QIAGEN original" (originale QIAGEN) se il set di parametri di dosaggio è quello originale di QIAGEN. Deselezionare in caso contrario.

Ripetere i passaggi a-c per inserire altri nomi di APS.

Nota: fare clic sull'icona ✖ per rimuovere un nome di APS.

12. Andare alla scheda "Compatibility" (compatibilità) per impostare i parametri di compatibilità del profilo di dosaggio. Le funzioni contenute in questa finestra di dialogo permettono di limitare la compatibilità del dosaggio soltanto ai rotori, volumi o

tipi di strumento che sono stati testati nella validazione del dosaggio.

Compatibility parameters

Rotor types

- 36-Well Rotor
- 72-Well Rotor
- Rotor-Disc 72
- Rotor-Disc 100

Reaction vol. (µl)

New volume

Cycling compatibility to other assay profiles

- Restricted by cycling profile (default)
- Exclusive use only
- Restricted by cycling group

Cycling group name

Optical configuration

- Unrestricted
- Restricted

Optical configuration

- 6plex
- 2plex
- 2plex HRM
- 5plex

- Definire la compatibilità per il tipo di rotore

Rotor types

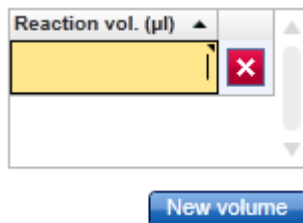
- 36-Well Rotor
- 72-Well Rotor
- Rotor-Disc 72
- Rotor-Disc 100

Spuntare le caselle di controllo dei tipi di rotori con cui il profilo di dosaggio sarà compatibile. È possibile selezionare più tipi.

- Definire il volume di reazione
 - a) Fare clic su “New volume” (nuovo volume).



Viene inserita una nuova riga di volume di reazione, evidenziata in giallo.



- b) Inserire un volume di reazione. Quando è necessario inserire un separatore decimale, la configurazione della lingua impostata sul proprio computer stabilisce se deve trattarsi di una virgola o di un punto. Ad esempio, su un sistema tedesco per i decimali si deve utilizzare la virgola (25,5 µl). Su un sistema americano, invece, per i decimali si deve utilizzare il punto (25.5 µl).
 Il nuovo volume di reazione viene visualizzato nella tabella “Reaction vol.” (volume di reazione).
 Ripetere i passaggi a) e b) per aggiungere altri volumi di reazione.

- Definire le condizioni di compatibilità con altri profili di dosaggio
 Nell’area “Cycling compatibility to other assay profiles” (compatibilità di ciclizzazione con altri profili di dosaggio) sono disponibili tre opzioni:

Cycling compatibility to other assay profiles

Restricted by cycling profile (default)
 Exclusive use only
 Restricted by cycling group

Cycling group name

- “Restricted by cycling profile (default)” (limitata dal
 I profili di dosaggio che condividono le stesse condizioni di ciclizzazione della temperatura

profilo di ciclizzazione (impostazione predefinita))

possono essere applicati in parallelo sullo stesso rotore.

- “Exclusive use only” (a solo uso esclusivo)

Il profilo di dosaggio non può essere combinato con altri profili di dosaggio anche se si applicano esattamente le stesse condizioni di ciclizzazione.

- “Restricted by cycling group” (limitata dal gruppo di ciclizzazione)

Il profilo di dosaggio può essere applicato con altri profili di dosaggio che condividono lo stesso gruppo di ciclizzazione. Quando si usa questa opzione, è necessario inserire il nome di un gruppo di ciclizzazione.

Questo nome deve corrispondere al nome del gruppo di ciclizzazione degli altri profili di dosaggio che devono essere compatibili. I profili di dosaggio che condividono lo stesso gruppo di ciclizzazione devono condividere anche le stesse condizioni di ciclizzazione della temperatura.

- Definire i parametri di compatibilità della configurazione ottica
Definire se il profilo di dosaggio può essere applicato a strumenti Rotor-Gene Q con qualsiasi configurazione ottica oppure limitare la configurazione ottica selezionando la configurazione ottica appropriata.

Optical configuration

Unrestricted
 Restricted

Optical configuration

- 6plex
- 2plex
- 2plex HRM
- 5plex

“Unrestricted” (non limitato) significa che il profilo di dosaggio può essere applicato a qualsiasi strumento Rotor-Gene Q tecnicamente compatibile.
“Restricted” (Limitato) significa che il profilo di dosaggio può essere applicato soltanto a uno strumento Rotor-Gene Q con le configurazioni ottiche definite nel

passaggio successivo.

Spuntare la casella di controllo della configurazione ottica a cui sarà limitato il profilo di dosaggio. È possibile selezionare più configurazioni ottiche.

Optical configuration

Unrestricted

Restricted

Optical configuration

6plex

2plex

2plex HRM

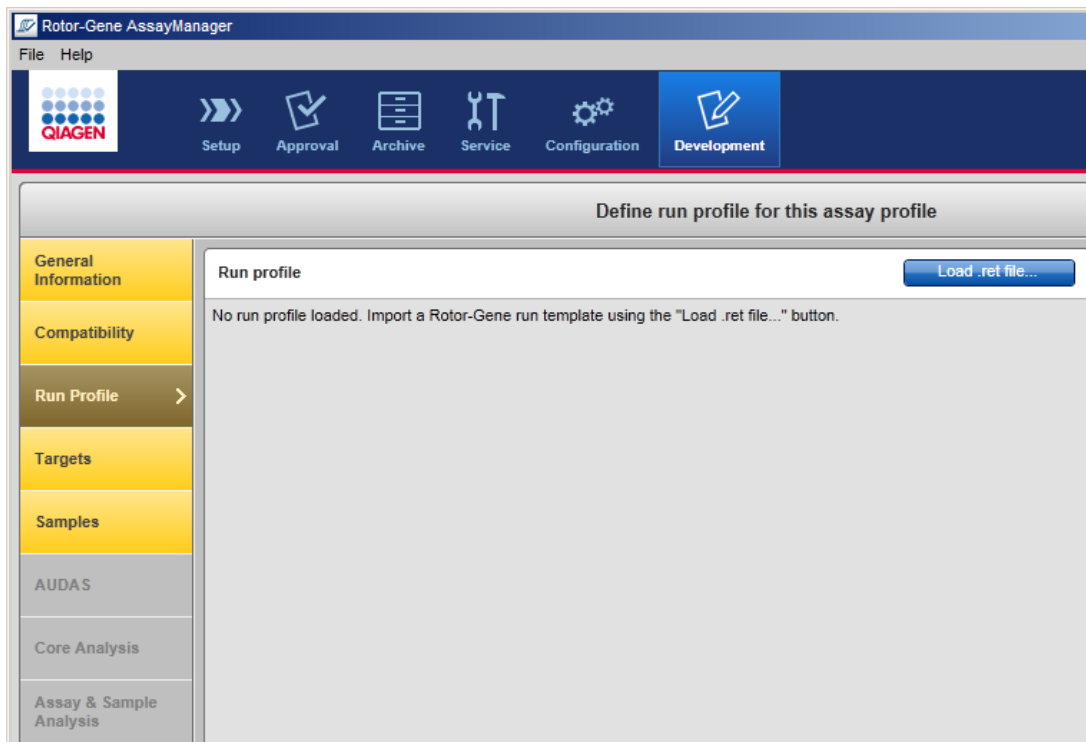
5plex

Per maggiori dettagli sulla configurazione ottica dello strumento Rotor-Gene Q, consultare il *manuale utente di Rotor-Gene Q*.

Nota

I profili di dosaggio non possono mai essere applicati a strumenti Rotor-Gene Q con meno canali di acquisizione di quelli richiesti dal profilo di dosaggio. Tale condizione viene evitata con Rotor-Gene AssayManager. L'area "Optical configuration" (configurazione ottica) viene utilizzata dallo sviluppatore del profilo di dosaggio per impostare regole di compatibilità aggiuntive; ad esempio, il profilo di dosaggio deve essere applicabile soltanto a strumenti 5plex HRM® anche se è tecnicamente compatibile con uno strumento 2plex o 2plex HRM.

13. Andare alla scheda “Run Profile” (profilo del processo) per caricare un file *.ret.

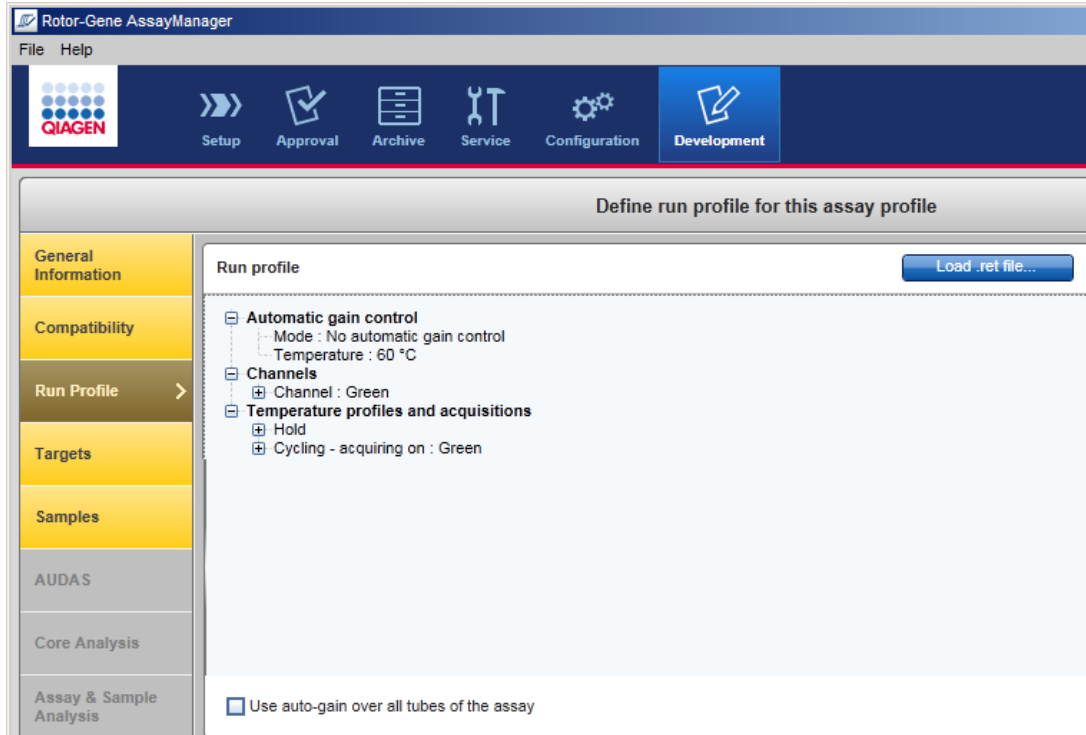


14. Fare clic su “Load *.ret file” (carica file *.ret).

Si apre la finestra di dialogo di selezione del file.

15. Sfogliare fino alla directory che contiene il file *.ret, selezionarlo e fare clic su “OK”.

16. Il file *.ret viene caricato e vengono mostrati i parametri del profilo del processo:



Il profilo del processo è diviso in tre sezioni:

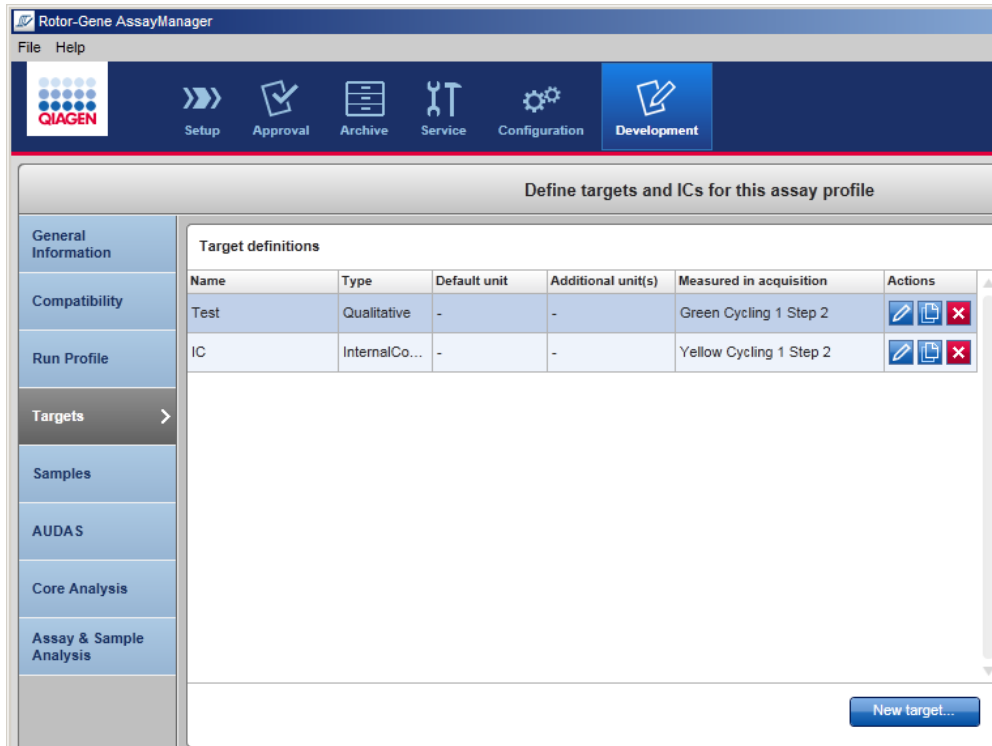
- “Automatic gain control” (controllo gain automatico)
- “Channels” (canali)
- “Temperature profiles and acquisitions” (profili di temperatura e acquisizioni)

Nota

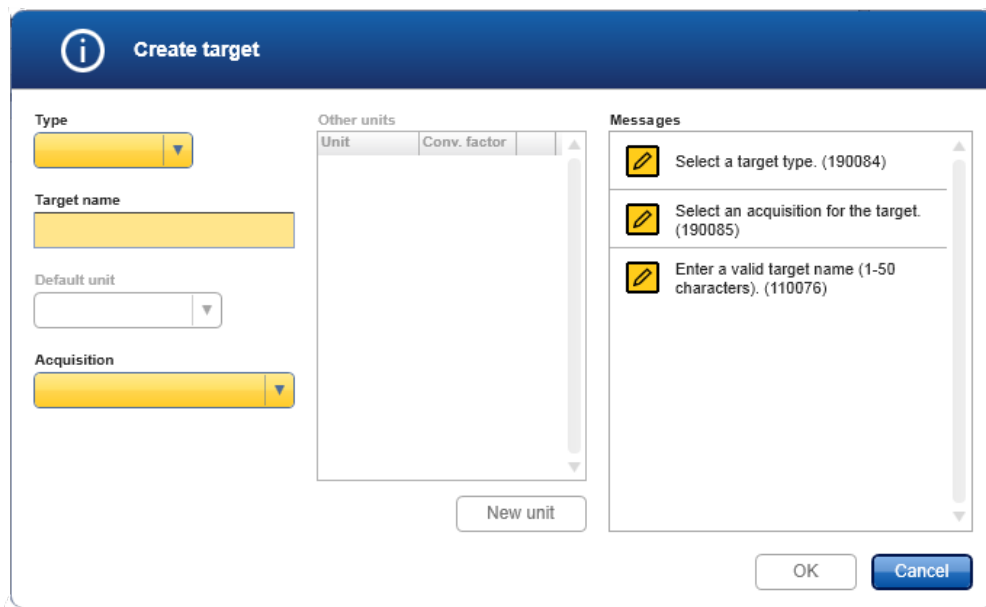
Le impostazioni del processo non possono essere modificate con Rotor-Gene AssayManager.

17. Spuntare la casella di controllo “Use auto-gain over all tubes of the assay” (usa auto-gain su tutte le provette del dosaggio) nella parte inferiore della schermata (usa auto-gain su tutte le provette del dosaggio) per applicare l’ottimizzazione auto-gain a tutte le posizioni riservate del rotore, non solo alla posizione del rotore definita durante la configurazione del processo nel software Rotor-Gene. Se la casella “Use auto-gain over all tubes of the assay” (usa auto-gain su tutte le provette del dosaggio) è spuntata, per ottimizzare l’impostazione del gain viene utilizzata la fluorescenza mediana misurata in tutte le provette del dosaggio. Questa opzione si applica a tutti i diversi canali di acquisizione e alle fasi definite in quel profilo di dosaggio.

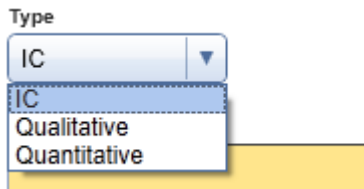
18. Andare alla scheda “Targets” (target) per definire i target.



19. Fare clic su “New target...” (nuovo target) per definire i target del profilo di dosaggio. Si apre la seguente finestra di dialogo:



20. Selezionare un tipo di target dall'elenco a discesa "Type" (tipo).



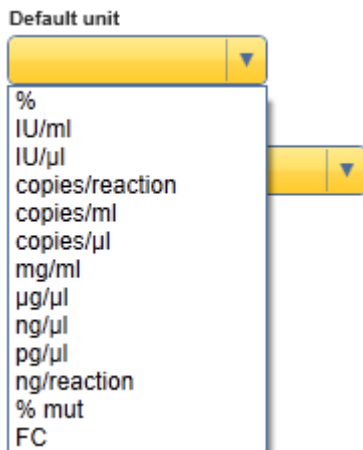
Nota

Nella scheda "General Information" (informazioni generali), il profilo di dosaggio è impostato come quantitativo o non quantitativo. Per tale motivo, i tipi di target disponibili nel passaggio "Targets" (target) saranno differenti:

- se il profilo di dosaggio è quantitativo, è possibile selezionare "IC" (controllo interno), "Qualitative" (qualitativo) o "Quantitative" (quantitativo).
- se il profilo di dosaggio non è quantitativo, è possibile selezionare "IC" (controllo interno) o "Qualitative" (qualitativo).

21. Digitare un nome per il target con un massimo di 50 caratteri nel campo "Target name" (nome del target).

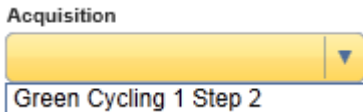
22. Per i target quantitativi, selezionare l'unità di concentrazione predefinita dall'elenco a discesa "Default unit" (unità predefinita).



Nota

Questo elenco a discesa è attivato unicamente per i target del tipo "Quantitative" (quantitativo).

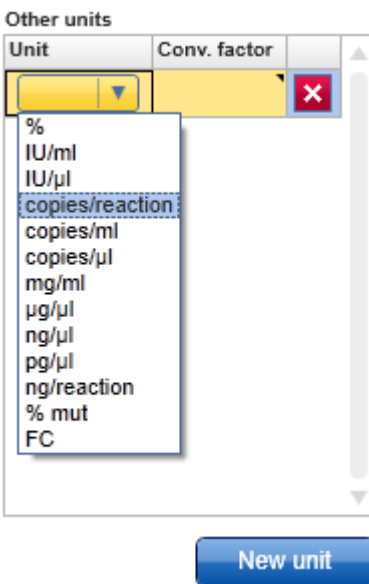
23. Nell'elenco a discesa "Acquisition" (acquisizione) sono elencati tutti i passaggi di acquisizione della ciclizzazione PCR definiti dal file *.ret caricato nella scheda precedente. Le diverse fasi di acquisizione possono essere identificate in base al canale di acquisizione (ad es., *Green (verde)* , *Yellow (giallo)* ecc.) e alla fase di ciclizzazione in cui viene effettuata l'acquisizione durante la ciclizzazione PCR (ad es., *Cycling 1 Step 2 (ciclizzazione 1 fase 2)*). Selezionare la fase di acquisizione per il particolare target dall'elenco a discesa.



Nota

Le opzioni di acquisizione disponibili dipendono dal file *.ret caricato nella scheda "Run Profile" (profilo del processo).

24. Fare clic su "New unit" (nuova unità) per assegnare unità di concentrazione aggiuntive oltre all'unità predefinita per il target. Viene visualizzato un elenco a discesa.



Nota

Questo elenco a discesa è disponibile unicamente per i target di tipo "Quantitative" (quantitativo).

25. Selezionare un'unità aggiuntiva e inserire un fattore per convertire la concentrazione target dall'unità predefinita all'unità aggiuntiva selezionata.

Nota

È possibile definire più unità aggiuntive facendo clic diverse volte su “New unit” (nuova unità).

Esempio

Unità predefinita: IU/ml.

Altra unità: copie/ml.

1 IU/ml corrisponde a 0,45 copie/ml per il rilevamento del target selezionato.

Digitare 0,45 come fattore di conversione.

Create target

Type: Quantitative

Target name: Quantative

Default unit: IU/ml

Acquisition: Green Cycling 1 Step 2

Unit	Conv. factor
copi...	0.45

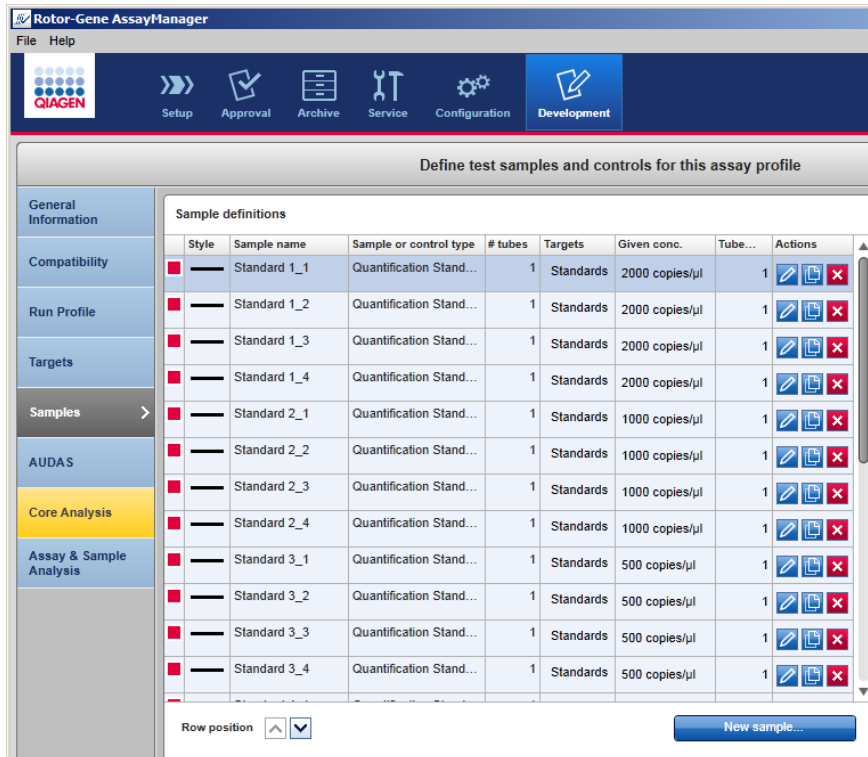
New unit

Messages: To display the results in other units than the default unit, a corresponding conversion factor needs to be defined. (110064)

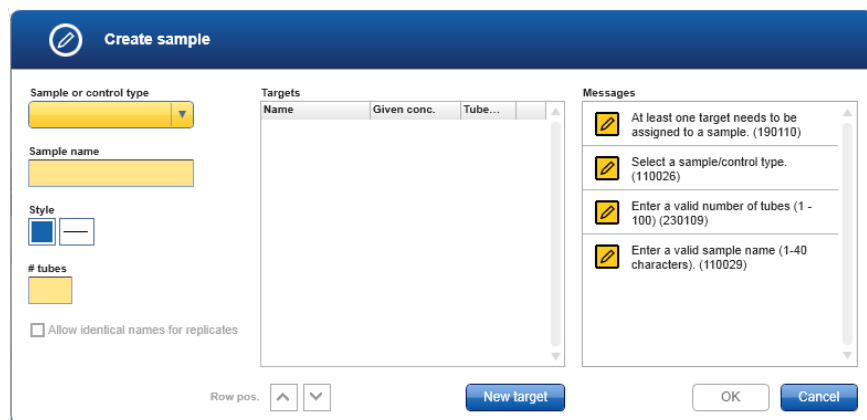
OK Cancel

26. Ripetere i passaggi 19-25 per tutti gli altri target.

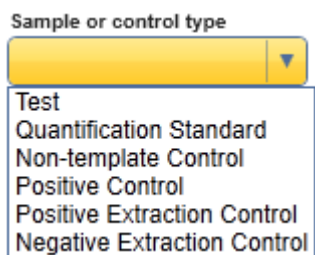
27. Andare alla scheda "Samples" (campioni). Qui è possibile configurare la disposizione dei diversi campioni e controlli sul rotore.



28. Fare clic su “New sample” (nuovo campione) per creare un nuovo profilo del campione. Si apre la seguente finestra di dialogo:



29. Selezionare un tipo di campione o di controllo dall'elenco a discesa. Sono disponibili le seguenti voci:

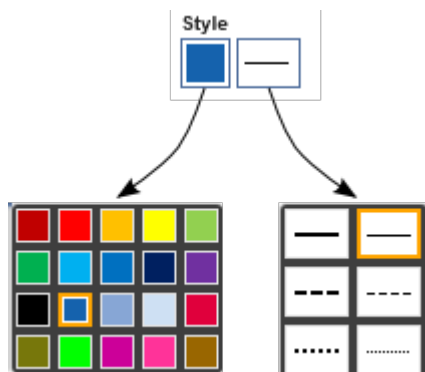


Nota

Il tipo di controllo "Quantification Standard" (standard di quantificazione) è disponibile unicamente per i dosaggi quantitativi.

30. Digitare un nome per il campione con un massimo di 40 caratteri nel campo "Sample name" (nome del campione).

31. Fare clic sul pulsante del colore o dello stile della linea per selezionare un colore o uno stile della linea per la curva di amplificazione del campione:



32. Definire il numero di posizioni del rotore. Il campione specifico sarà posizionato e analizzato per la presenza di diversi target in tante posizioni del rotore quante sono state inserite nel campo "# tubes" (numero provette).

Esempi

- a) Se un campione specifico sarà analizzato in una posizione del rotore per la ricerca del target x e in due altre posizioni del rotore per la ricerca dei target y e z, inserire il valore 3.
- b) Se il campione sarà analizzato per la ricerca di più target nella stessa posizione del rotore (PCR multiplex), inserire il valore 1.

- c) È possibile configurare anche una PCR multiplex con, ad esempio, tre target in una provetta e due target in un'altra provetta. In questo caso, inserire il numero 2 in "Tube position" (posizione provetta).
33. Fare clic su "New target" (nuovo target) per assegnare uno o più target al campione. Le voci disponibili del menu a tendina rappresentano i target definiti nella scheda "Targets" (target) precedente.

Targets

Name	Given conc.	Tube...	
<input type="text" value="Standards"/>		0	<input type="button" value="X"/>

Select a target name.

34. Selezionare un target specifico dall'elenco a discesa e inserire la posizione della provetta, tra quelle di quel tipo di campione o di controllo, in cui sarà analizzato il target. Il valore inserito deve essere compreso tra 1 e il numero di provette specificato per quel tipo di campione o di controllo.

Sample or control type
 Test ▼

Sample name
 Test Sample Template

Style

tubes
 2

Allow identical names for replicates

Targets

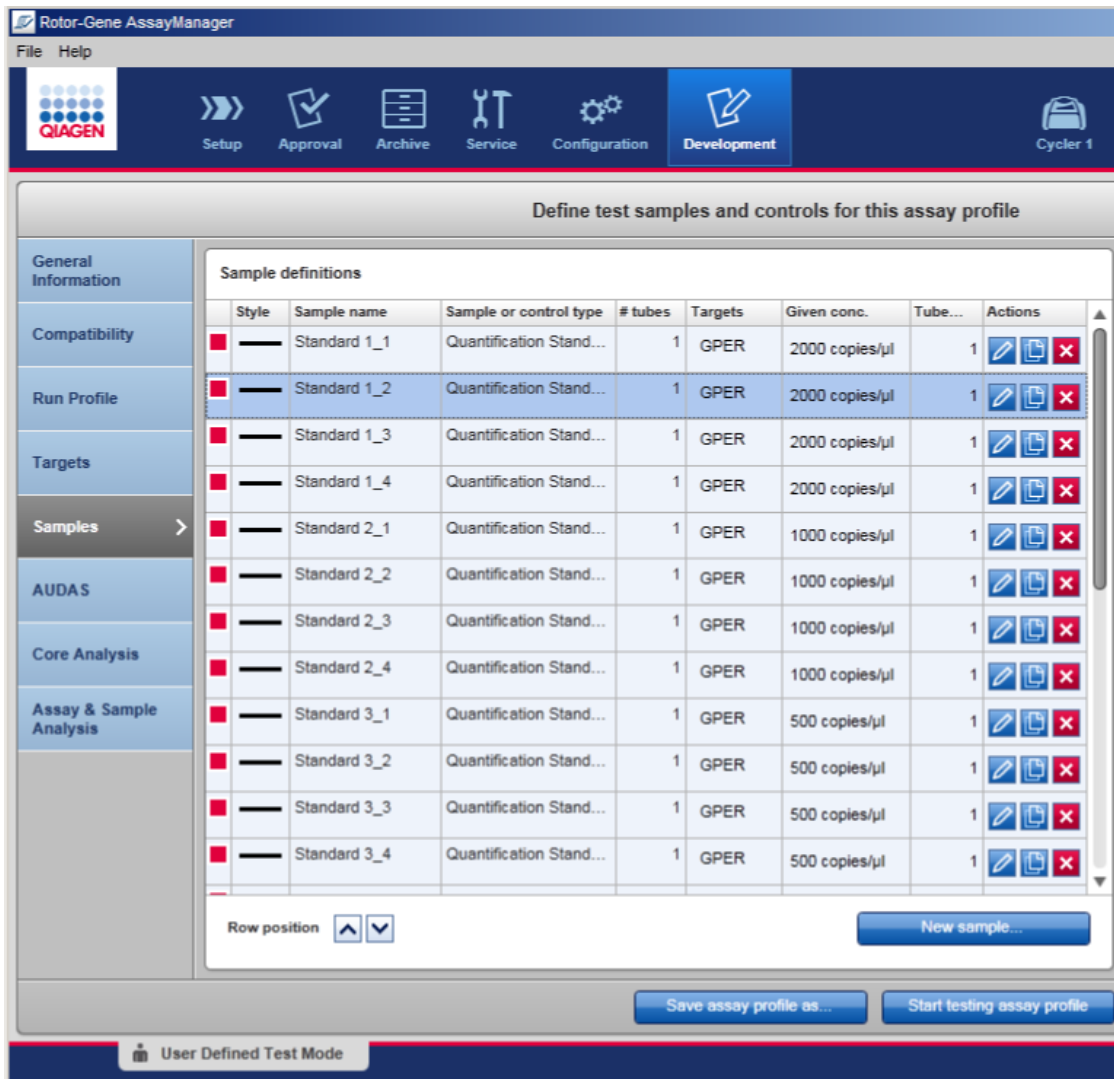
Name	Given conc.	Tube...	
Test ▼	-	2	✖

Esempi (seguito degli esempi riportati al passaggio 32)

- Se è stato inserito il valore 3 per il numero di provette, la posizione della provetta per il target x sarà 1, per il target y sarà 2 e per il target z sarà 3.
- Per una PCR multiplex, a tutti i diversi target deve essere assegnata la posizione di provetta 1.
- Assegnare i primi 3 target alla posizione di provetta 1 e gli altri 2 target alla posizione di provetta 2.

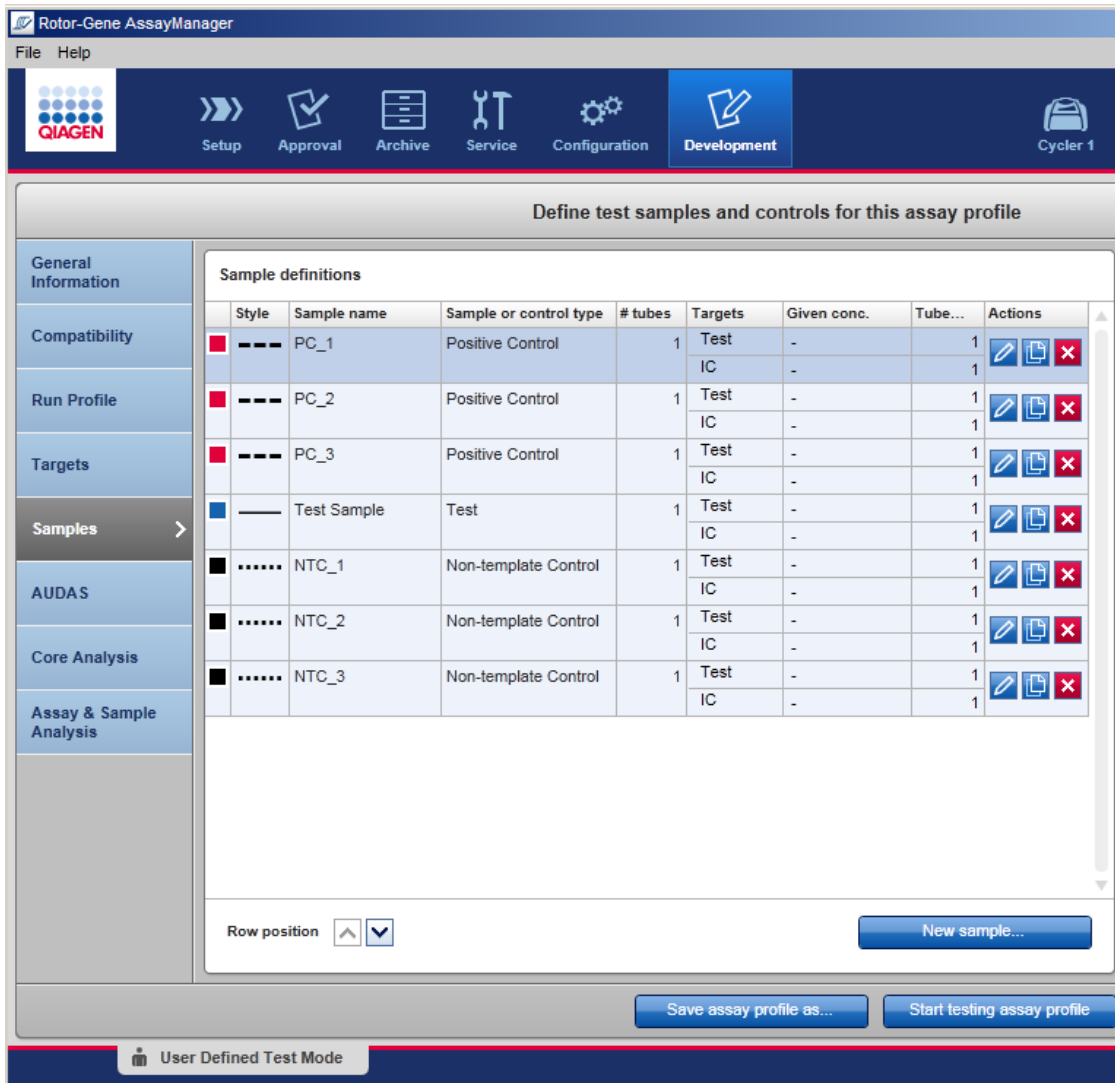
Per i campioni del tipo “Quantification Standard” (standard di quantificazione) deve essere assegnato almeno un target quantitativo definito nella scheda “Targets” (target) precedente. Se dall’elenco a discesa viene selezionato un target quantitativo, la cella della concentrazione data viene automaticamente attivata.

È possibile inserire la concentrazione di questo standard di quantificazione, seguita dalla definizione della posizione della provetta. Se previsto, è anche possibile assegnare diversi target quantitativi a un solo standard di quantificazione. In tal caso, i diversi target quantitativi devono essere configurati in provette diverse per impedire la competizione o l’interferenza durante l’amplificazione.



Per tutti i tipi di campioni e controlli che non sono del tipo “Quantification Standard” (standard di quantificazione), la cella “Given conc.” (concentrazione data) è disattivata.

Facendo clic più volte su “New target” (nuovo target) è possibile assegnare più target. I target ridondanti possono essere rimossi facendo clic su “Close” (chiudi). La posizione relativa dei diversi tipi di campioni e controlli può essere adattata selezionando una determinata riga e usando i pulsanti di selezione della riga per spostarla su o giù nell’elenco.



35. Andare alla scheda "AUDAS".

Nota

AUDAS sta per "Automatic Data Scan" (scansione automatica dei dati). Questa opzione non è disponibile per il plug-in base UDT. Per tale motivo, quando si crea un profilo di dosaggio con il plug-in base UDT la sottoscheda AUDAS non è attiva e deve essere saltata.

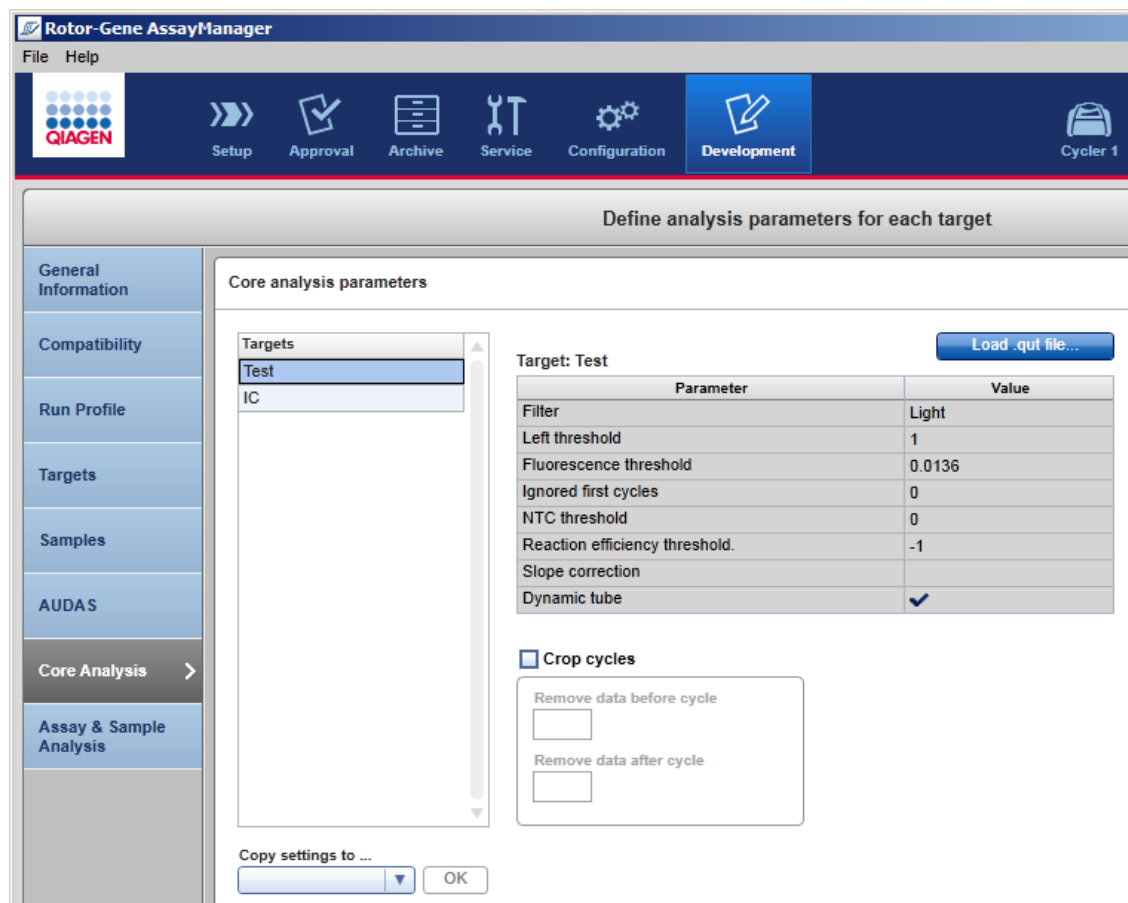
36. Andare alla scheda "Core Analysis" (analisi principale).

L'analisi principale definisce gli algoritmi per la normalizzazione delle curve di amplificazione e la quantificazione dei target. Nella scheda "Core Analysis" (analisi principale), la maggior parte dei valori dei parametri deve essere importata da un file

modello di quantificazione di Rotor-Gene. Questo file *.qut può essere generato dopo l'analisi di un dosaggio nel software Rotor-Gene standard.
La procedura per creare file *.qut è descritta in ► Creazione di un file *.qut con l'applicazione Rotor-Gene.

Nota

È necessario generare uno specifico file *.qut per ogni singolo canale di acquisizione.



37. Selezionare un target dalla tabella "Target".

38. Fare clic su "Load *.qut file" (carica file *.qut).

Compare la finestra di dialogo di selezione del file.

39. Sfogliare fino alla directory che contiene il file *.qut, selezionarlo e fare clic su "OK".

I parametri e i valori vengono caricati dal file e visualizzati sulla destra della schermata.

40. Ripetere i passaggi 37-39 per ogni singolo target.

41. Regolare i parametri “Crop cycles” (elimina cicli). Al termine del processo di importazione di un file *.qut, la casella di controllo “Crop cycles” (cicli di raccolta) viene attivata.

La funzione “Crop cycles” (elimina cicli) in Rotor-Gene AssayManager ha lo stesso impatto sull’analisi dei campioni della funzione “Crop cycles” (elimina cicli) nel software Rotor-Gene standard. Se questa funzione è stata utilizzata per l’analisi dei campioni nel software Rotor-Gene per quel dosaggio, deve essere utilizzata anche in Rotor-Gene AssayManager. Poiché i valori della funzione “Crop cycles” (elimina cicli) non saranno importati attraverso il file *.qut, è necessaria una modifica aggiuntiva.

Crop cycles

Remove data before cycle

Remove data after cycle

Se necessario, spuntare la casella di controllo per definire il numero di cicli che devono essere rimossi dall’inizio e dalla fine della ciclizzazione per l’analisi. Tale operazione risulta utile qualora si osservino deviazioni più ampie da una linea basale piatta nei cicli iniziali o finali, il che può verificarsi se si utilizzano determinati processi chimici.

Dopo aver spuntato la casella di controllo “Crop cycles” (elimina cicli), si attivano le caselle “Remove data before cycle” (rimuovi dati prima del ciclo) e “Remove data after cycle” (rimuovi dati dopo il ciclo). Inserire i valori dei rispettivi cicli in queste caselle.

Crop cycles

Remove data before cycle

Remove data after cycle

Nota

Il valore di “Remove data after cycle” (rimuovi dati dopo il ciclo) deve essere superiore al valore di “Remove data before cycle” (rimuovi dati prima del ciclo). È necessario lasciare almeno sette cicli per l’analisi dei dati.

42. Andare alla scheda “Assay & Sample Analysis” (analisi di dosaggi e campioni).

Nella scheda “Assay & Sample Analysis” (analisi di dosaggi e campioni) è possibile definire diverse regole per la valutazione del campione, del controllo e dei risultati del dosaggio. Le regole sono suddivise in sei diverse sezioni.

A: regole specifiche per target e IC in standard e controlli

B: regole per la curva standard

C: regole di analisi per standard e controlli

D: regole di analisi per il dosaggio

E: regole specifiche per target e IC in campioni di analisi

F: regole di analisi per campioni di analisi

A: regole specifiche per target e IC in standard e controlli

In questa sezione è possibile definire regole specifiche per target e IC in standard e controlli.

Define assay and sample analysis rules for this assay profile

General Information

Compatibility

Run Profile

Targets

Samples

AUDAS

Core Analysis

Assay & Sample Analysis

A: Rules specific for targets and IC in standards and controls

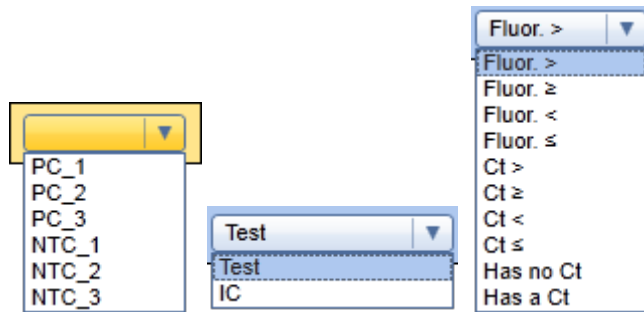
Standard or con...	Target or IC	Rule	Parameters	Flag if rule fails	Inv.
NTC_2	Test	Has no Ct		UNEXPECTED_C...	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
NTC_3	Test	Has no Ct		UNEXPECTED_C...	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
PC_1	Test	Has a Ct		NO_CT_DETECTED	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
PC_2	Test	Has a Ct		NO_CT_DETECTED	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
PC_3	Test	Has a Ct		NO_CT_DETECTED	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
NTC_1	IC	Has a Ct		NO_CT_DETECTED	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
NTC_2	IC	Has a Ct		NO_CT_DETECTED	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
NTC_3	IC	Has a Ct		NO_CT_DETECTED	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
PC_1	IC	Has a Ct		NO_CT_DETECTED	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
PC_2	IC	Has a Ct		NO_CT_DETECTED	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
PC_3	IC	Has a Ct		NO_CT_DETECTED	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

New rule

Save assay profile as... Start testing assay profile

User Defined Test Mode

Fare clic su “New rule” (nuova regola) per creare una nuova regola.



È possibile definire più regole in parallelo per un target specifico. Per definire le regole è possibile effettuare una delle seguenti operazioni.

1. Selezionare un controllo esterno specifico dall'elenco a discesa "Standard or control" (standard o controllo).
2. Selezionare un target specifico dall'elenco a discesa "Target or IC" (target o IC).
3. Selezionare una regola da applicare dall'elenco a discesa "Rule" (regola). Sono disponibili le seguenti regole:

Nome della regola	Funzione della regola	Flag in caso di violazione regola
Fluor. >	La fluorescenza normalizzata deve essere superiore al valore del parametro da inserire.	FLUORESCENCE_T OO_LOW
Fluor. ≥	La fluorescenza normalizzata deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.	FLUORESCENCE_T OO_LOW
Fluor. <	La fluorescenza normalizzata deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.	FLUORESCENCE_T OO_STRONG
Fluor. ≤	La fluorescenza normalizzata deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.	FLUORESCENCE_T OO_STRONG
C _T >	Il valore C _T deve essere superiore al valore del parametro da inserire.	CT_BELOW_ACCE PTED_RANGE
C _T ≥	Il valore C _T deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.	CT_BELOW_ACCE PTED_RANGE
C _T <	Il valore C _T deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.	CT_ABOVE_ACCEP TED_RANGE

$C_T \leq$	Il valore C_T deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.	CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE
Conc. >*	La concentrazione deve essere superiore al valore del parametro da inserire.	CONCENTRATION_BELOW_ACCEPTED_RANGE
Conc. \geq^*	La concentrazione deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.	CONCENTRATION_BELOW_ACCEPTED_RANGE
Conc. <*	La concentrazione deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.	CONCENTRATION_ABOVE_ACCEPTED_RANGE
Conc. \leq^*	La concentrazione deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.	CONCENTRATION_ABOVE_ACCEPTED_RANGE
“Has no C_T ” (Nessun valore C_T presente)	La curva di amplificazione potrebbe non avere un valore C_T .	UNEXPECTED_CT_DETECTED
“Has a C_T ” (valore C_T presente)	La curva di amplificazione deve avere un valore C_T .	NO_CT_DETECTED

* Queste regole sono disponibili unicamente per i target quantitativi. Saranno applicate soltanto se è stata calcolata una curva standard valida.

- Se previsto per la regola selezionata, inserire un valore di parametro nella casella di immissione “Parameters” (parametri). Il formato di immissione per i diversi parametri è il seguente:

Parametro	Formato del valore del parametro
“Fluorescence” (fluorescenza)	Inserire un valore per la fluorescenza normalizzata compreso tra 0 e 100.
“C _T value” (valore C _T)	Inserire un valore C _T compreso tra 1 e 100. Il valore non deve essere superiore al numero di cicli del processo.
“Concentration” (concentrazione)	Inserire un valore di concentrazione. Questo valore deve essere espresso nell’unità di concentrazione predefinita ed è relativo alla concentrazione target nell’eluato. L’unità di concentrazione predefinita viene visualizzata nella scheda “Targets” (target).

5. La colonna “Flag in caso di violazione regola” mostra il flag assegnato al target e visualizzato se la regola non è rispettata.

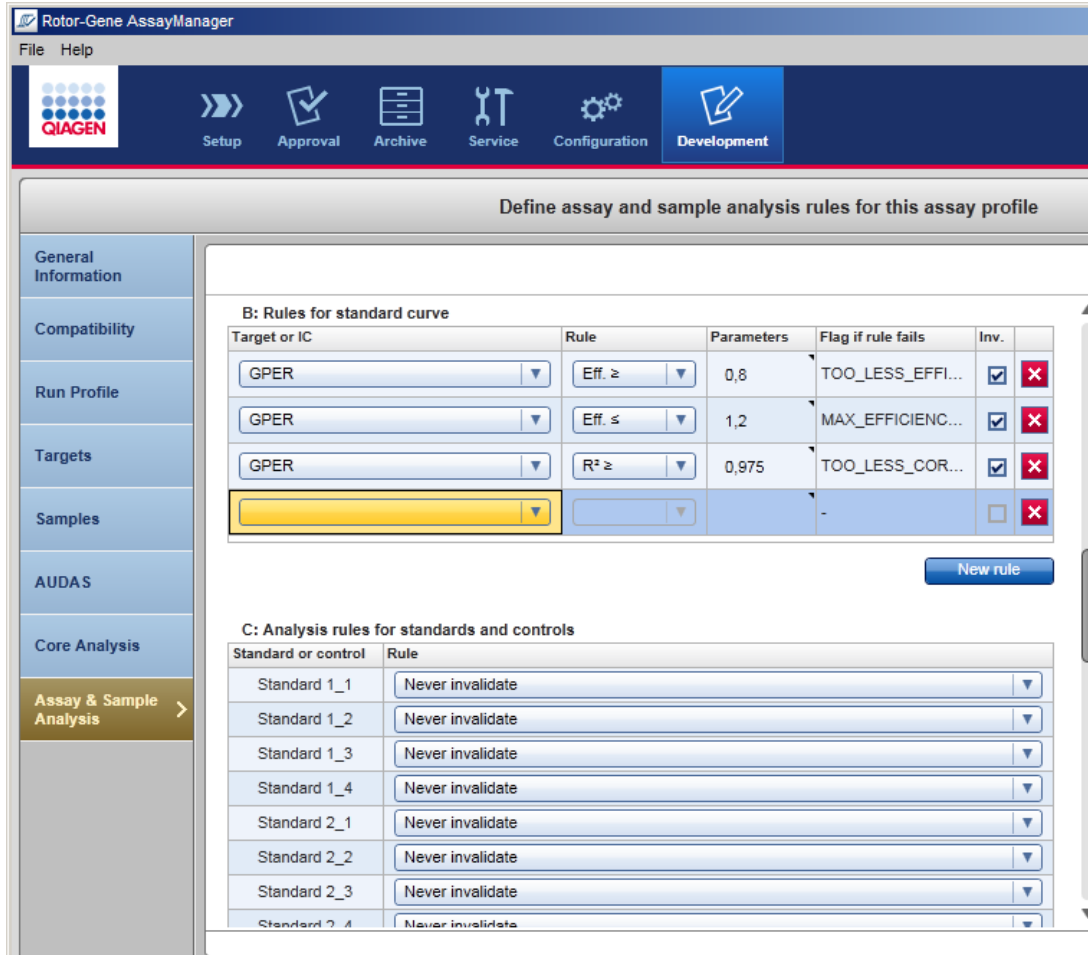
Esempio:

Standard or con...	Target or IC	Rule	Parameters	Flag if rule fails	Inv.	
NTC_2	Test	Has no Ct		UNEXPECTED_C...	<input checked="" type="checkbox"/>	
PC_1	Test	Has a Ct		NO_CT_DETECTED	<input type="checkbox"/>	

6. Spuntare la casella di controllo nella colonna “Inv.” (non valido) se il risultato del target selezionato deve essere impostato come non valido quando la regola corrispondente non è rispettata. Se la casella di controllo non è spuntata, il flag verrà visualizzato solo come “avvertimento” e il target resterà valido se nessun’altra regola o condizione determinerà un risultato non valido per quel target.

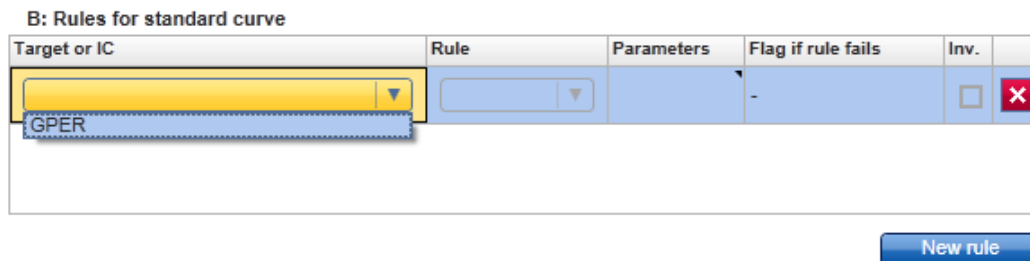
B: regole per la curva standard

In questa sezione è possibile definire regole specifiche per la curva standard di un dosaggio quantitativo. Se il dosaggio non è quantitativo, in questa sezione non possono essere definite regole.



Fare clic su “New rule” (nuova regola) per creare una nuova regola. È possibile definire in parallelo più regole. Per definire le regole è possibile effettuare una delle seguenti operazioni.

1. Selezionare il target per cui si deve definire la regola. Nell'elenco a discesa sono presenti soltanto target quantitativi.



2. Selezionare una regola da applicare dall'elenco a discesa "Rule" (regola). Sono disponibili le seguenti regole:

Nome della regola	Funzione della regola	Flag in caso di violazione regola
R >	Il valore R della curva standard deve essere superiore al valore del parametro da inserire.	TOO_LESS_CORRELATION_IN_STANDARD_CURVE
R ≥	Il valore R della curva standard deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.	TOO_LESS_CORRELATION_IN_STANDARD_CURVE
R <	Il valore R della curva standard deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.	MAX_CORRELATION_IN_STANDARD_CURVE_EXCEEDED
R ≤	Il valore R della curva standard deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.	MAX_CORRELATION_IN_STANDARD_CURVE_EXCEEDED
R ² >	Il valore R ² della curva standard deve essere superiore al valore del parametro da inserire.	TOO_LESS_CORRELATION_IN_STANDARD_CURVE
R ² ≥	Il valore R ² della curva standard deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.	TOO_LESS_CORRELATION_IN_STANDARD_CURVE
R ² <	Il valore R ² della curva standard deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.	MAX_CORRELATION_IN_STANDARD_CURVE_EXCEEDED
R ² ≤	Il valore R ² della curva standard deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.	MAX_CORRELATION_IN_STANDARD_CURVE_EXCEEDED

Eff. >	L'efficienza di reazione deve essere superiore al valore del parametro da inserire.	TOO_LESS_EFFICIENCY
Eff. ≥	L'efficienza di reazione deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.	TOO_LESS_EFFICIENCY
Eff. <	L'efficienza di reazione deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.	MAX_EFFICIENCY_EXCEEDED
Eff. ≤	L'efficienza di reazione deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.	MAX_EFFICIENCY_EXCEEDED
# valid QS (n. QS validi) ≥	Il numero di standard di quantificazione (QS) validi deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.	TOO_MANY_QUANTIFICATION_STANDARDS_INVALID

3. Inserire un valore di parametro nella casella "Parameters" (parametri). Il formato di immissione per i diversi parametri è il seguente:

Parametro	Formato del valore del parametro
R value (valore R)	Inserire un valore compreso tra 0 e 1.
R ² value (valore R ²)	Inserire un valore compreso tra 0 e 1.
"Reaction efficiency" (efficienza di reazione)	Inserire un valore compreso tra 0 e 2 (corrispondente a 0-200%).
"Number of valid quantification standards" (numero di standard di quantificazione validi)	Inserire un valore compreso tra 0 e 100. Il numero deve essere inferiore o uguale al numero di standard di quantificazione disponibili per il target selezionato. Si osservi che per ottenere una quantificazione corretta sono necessari almeno due standard di quantificazione validi con concentrazioni date diverse.

4. La colonna "Flag in caso di violazione regola" mostra il flag assegnato al target e visualizzato se la regola non è rispettata.
5. Spuntare la casella di controllo nella colonna "Inv." se il risultato del target quantitativo degli standard deve essere impostato come non valido quando la

regola configurata non è rispettata. Se la casella di controllo non è spuntata, il flag verrà visualizzato solo come “avvertimento” e il target resterà valido se nessun'altra regola o condizione determinerà un risultato non valido per quel target.

B: Rules for standard curve

Target or IC	Rule	Parameters	Flag if rule fails	Inv.
GPCR	R ² >		TOO_LESS_COR...	<input type="checkbox"/>

C: regole di analisi per standard e controlli

In questa sezione è possibile definire regole di analisi specifiche per standard e controlli.

C: Analysis rules for standards and controls

Standard or control	Rule
PC_1	Invalidate if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal.
PC_2	Invalidate if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal.
PC_3	Invalidate if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal.
NTC_1	Invalidate if one IC is invalid or has no signal and no other target in the same tube ha...
NTC_2	Invalidate if one IC is invalid or has no signal and no other target in the same tube ha...
NTC_3	Invalidate if one IC is invalid or has no signal and no other target in the same tube ha...

La sezione C definisce l'influenza di singoli target con flag di invalidità sulla validità dell'intero standard o controllo. In questo contesto, con singoli target si intendono tutti i target specifici e i controlli interni (IC). Si noti che vengono considerati tutti i tipi di flag di invalidità, a prescindere dal fatto che siano stati impostati dal processo a monte, dall'analisi principale o dalle regole definite, ad esempio, nelle sezioni A e B dell'analisi dei dosaggi e dei campioni.

Inoltre, la sezione C descrive l'influenza di un IC con nessun segnale sulla validità dell'intero standard o controllo. Ciò tiene conto del ruolo speciale dell'IC nella PCR in tempo reale per monitorare la corretta amplificazione di un campione. In questo contesto, il solo segnale IC non è conclusivo e deve essere confrontato con il segnale dei target corrispondenti nella stessa provetta. Ad esempio, un segnale mancante per il solo IC indica un'amplificazione mancante soltanto se anche tutti gli altri target nella stessa provetta non mostrano alcuna amplificazione. Se una delle regole definite in questa sezione è valida per un target specifico o un IC di uno standard o controllo, l'intero standard o controllo è impostato come non valido

nell'analisi. Questo significa che a tutti i target di quello standard o controllo sono assegnati flag di invalidità corrispondenti.

Nella colonna "Standard or control" (standard o controllo) è elencato ogni standard o controllo definito nella sottoscheda "Samples" (campioni). Selezionare una regola specifica per ogni standard o controllo dall'elenco a discesa "Rule" (regola). Le regole sono ordinate per severità, cioè la prima regola dell'elenco a discesa è la più severa e determina più invalidazioni rispetto alle regole che si trovano più in basso nella tabella. La regola più in basso, "never invalidate" (non invalidare mai), di conseguenza non determina alcuna variazione dello stato di validità di altri target.

C: Analysis rules for standards and controls

Standard or control	Rule
PC_1	Invalidate if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal.
PC_2	Invalidate if at least one target is invalid or if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal. Invalidate if one IC is invalid or if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal.
PC_3	Invalidate if one IC is invalid or has no signal and no other target in the same tube has a signal.
NTC_1	Never invalidate
NTC_2	Invalidate if one IC is invalid or has no signal and no other target in the same tube ha...
NTC_3	Invalidate if one IC is invalid or has no signal and no other target in the same tube ha...

Le regole sono spiegate più dettagliatamente nella tabella che segue. Si possono applicare le seguenti regole:

Numero della regola	Nome della regola	Funzione della regola	Commenti
1	"Invalidate if at least one target is invalid or if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal". (Invalidare se almeno un target è non valido o se un IC non presenta un segnale e nessun altro target nella	Tutti i target dello standard o del controllo selezionato saranno impostati come non validi se: <ul style="list-style-type: none"> ▪ almeno un target è non valido; oppure ▪ un qualsiasi controllo interno non presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale. 	Si tratta della condizione più severa che sia possibile selezionare in questa sezione. Se a un qualsiasi target dello standard o del controllo è assegnato un flag di invalidità (impostato dal processo a monte, dall'analisi principale o dalle regole definite nella sezione A o B), l'intero standard o controllo è impostato come non valido. Lo stesso accade se il controllo interno non presenta alcun segnale

	<p>stessa provetta presenta un segnale).</p>		<p>(nessun C_T) e nessun altro target nella stessa provetta dell'IC presenta un segnale, condizione che indica che il processo PCR non ha amplificato correttamente il campione.</p> <p>Nota: si raccomanda di utilizzare la regola più severa per tutti i dosaggi di routine. Le regole meno severe sotto riportate possono essere applicate se il profilo di dosaggio è ancora in via di sviluppo e si desidera vedere il risultato target anche nel caso in cui si sia verificato un problema con un altro target o con l'amplificazione della PCR.</p>
2	<p>“Invalidate if one IC is invalid or if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal”. (invalidare se un IC non è valido o se un IC non presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale).</p>	<p>Tutti i target dello standard o del controllo selezionato saranno impostati come non validi se:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ un qualsiasi controllo interno è non valido; oppure ▪ un qualsiasi controllo interno non presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale. 	<p>Questa regola rileva un IC non valido in ogni caso e invalida lo standard o il controllo corrispondente. È anche identificata la mancata amplificazione da parte dell'IC, che invalida lo standard o il controllo. Rispetto alla regola 1, target specifici non validi non hanno effetto sulla validità dello standard o del controllo. Nota: da utilizzare con cautela. Per questa regola, lo stato di validità di un target non IC non è rilevante per gli altri target. Per dosaggi multiplex con maggiore molteplicità, ciò potrebbe avere come risultato che target del</p>

3	<p>“Invalidate if one IC is invalid or has no signal and no other target in the same tube has a signal” (invalida re se un IC non è valido o non presenta un segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale).</p>	<p>Tutti i target dello standard o del controllo selezionato saranno impostati come non validi se:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ un qualsiasi controllo interno è non valido e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale. oppure ▪ un qualsiasi controllo interno non presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale. 	<p>controllo positivo o negativo non validi non invalidano automaticamente gli altri target per questo standard o controllo.</p> <p>Questa regola rileva un IC non valido o un'amplificazione mancante attraverso un segnale mancante per l'IC e invalida in questo caso tutti gli altri target per questo standard o controllo. Tuttavia, se l'amplificazione viene rilevata contemporaneamente per qualsiasi target non IC, non si verificherà alcuna invalidazione.</p> <p>Nota: da utilizzare con cautela. Per questa regola, lo stato di validità di un target non IC non è rilevante per gli altri target. Per dosaggi multiplex con maggiore molteplicità, ciò potrebbe avere come risultato che target del controllo positivo o negativo non validi non invalidano automaticamente gli altri target per questo standard o controllo.</p>
4	<p>“Invalidate if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal” (invalida re se un IC non</p>	<p>Tutti i target dello standard o del controllo selezionato saranno impostati come non validi se:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ un qualsiasi controllo interno non presenta alcun segnale e 	<p>Questa regola rileva soltanto un'amplificazione mancante attraverso un segnale mancante per l'IC e invalida in questo caso tutti gli altri target per questo standard o controllo.</p>

	presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale).	nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale.	Nota: da utilizzare con cautela. L'invalidità dell'IC per qualsiasi altro motivo non determina la corrispondente invalidità degli altri target per questo standard o controllo. Inoltre, per questa regola, lo stato di validità di qualsiasi target non IC non è rilevante per altri target. Per dosaggi multiplex con maggiore molteplicità, ciò potrebbe avere come risultato che target del controllo positivo o negativo non validi non invalidano automaticamente gli altri target per questo standard o controllo.
5	“Never invalidate” (non invalidare mai)	Lo standard o il controllo selezionato non sarà mai impostato come non valido da quella parte dell'analisi.	Con questa impostazione, non vi è alcuna interdipendenza tra i target. Tuttavia, tutti i singoli target con flag assegnati dai passaggi precedenti mantengono i propri flag e lo stato “invalid” (non valido). Nota: da utilizzare con cautela. Qualsiasi invalidità attribuita a un target non determinerà l'invalidità di tutti gli altri target per questo standard o controllo.

Esempi per la regola 1

Esempio 1a

Campione di controllo positivo di un dosaggio duplex. Il controllo positivo è formato da un target (PC_1) e da un controllo interno (IC) nella stessa provetta. Per il target PC_1 è prevista una sola regola definita nella sezione A:

“C_T for PC₁ < 30” (C_T per PC₁ <30) (invalidare se le regole non sono rispettate)

Secondo la regola 1, il PC₁ è quindi valido solo se

1)“C_T per PC₁ < 30”, non si ha nessun altro flag di invalidità per questo target, l'IC è valido e presenta un segnale.

2)“C_T per PC₁ < 30”, non si ha nessun altro flag di invalidità per questo target e l'IC è valido ma non presenta alcun segnale.

Questo secondo caso può verificarsi, ad esempio, con un'elevata concentrazione di PC₁ che sopprime il segnale dell'IC.

Se è necessario invalidare anche il secondo caso, si può definire una regola supplementare di invalidità per l'IC nella sezione A, ad es.

“IC has a signal” (l'IC presenta un segnale).

Esempio 1b

NTC dello stesso dosaggio duplex. Per il target NTC è prevista una sola regola definita nella sezione A:

“NTC has no signal” (l'NTC non presenta alcun segnale) (invalidare se le regole non sono rispettate)

Secondo la regola 1, l'NTC è quindi valido solo se “NTC non presenta alcun segnale” e nessun altro flag di invalidità per questo target e se l'IC è valido e presenta un segnale. Notiamo che se “l'IC non presenta alcun segnale” e “l'NTC non presenta alcun segnale”, questa regola invalida correttamente l'NTC, poiché l'IC non ha rilevato alcuna amplificazione corretta.

Esempio 1c

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con un target specifico non valido o un IC non valido (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 1, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità).

Esempio 1d

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con nessun segnale in qualsiasi target ma nessun flag di invalidità.

Secondo la regola 1, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità), poiché ovviamente il processo PCR non ha amplificato il campione in modo corretto.

Esempio 1e

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). Un target specifico o un IC ha un flag di invalidità (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 1, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità).

Esempio 1f

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). In una provetta entrambi i target, il target specifico e l'IC corrispondente, non presentano alcun segnale ma neanche alcun flag di invalidità.

Secondo la regola 1, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità), poiché ovviamente il processo PCR non ha amplificato il campione in modo corretto in almeno una provetta.

Esempi per la regola 2

Esempio 2a

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con un target specifico non valido (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 2, il controllo viene ritenuto valido. Soltanto il target specifico non valido rimane non valido (viene mantenuto il flag di invalidità).

Esempio 2b

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con un IC non valido (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 2, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità).

Esempio 2c

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con nessun segnale in qualsiasi target ma nessun flag di invalidità.

Secondo la regola 2, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità), poiché ovviamente il processo PCR non ha amplificato il campione in modo corretto.

Esempio 2d

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). Un target specifico ha un flag di invalidità (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 2, il controllo viene ritenuto valido. Soltanto il target specifico non valido rimane non valido (viene mantenuto il flag di invalidità).

Esempio 2e

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). Un IC ha un flag di invalidità (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B). Secondo la regola 2, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità).

Esempio 2f

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). In una provetta entrambi i target, il target specifico e l'IC corrispondente, non presentano alcun segnale ma neanche alcun flag di invalidità.

Secondo la regola 2, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità), poiché ovviamente il processo PCR non ha amplificato il campione in modo corretto in almeno una provetta.

Esempi per la regola 3

Esempio 3a

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con un target specifico non valido (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 3, il controllo viene ritenuto valido. Soltanto il target specifico non valido rimane non valido (viene mantenuto il flag di invalidità).

Esempio 3b

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con un target specifico che presenta un segnale e un IC non valido (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 3, il controllo viene ritenuto valido. Soltanto l'IC non valido rimane non valido (viene mantenuto il flag di invalidità).

Esempio 3c

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con nessun segnale nei target specifici e un IC non valido (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 3, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità).

Esempio 3d

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con nessun segnale in qualsiasi target ma nessun flag di invalidità.

Secondo la regola 3, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità), poiché ovviamente il processo PCR non ha amplificato il campione in modo corretto.

Esempio 3e

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). Un target specifico ha un flag di invalidità (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 3, il controllo viene ritenuto valido. Soltanto il target specifico non valido rimane non valido (viene mantenuto il flag di invalidità).

Esempio 3f

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). Un target specifico presenta un segnale ma il corrispondente IC ha un flag di invalidità (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 3, il controllo viene ritenuto valido. Soltanto l'IC non valido rimane non valido (viene mantenuto il flag di invalidità).

Esempio 3g

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). Un target specifico non presenta alcun segnale e il corrispondente IC ha un flag di invalidità (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 3, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità).

Esempio 3h

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). In una provetta entrambi i target, il target specifico e l'IC corrispondente, non presentano alcun segnale ma neanche alcun flag di invalidità.

Secondo la regola 3, il controllo è impostato come non valido (a tutti i target [quelli specifici e l'IC] è attribuito un flag di invalidità), poiché ovviamente il processo PCR non ha amplificato il campione in modo corretto in almeno una provetta.

Esempi per la regola 4

Esempio 4a

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con un target specifico non valido o un IC non valido (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 4, il controllo viene ritenuto valido. Soltanto il target non valido rimane non valido (viene mantenuto il flag di invalidità).

Esempio 4b

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con nessun segnale in qualsiasi target ma nessun flag di invalidità.

Secondo la regola 4, il controllo è impostato come non valido (tutti i target [quelli specifici e l'IC] ottengono un flag di invalidità), poiché ovviamente il processo PCR non ha amplificato il campione in modo corretto.

Esempio 4c

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). Un target specifico o un IC ha un flag di invalidità (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 4, il controllo viene ritenuto valido. Soltanto il target non valido rimane non valido (viene mantenuto il flag di invalidità).

Esempio 4d

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). In una provetta entrambi i target, il target specifico e l'IC corrispondente, non presentano alcun segnale ma neanche alcun flag di invalidità.

Secondo la regola 4, il controllo è impostato come non valido (tutti i target [quelli specifici e l'IC] ottengono un flag di invalidità), poiché ovviamente il processo PCR non ha amplificato il campione in modo corretto in almeno una provetta.

Esempi per la regola 5

Esempio 5a

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con un target specifico non valido o un IC non valido (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 5, il controllo viene ritenuto valido. Il target non valido rimane non valido (viene mantenuto il flag di invalidità).

Esempio 5b

Un dosaggio 3-plex (due target specifici e un solo IC, tutti nella stessa provetta) contiene un controllo con nessun segnale in qualsiasi target ma nessun flag di invalidità. Secondo la regola 5, il controllo viene ritenuto valido.

Esempio 5c

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). Un target specifico o un IC ha un flag di invalidità (a prescindere dal fatto che sia stato impostato come non valido dal processo a monte, dall'analisi principale o da regole definite nelle sezioni A o B).

Secondo la regola 5, il controllo viene ritenuto valido. Soltanto il target non valido rimane non valido (viene mantenuto il flag di invalidità).

Esempio 5d

Un dosaggio con un campione suddiviso su 4 provette contiene un solo target specifico in ogni provetta e un IC corrispondente (8 target in tutto). In una provetta entrambi i target, il target specifico e l'IC corrispondente, non presentano alcun segnale ma neanche alcun flag di invalidità.

Secondo la regola 5, il controllo viene ritenuto valido.

D: regole di analisi per il dosaggio

In questa sezione è possibile definire le regole di analisi specifiche per l'intero dosaggio. Queste regole definiscono le conseguenze di tutti i risultati "invalid" (non valido) per gli standard e i controlli derivanti dalle regole descritte nella sezione C.

D: Analysis rules for the assay

- Invalidate every test sample if at least one external control is invalid
- Invalidate a certain target in every test sample if a corresponding external control containing that target is invalid
- Invalidate only targets with no signal in the test samples if any positive control (normal positive controls, positive extraction controls or quantification standards) containing that target is invalid
- Never invalidate samples

Selezionare uno dei quattro pulsanti di opzione per applicare al dosaggio la corrispondente regola di analisi. Sono disponibili le seguenti regole:

Nome della regola	Funzione della regola
"Invalidate every test sample if at least one external control is invalid" (invalidare tutti i campioni di analisi se almeno un controllo esterno è non valido).	Viene impostato un flag per tutti i target di tutti i campioni di analisi che indica che il dosaggio è non valido se almeno un controllo esterno è non valido. Se la regola è applicata durante l'analisi del dosaggio a causa di un controllo esterno non valido, il dosaggio può essere impostato manualmente come

	<p>valido spuntando la casella di controllo “Set assay to be valid” (imposta dosaggio come valido) nell’ambiente “Approval” (convalida). Questa funzionalità deve essere prima abilitata nell’ambiente “Configuration” (configurazione). Ulteriori informazioni sono disponibili nella sezione ► Principio dei pulsanti di approvazione nel plug-in UDT.</p>
<p>“Invalidate a certain target in every test sample if a corresponding external control containing that target is invalid” (invalidare un determinato target in tutti i campioni di analisi se un controllo esterno corrispondente contenente tale target è non valido).</p>	<p>Determinati target di campioni di analisi sono impostati come non validi se tutti gli standard o i controlli contenenti il medesimo target sono stati impostati come non validi.</p>
<p>“Invalidate only targets with no signal in the test samples if any positive control (normal positive controls, positive extraction controls, or quantification standards) containing that target is invalid” (invalidare solo i target che non presentano alcun segnale nei campioni di analisi se uno qualsiasi dei controlli positivi (controlli positivi normali, controlli di estrazione positivi o standard di quantificazione) contenenti tale target è non valido).</p>	<p>Determinati target di campioni di analisi sono impostati come non validi se il risultato del target è “No signal” (nessun segnale) e tutti i controlli positivi contenenti il medesimo target sono stati impostati come non validi.</p>
<p>“Never invalidate samples” (non invalidare mai i campioni).</p>	<p>I campioni non saranno mai impostati come non validi da quella parte dell’analisi.</p>

Nota

Le regole nel menu a tendina sono ordinate secondo severità decrescente.

E: regole specifiche per target e IC in campioni di analisi

In questa sezione è possibile definire le regole di analisi specifiche per i target e il controllo interno nei campioni di analisi. È possibile definire più regole in parallelo per un target specifico.

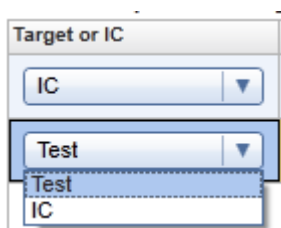
E: Rules specific for targets and IC in test samples

Target or IC	Rule	Parameters	Flag if rule fails	Inv.	
IC	Has a Ct		NO_CT_DETECTED	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

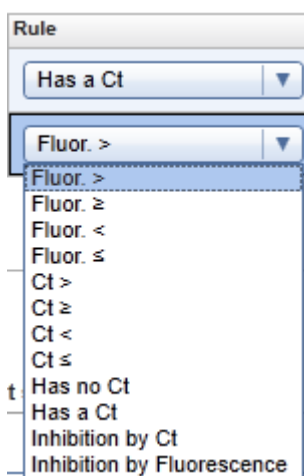
New rule

Fare clic su “New rule” (nuova regola) per creare una nuova regola.

1. Selezionare un target specifico dall’elenco a discesa “Target or IC” (target o IC).



2. Selezionare una regola da applicare dall’elenco a discesa “Rule” (regola). Sono disponibili le seguenti regole:



Nome della regola	Funzione della regola	Flag in caso di violazione regola
Fluor. >	La fluorescenza normalizzata deve essere superiore al valore del parametro da inserire.	FLUORESCENCE_TOO_LOW
Fluor. \geq	La fluorescenza normalizzata deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.	FLUORESCENCE_TOO_LOW
Fluor. <	La fluorescenza normalizzata deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.	FLUORESCENCE_TOO_STRONG
Fluor. \leq	La fluorescenza normalizzata deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.	FLUORESCENCE_TOO_STRONG
$C_T >$	Il valore C_T deve essere superiore al valore del parametro da inserire.	CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE
$C_T \geq$	Il valore C_T deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.	CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE
$C_T <$	Il valore C_T deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.	CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE
$C_T \leq$	Il valore C_T deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.	CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE
Conc. >*	La concentrazione deve essere superiore al valore del parametro da inserire.	CONCENTRATION_BELOW_ACCEPTED_RANGE
Conc. \geq *	La concentrazione deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.	CONCENTRATION_BELOW_ACCEPTED_RANGE
Conc. <*	La concentrazione deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.	CONCENTRATION_ABOVE_ACCEPTED_RANGE
Conc. \leq *	La concentrazione deve essere inferiore o uguale al valore del	CONCENTRATION_ABOVE_

	parametro da inserire.	ACCEPTED_RANGE
“Has no C _T ” (Nessun valore C _T presente)	La curva di amplificazione potrebbe non avere un valore C _T .	UNEXPECTED_CT_DETECTED
“Has a C _T ” (valore C _T presente)	La curva di amplificazione deve avere un valore C _T .	NO_CT_DETECTED
“Inhibition by C _T ” (inibizione e mediante C _T)	<p>Per i test di inibizione mediante C_T, questa regola deve essere applicata a tutti i singoli target di un campione di analisi. Si osservi che questa regola ha un significato diverso se è applicata a un controllo interno o a un altro target. I test di inibizione sono utili soltanto per PCR multiplex con tutti i target di un campione analizzati nella stessa provetta.</p> <p>Se questa regola è applicata a un target diverso dall'IC: Inserire il valore C_T minimo per il quale si deve applicare la regola di inibizione. Se il valore C_T di questo target è superiore al valore inserito oppure non è presente alcun segnale, sarà applicato il controllo dell'inibizione. Se il valore C_T inserito non viene superato oppure se un altro target di prova presenta un segnale, il controllo dell'inibizione non sarà applicato.</p> <p>Se questa regola è applicata all'IC: la differenza tra il valore C_T del controllo interno del campione di analisi e il valore C_T medio del</p>	INHIBITION_BY_CT

controllo interno degli NTC deve essere inferiore al valore inserito.

$x = (C_T \text{ dell'IC del campione di analisi}) - (C_T \text{ medio di tutti gli IC degli NTC})$
x deve essere inferiore al valore da inserire.

“Inhibition by fluorescence” (inibizione mediante fluorescenza)

Per i test di inibizione mediante fluorescenza, questa regola deve essere applicata a tutti i singoli target di un campione di analisi. Si osserva che questa regola ha un significato diverso se è applicata a un controllo interno o a un altro target. I test di inibizione sono utili soltanto per PCR multiplex con tutti i target di un campione analizzati nella stessa provetta.

INHIBITION_BY_FLUORESCENCE

Se questa regola è applicata a un target diverso dall'IC:
Inserire il valore C_T minimo per il quale si deve applicare la regola di inibizione. Se il valore C_T di questo target è superiore al valore inserito oppure non è presente alcun segnale, sarà applicato il controllo dell'inibizione. Se il valore C_T inserito non viene superato oppure se un altro target di prova presenta un segnale, il controllo dell'inibizione non sarà applicato.

Se questa regola è applicata all'IC:
La differenza tra il valore medio di fluorescenza normalizzata del controllo interno degli NTC e il valore di fluorescenza normalizzata del controllo interno del campione di analisi deve essere compresa in un determinato intervallo che dipende dal valore del parametro da inserire. I

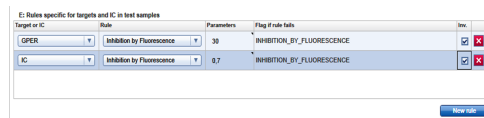
valori della fluorescenza normalizzata sono ricavati dall'ultimo ciclo della PCR.

$$x = (F_{IC\ NTC} - F_{IC\ analisi}) / (F_{IC\ NTC})$$

$F_{IC\ NTC}$: fluorescenza media normalizzata di tutti gli IC degli NTC
 $F_{IC\ analisi}$: fluorescenza normalizzata dell'IC del campione di analisi

x deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.

Nell'esempio riportato di seguito, un'inibizione mediante controllo della fluorescenza viene applicata a tutti i campioni di analisi con un valore C_T superiore a 30 nel target di prova "GPER". Se il fattore calcolato "x" è superiore a 0,7, al campione di analisi sarà assegnato un flag "INHIBITION_BY_FLUORESCENCE".



"> Upper LOQ"* (> LOQ superiore*)

Questa regola si applica unicamente se è stato rilevato un segnale per il target selezionato. LOQ significa "limite di quantificazione". La concentrazione del target deve essere inferiore al valore del parametro da inserire. Se la concentrazione del target è superiore al valore del parametro da inserire, il risultato del target visualizzato dipende dallo stato della casella di controllo di invalidazione come illustrato di seguito.

ABOVE_UPPER_LOQ

- 1) Se la casella di controllo di invalidazione è spuntata, il risultato sarà "INVALID" (non valido).
- 2) Se la casella di controllo di invalidazione non è spuntata, sarà presentato soltanto un risultato qualitativo ("Signal detected" (segnale rilevato)).

"< Lower LOQ" (< LOQ inferiore)*

Questa regola si applica unicamente se è stato rilevato un segnale per il target selezionato. LOQ significa "limite di quantificazione". La concentrazione del target deve essere superiore al valore del parametro da inserire. Se la concentrazione del target è inferiore al valore del parametro da inserire, il risultato del target visualizzato dipende dallo stato della casella di controllo di invalidazione come illustrato di seguito.

BELOW_LOWER_LOQ

- 1) Se la casella di controllo di invalidazione è spuntata, il risultato sarà "INVALID" (non valido).
- 2) Se la casella di controllo di invalidazione non è spuntata, sarà presentato soltanto un risultato qualitativo ("Signal detected" (segnale rilevato)).

* Queste regole sono disponibili unicamente per i target quantitativi. Saranno applicate solo se è stata calcolata una curva standard valida.

3. Se previsto per la regola selezionata, inserire un valore di parametro nella casella di immissione "Parameters" (parametri). Il formato di immissione per i diversi parametri è il seguente:

Parametro	Formato del valore del parametro
"Fluorescence" (fl uorescenza)	Inserire un valore per la fluorescenza normalizzata compreso tra 0 e 100.

“C _T value” (valore C _T)	Inserire un valore C _T compreso tra 1 e 100. Il valore non deve essere superiore al numero di cicli del processo.
“Concentration” (concentrazione)	Inserire un valore di concentrazione. Questo valore deve essere espresso nell’unità di concentrazione predefinita ed è riferito alla concentrazione target nell’eluato.
“Inhibition by C _T ” (inibizione mediante C _T)	Per un target diverso dall’IC: Inserire un valore C _T compreso tra 1 e il numero di cicli definiti nel profilo di dosaggio. Per l’IC: Inserire un valore per il Delta C _T massimo tra IC _{analisi} e IC _{NTC} che non possa essere superato.
“Inhibition by fluorescence” (inibizione mediante fluorescenza)	Per un target diverso dall’IC: Inserire un valore C _T compreso tra 1 e il numero di cicli definiti nel profilo di dosaggio. Per l’IC: Inserire un valore per x compreso tra 0 e 1. $x = (FI_{IC\ NTC} - FI_{IC\ analisi}) / (FI_{IC\ NTC})$ FI _{IC NTC} : fluorescenza media normalizzata di tutti gli IC degli NTC FI _{IC analisi} : fluorescenza normalizzata dell’IC del campione di analisi
> Upper LOQ (> LOQ superiore)	Inserire la concentrazione massima compresa nel range lineare del target. Questo valore deve essere espresso nell’unità di concentrazione predefinita ed è riferito alla concentrazione target nell’eluato.
“< Lower LOQ” (< LOQ inferiore)*	Inserire la concentrazione minima compresa nel range lineare del target. Questo valore deve essere espresso nell’unità di concentrazione predefinita ed è riferito alla concentrazione target nell’eluato.

4. Nel riquadro “Flag in caso di violazione regola” viene visualizzato automaticamente il flag che sarà applicato se la regola non è rispettata.

- Spuntare la casella di controllo nella colonna “Inv.” (non valido) se il risultato del target deve essere impostato come non valido qualora la regola configurata non sia rispettata. Se la casella di controllo non è spuntata, il flag sarà soltanto aggiunto come avvertimento a un risultato valido.

F: regole di analisi per campioni di analisi

In questa sezione è possibile definire le regole di analisi specifiche per i campioni di analisi.

F: Analysis rules for test samples

Select analysis rule

- Invalidate if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal. ▼
- Invalidate if at least one target is invalid or if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal.
- Invalidate if one IC is invalid or if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal.
- Invalidate if one IC is invalid or has no signal and no other target in the same tube has a signal.
- Invalidate if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal.
- Never invalidate

La funzione della sezione F corrisponde a quella della sezione C precedente, ma descrive l'effetto del risultato dell'analisi per i singoli target sulla validità dell'intero campione di analisi. In questo contesto, con singoli target si intendono tutti i target specifici e i controlli interni (IC). Si noti che vengono considerati tutti i tipi di flag di invalidità, a prescindere dal fatto che siano stati impostati dal processo a monte, dall'analisi principale o dalle regole definite, ad esempio, nelle sezioni A e B dell'analisi di dosaggi e campioni.

Nella sezione C viene inoltre descritto l'effetto di un IC senza segnale sulla validità del campione di analisi. Ciò tiene conto del ruolo speciale dell'IC nella PCR in tempo reale per monitorare la corretta amplificazione di un campione. In questo contesto, il solo segnale IC non è conclusivo e deve essere confrontato con il segnale dei target corrispondenti nella stessa provetta. Ad esempio, un segnale mancante per il solo IC indica un'amplificazione mancante soltanto se anche tutti gli altri target nella stessa provetta non mostrano alcuna amplificazione. Se una delle regole definite in questa sezione è vera per un target specifico o un IC di un campione di analisi, l'intero campione di analisi è impostato come non valido nell'analisi. Ciò significa che a tutti i target di quel campione di analisi sono attribuiti corrispondenti flag di invalidità.

Selezionare una regola di analisi dall'elenco a discesa. Si possono applicare le seguenti regole:

Nome della regola	Funzione della regola	Commenti
“Invalidate if at least one target is invalid or if one IC has no	Tutti i target del campione di analisi saranno impostati come non validi se:	Si tratta della condizione più severa che sia possibile selezionare in questa

signal and no other target in the same tube has a signal". (Invalidare se almeno un target è non valido o se un IC non presenta un segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale).

- almeno un target è non valido;
- oppure
- un qualsiasi controllo interno non presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale.

sezione. Se a qualsiasi un target del campione di analisi è assegnato un flag di invalidità (impostato dal processo a monte, dall'analisi principale o dalle regole definite nelle Sezioni A o B), l'intero campione di analisi è impostato come non valido. Lo stesso accade se il controllo interno non presenta alcun segnale (nessun C_T) e nessun altro target nella stessa provetta dell'IC presenta un segnale, condizione che indica che il processo PCR non ha amplificato correttamente il campione.

Nota: si raccomanda di utilizzare la regola più severa per tutti i dosaggi di routine. Le regole meno severe sotto riportate possono essere applicate se il profilo di dosaggio è ancora in fase di sviluppo e si desidera vedere il risultato target, anche nel caso in cui si sia verificato un problema con un altro target o con l'amplificazione della PCR.

"Invalidate if one IC is invalid or if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal". (invalidare se un IC non è valido o se un IC non presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa

- Tutti i target del campione di analisi saranno impostati come non validi se:
- un qualsiasi controllo interno è non valido;
- oppure
- un qualsiasi controllo interno non presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale.

Questa regola rileva un IC non valido in tutti i casi e invalida il corrispondente campione di analisi. Anche l'amplificazione mancante dell'IC viene rilevata e invalida il campione di analisi. Rispetto alla regola 1, i target specifici non validi non hanno alcun effetto sulla validità del campione di analisi.

provetta presenta un segnale).

Nota: da utilizzare con cautela. Per questa regola, lo stato di validità di un target non IC non è rilevante per gli altri target. Nel caso di dosaggi multiplex con maggiore molteplicità, ciò potrebbe avere come risultato che i singoli target non validi non invalidano automaticamente gli altri target per questo campione di analisi.

“Invalidate if one IC is invalid or has no signal and no other target in the same tube has a signal” (invalidare se un IC non è valido o non presenta un segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale).

Tutti i target del campione di analisi saranno impostati come non validi se:

- un qualsiasi controllo interno è non valido e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale.

oppure

- un qualsiasi controllo interno non presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale.

Questa regola rileva un IC non valido o un'amplificazione mancante attraverso l'IC e, in tal caso, invalida tutti gli altri target per questo campione di analisi. Tuttavia, se l'amplificazione viene rilevata contemporaneamente per qualsiasi target non IC, non si verificherà alcuna invalidazione.

Nota: da utilizzare con cautela. Per questa regola, lo stato di validità di un target non IC non è rilevante per gli altri target. Nel caso di dosaggi multiplex con maggiore molteplicità, ciò potrebbe avere come risultato che i singoli target non validi non invalidano automaticamente gli altri target per questo campione di analisi.

“Invalidate if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal” (invalidare se un IC non

Tutti i target del campione di analisi selezionato saranno impostati come non validi se:

- un qualsiasi controllo interno non presenta alcun segnale e nessun altro

Questa regola rileva soltanto un'amplificazione mancante attraverso un segnale mancante per l'IC e, in tal caso, invalida tutti gli altri

presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale).

target nella stessa provetta presenta un segnale.

target per questo campione di analisi.

Nota: da utilizzare con cautela. L'invalidità dell'IC per qualsiasi altra ragione non determina la corrispondente invalidità di altri target per questo campione di analisi. Inoltre, per questa regola, lo stato di validità di tutti i target non IC non è rilevante per gli altri target. Nel caso di dosaggi multiplex con maggiore molteplicità, ciò potrebbe avere come risultato che i singoli target non validi non invalidano automaticamente gli altri target per questo campione di analisi.

“Never invalidate” (non invalidare mai)

Lo standard o il controllo selezionato non sarà mai impostato come non valido.

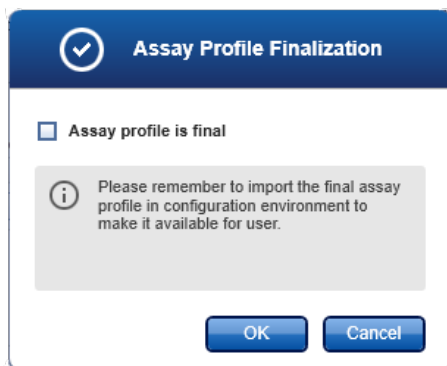
Con questa impostazione, non vi è alcuna interdipendenza tra i target. Tuttavia, tutti i singoli target con flag assegnati dai passaggi precedenti mantengono i propri flag e lo stato “invalid” (non valido). Nota: da utilizzare con cautela. Qualsiasi invalidità attribuita a un target non determinerà l'invalidità di tutti gli altri target per questo campione di analisi.

Nota

Le regole del menu a tendina sono ordinate secondo severità decrescente.

Per gli esempi relativi alle modalità di applicazione delle varie regole, consultare la sezione C precedente.

43. Dopo avere impostato tutte le regole di analisi dei dosaggi e dei campioni, fare clic su “Save assay profile as...” (salva profilo di dosaggio con nome).
44. Comparire la seguente finestra di dialogo:



45. Confermare che il profilo di dosaggio è definitivo spuntando la casella di controllo “Assay profile is final” (il profilo di dosaggio è definitivo) (se questa casella di controllo non è spuntata, il profilo di dosaggio non può essere importato in Rotor-Gene AssayManager per il setup dell’elenco di lavoro).
46. Fare clic su “OK”.
47. Si apre la finestra di dialogo “Save Assay As” (salva dosaggio con nome).
48. Sfogliare fino alla directory di destinazione e fare clic su “OK”.

Nota

Prima di potere utilizzare il nuovo profilo di dosaggio per il setup di un elenco di lavoro, è necessario importarlo nel database di Rotor-Gene AssayManager. Andare alla scheda “Assay Profiles” (profili di dosaggio) nell’ambiente “Configuration” (configurazione), fare clic su “Import...” (importa...) e selezionare il file da importare. Fare clic su “Open” (apri) per importare il nuovo profilo di dosaggio nel database di Rotor-Gene AssayManager.

Argomenti correlati

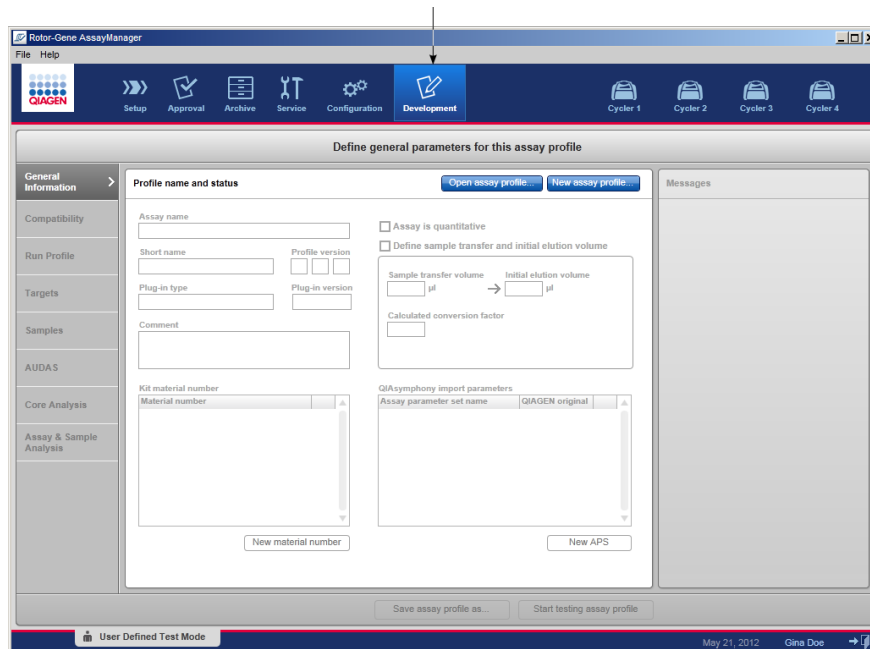
- ▶ Analisi di un profilo di dosaggio

Modifica di un profilo di dosaggio

Anziché creare un profilo di dosaggio a partire da zero, è possibile importarne uno esistente e modificarlo. Il flusso di lavoro per modificare un profilo di dosaggio esistente è lo stesso descritto in ▶ Creazione di un profilo di dosaggio. L’unica differenza risiede nel fatto che, invece di fare clic su “New assay profile...” (nuovo profilo di dosaggio...) si utilizza “Open assay profile” (apri profilo di dosaggio).

Procedura dettagliata per modificare un profilo di dosaggio

1. Fare clic sull'icona "Development" (sviluppo) per passare all'ambiente "Development" (sviluppo).



2. Si apre l'ambiente "Development" (sviluppo). In questo stato iniziale sono abilitati soltanto due pulsanti di avvio, "Open assay profile..." (apri profilo di dosaggio...) e "New assay profile..." (nuovo profilo di dosaggio...). Tutti gli altri elementi sono disabilitati.
3. Fare clic su "Open assay profile..." (apri profilo di dosaggio).
Si apre la finestra di dialogo "Select assay profile to load" (seleziona il profilo di dosaggio da caricare).
4. Sfogliare fino alla directory che contiene il profilo di dosaggio da utilizzare, selezionarlo e fare clic su "OK".
5. Continuare con il passaggio 7 della procedura descritta in ► Creazione di un profilo di dosaggio.

Argomenti correlati

- Analisi di un profilo di dosaggio

Analisi di un profilo di dosaggio

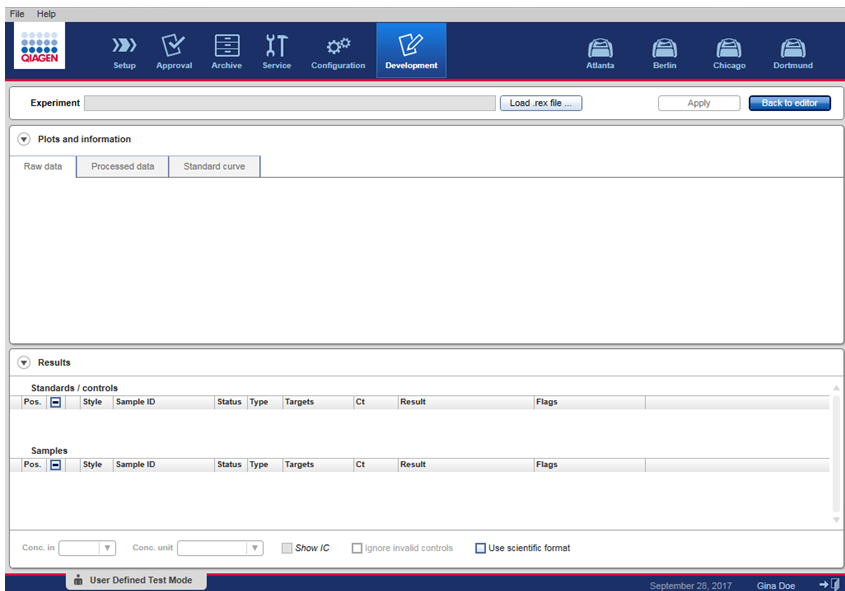
È possibile analizzare un profilo di dosaggio correntemente sottoposto al processo di sviluppo eseguendo l'analisi virtuale di un esperimento PCR terminato in precedenza. Il profilo di dosaggio corrente può essere analizzato utilizzando dati sperimentali reali. L'esito di tale processo è la risposta alla domanda "Quali sarebbero stati i risultati se un esperimento terminato in precedenza fosse stato eseguito con il profilo di dosaggio attualmente sviluppato?".

È possibile caricare un file *.rex (contenente i dati non elaborati dell'esperimento e i dati del campione) generato da un esperimento condotto con il software Rotor-Gene o con Rotor-Gene AssayManager. I dati del file *.rex, in particolare le regole e i parametri definiti nelle sottoschede "Core Analysis" (analisi principale) e "Assay & Sample Analysis" (analisi di dosaggi e campioni), sono analizzati con il profilo di dosaggio attualmente sviluppato. I dati non elaborati, i dati elaborati e, per quanto riguarda i dosaggi quantitativi, anche la curva standard, possono essere controllati e confrontati con i risultati generati dal profilo di dosaggio.

Schermata di analisi

La schermata utilizzata per analizzare i profili di dosaggio è composta da tre parti:

- una barra dei pulsanti interattiva posta nella parte superiore
- l'area "Plots and information" (grafici e informazioni)
- l'area "Results" (risultati)



Per caricare un file *.rex si utilizza il pulsante "Load .rex file..." (carica file *.rex) posto nella parte superiore della schermata. Facendo clic su "Apply" (applica) si avvia il processo di analisi utilizzando il file *.rex caricato e il profilo di dosaggio attualmente

sviluppato. Facendo clic su “Back to editor” (torna all’editor) si passa all’ambiente “Development” (sviluppo).

Nota

L’ambiente di analisi del profilo di dosaggio è progettato in modo da essere molto simile all’ambiente “Approval” (convalida). Per maggiori informazioni sulle funzionalità, consultare la descrizione dell’ambiente “Approval” (convalida) nel *Manuale utente dell’applicazione core di Rotor-Gene AssayManager v1.0*.

Procedura dettagliata per l’analisi di un profilo di dosaggio

1. Fare clic su “Start testing assay profile” (avvia analisi del profilo di dosaggio) nella barra dei pulsanti dell’ambiente “Development” (sviluppo).



Si apre la schermata che consente di analizzare i profili di dosaggio.

2. Fare clic su “Load *.rex file” (carica file *.rex) nella barra dei pulsanti.
Si apre la finestra di dialogo “Select *.rex file to load” (seleziona file *.rex da caricare).
3. Andare alla directory che contiene il file *.rex, selezionarlo e fare clic su “OK”.

Nota

Il profilo del processo del file *.rex deve corrispondere esattamente al profilo del processo del dosaggio. Anche le posizioni sul rotore dei controlli esterni e dei campioni di analisi devono essere identiche.
Se le impostazioni del processo o le definizioni dei tipi di campione differiscono tra i due file, verrà visualizzato un messaggio di errore corrispondente.

Nota

Alle posizioni vuote del rotore deve corrispondere il tipo di campione “None” (nessuno) nel file rex da caricare. Soltanto le posizioni dei campioni di analisi possono essere di tipo “Unknown” (sconosciuto).

Nota

L’ambiente di analisi supporta unicamente file rex con campioni definiti su una sola pagina. Non è possibile caricare file rex con campioni definiti su più pagine.

4. Fare clic su “Apply” (applica) nella barra dei pulsanti per avviare il processo di analisi utilizzando il profilo di dosaggio attualmente sviluppato.

I dati non elaborati dell'esperimento ricavati dal file *.rex sono analizzati utilizzando il profilo di dosaggio.

I risultati sono presentati nell'area “Plots and information” (grafici e informazioni) e nella tabella “Results” (risultati).

Nota

Se sono stati apportati cambiamenti al profilo di dosaggio, i risultati nell'ambiente di analisi non saranno aggiornati automaticamente. Per aggiornare i risultati occorre fare clic sul pulsante “Apply” (applica).

Nota

Il file *.rex caricato deve contenere solo dati non elaborati dell'esperimento e dati del campione. Se la funzione “crop cycles” (elimina cicli) è già stata usata sul file, il file *.rex non può essere usato nell'ambiente di analisi del profilo di dosaggio, come verrà indicato da un messaggio. Riaprire il file *.rex con il software Rotor-Gene Q e cancellare il canale non elaborato in cui sono stati eliminati cicli. Fare clic su “Options” (opzioni) nel canale non elaborato corrispondente e selezionare “Delete this raw channel” (cancella questo canale non elaborato). Il file *.rex, una volta esportato, può essere usato nell'ambiente di analisi del profilo di dosaggio di Rotor-Gene AssayManager v1.0.

Creazione di un file .qut

L'analisi principale definisce gli algoritmi per la normalizzazione delle curve di amplificazione e la quantificazione dei target. Nella scheda “Core Analysis” (analisi principale), la maggior parte dei valori dei parametri deve essere importata da un file modello di quantificazione di Rotor-Gene. Questo file *.qut può essere generato dopo l'analisi di un dosaggio nel software Rotor-Gene standard.

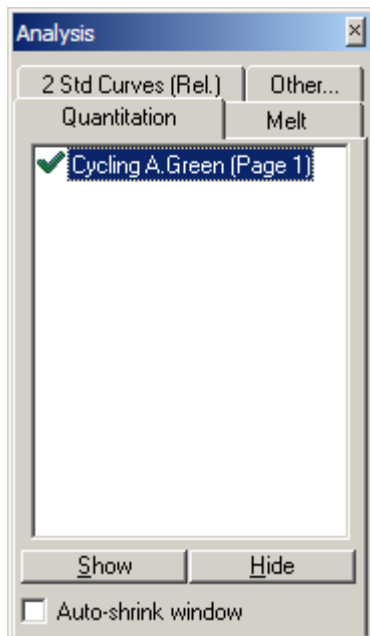
Generazione di file *.qut nel software Rotor-Gene

Analisi

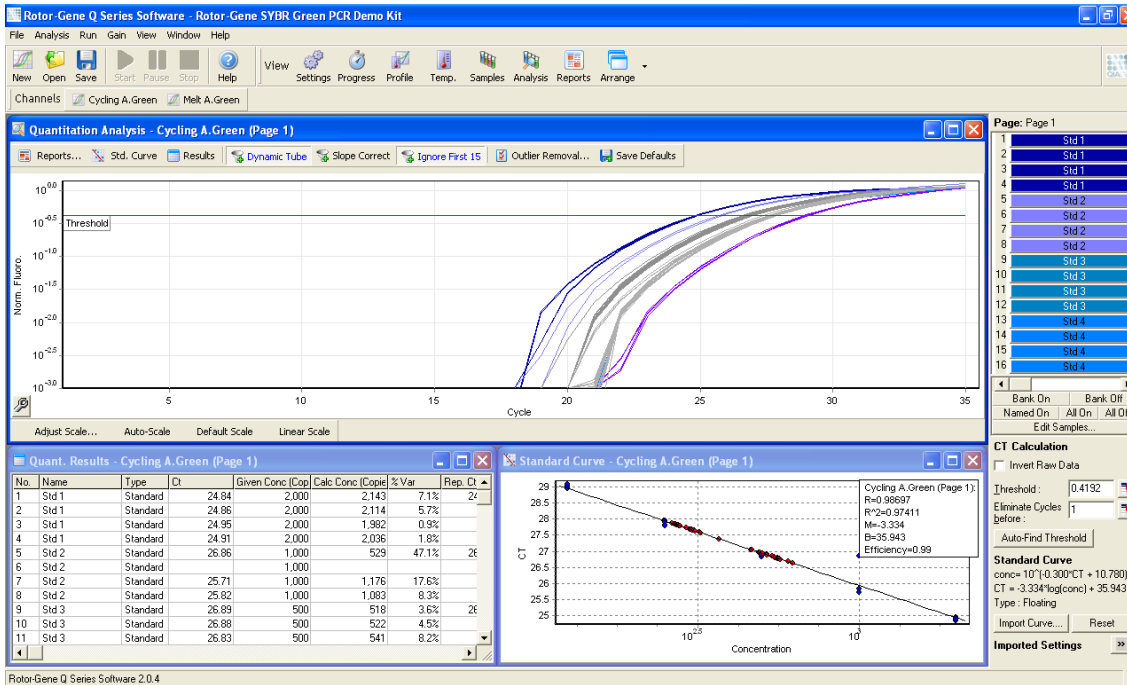
Dopo aver aperto i dati non elaborati di un processo PCR e aver fatto clic su “Analysis” (analisi), si apre la finestra “Analysis” (analisi).

Salvataggio di un file *.qut

Selezionare la scheda “Quantitation” (quantificazione) nella finestra “Analysis” (analisi). Fare doppio clic sul nome del canale o selezionare il canale e fare clic su “Show” (mostra) per aprire il canale di interesse.



Si aprono tre finestre: la schermata principale, la curva standard e i risultati. Adattare le opzioni di analisi come richiesto (ad es. impostare una soglia, attivare la normalizzazione con provetta dinamica, applicare la correzione della pendenza, ecc.).




Nota


Per maggiori dettagli relativi alle diverse opzioni di analisi nel software Rotor-Gene, consultare il *Manuale utente di Rotor-Gene Q*.

In basso a destra della schermata, espandere le “Imported Settings” (impostazioni importate) facendo clic su .

CT Calculation


Invert Raw Data

Threshold : 

Eliminate Cycles before : 

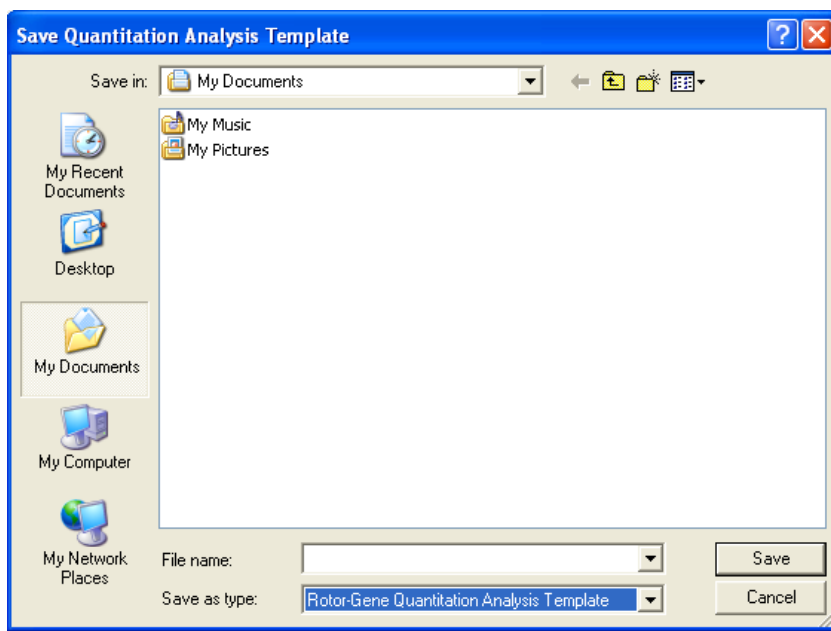
Standard Curve

$conc = 10^{(-0.300 \cdot CT + 10.780)}$
 $CT = -3.334 \cdot \log(conc) + 35.943$
 Type : Floating

Imported Settings 

<none>

Fare clic su “Export...” (esporta...) per esportare le opzioni di analisi selezionate in un file template dell’analisi di quantificazione di Rotor-Gene.



Inserire un nome per il file, sfogliare fino alla directory di destinazione e confermare facendo clic su “Save” (salva). L’estensione del file template dell’analisi di quantificazione di Rotor-Gene è *.qut.

Nota

È necessario generare uno specifico file *.qut per ogni singolo canale di acquisizione.

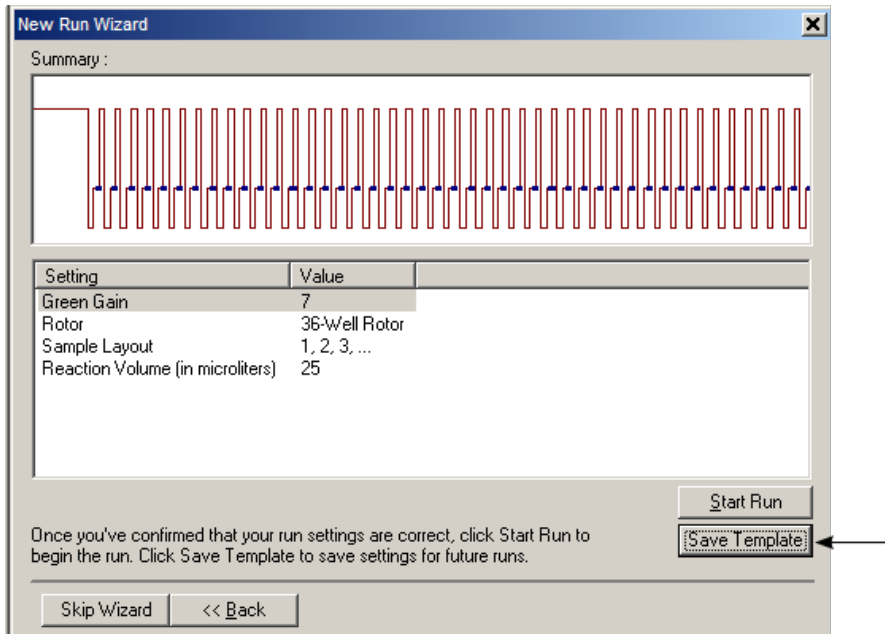
Creazione di un file .ret

La scheda “Run Profile”(profilo del processo) consente di caricare il file template dell’esperimento di Rotor-Gene (file *.ret) per definire le condizioni di ciclizzazione e i canali di acquisizione relativi al profilo di dosaggio. Questi parametri non possono essere configurati o modificati direttamente in Rotor-Gene AssayManager. La configurazione può essere effettuata soltanto nel software Rotor-Gene standard. Per maggiori dettagli, consultare il *Manuale utente di Rotor-Gene Q* .


Salvataggio di template nel software Rotor-Gene

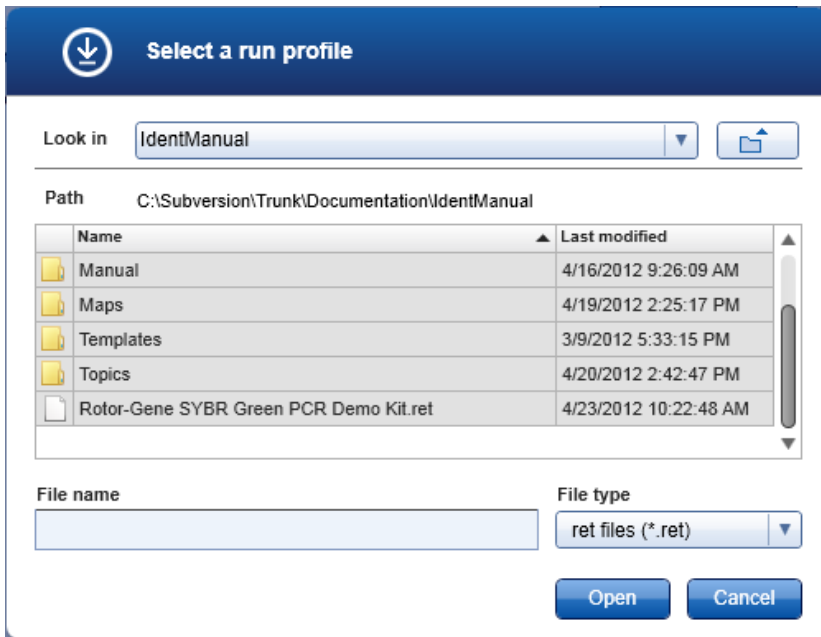
Impostare un processo nel software Rotor-Gene usando la procedura guida Advanced (avanzata) secondo i requisiti del dosaggio. In “New Run Wizard window 4” (procedura guidata del nuovo processo, finestra 4), sono riassunte le impostazioni del processo

che possono essere salvate come file template utilizzando “Save Template” (salva template). In alternativa, si può aprire un processo finito e selezionare la funzione “Save As Template...” (Salva come template...) dal menu File. Per dettagli sul salvataggio di file template, consultare il *Manuale utente di Rotor-Gene Q* .

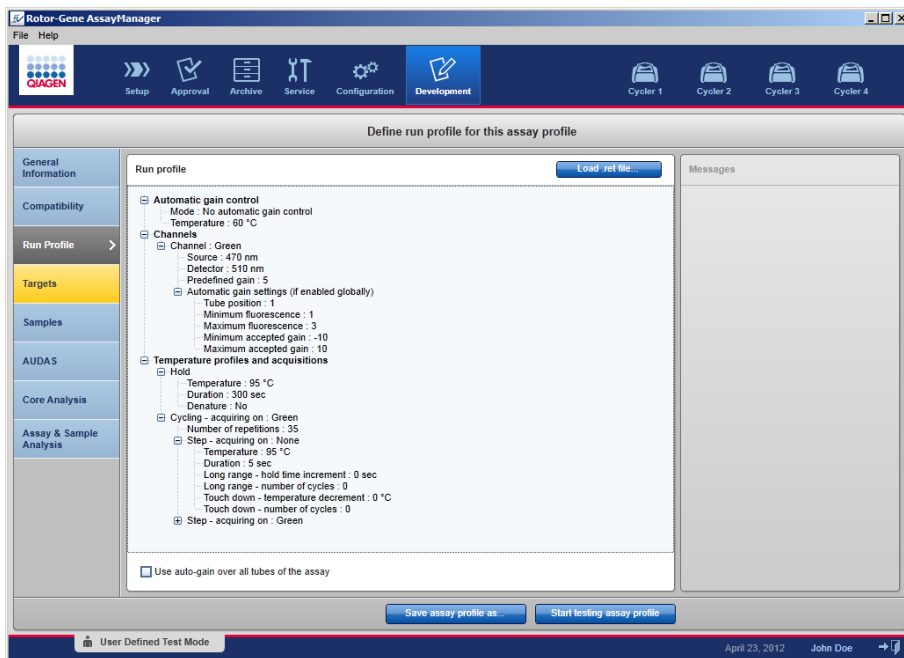


Caricamento di file template in Rotor-Gene AssayManager

Per caricare un file template dell'esperimento di Rotor-Gene (file *.ret) in Rotor-Gene AssayManager, fare clic su "Load *.ret file...." (carica file *.ret....) . Si apre una finestra di dialogo in cui è possibile selezionare la directory di origine. Selezionare il file *.ret desiderato e fare clic su "Open" (apri).



Una volta eseguito il caricamento del file template, è possibile controllare le impostazioni dettagliate del processo. Le diverse impostazioni del processo possono essere ingrandite o rimpicciolite usando i pulsanti "+" o "-" nell'elenco.



Nota

Le impostazioni del processo non possono essere modificate con Rotor-Gene AssayManager v1.0.

Nella parte inferiore della schermata è presente una casella di controllo chiamata “Use auto-gain over all tubes of the assay” (usa auto-gain su tutte le provette del dosaggio). Spuntare questa casella di controllo per applicare l’ottimizzazione auto-gain a tutte le posizioni riservate del rotore e non soltanto a quella definita durante l’impostazione del processo nel software Rotor-Gene.

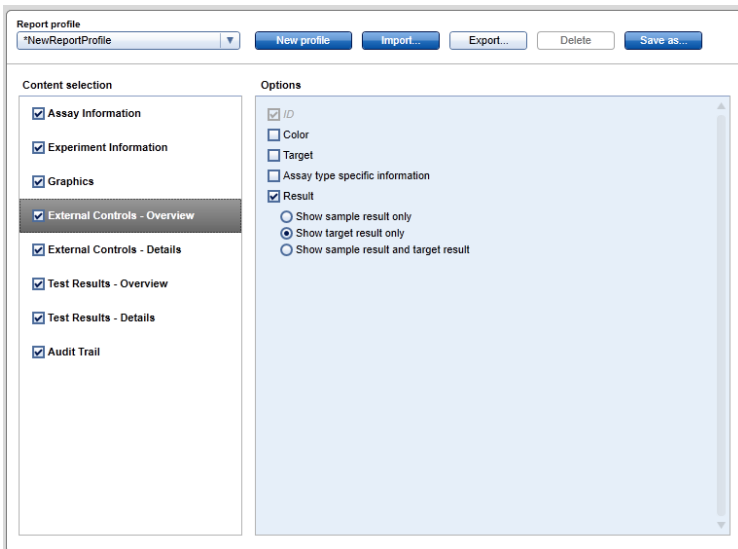
Se la casella “Use auto-gain over all tubes of the assay” (usa auto-gain su tutte le provette del dosaggio) è spuntata, durante l’acquisizione dei dati sarà applicato il gain mediano determinato su tutte le posizioni riservate sul rotore di quel dosaggio. Questa opzione si applica a tutti i diversi canali di acquisizione e alle fasi definite in quel profilo di dosaggio.

1.3.2.4 Profili dei referti per i dosaggi del plug-in base UDT

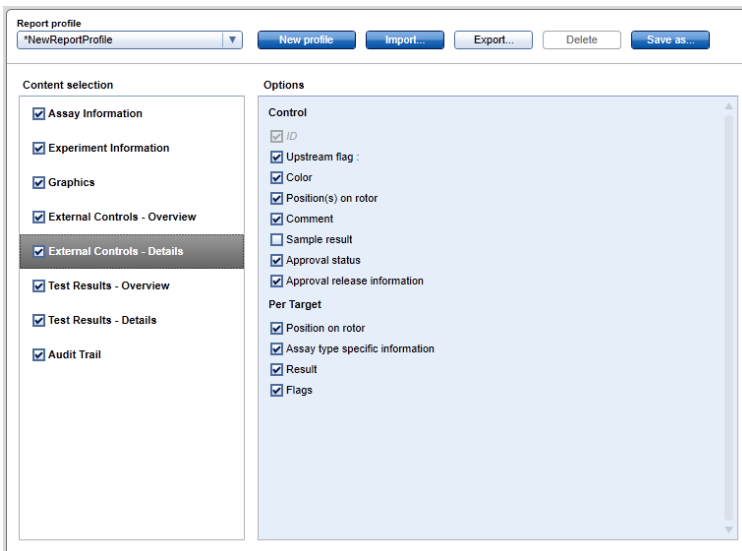
Nel profilo di un referto relativo ai dati di un dosaggio del plug-in base UDT alcune opzioni devono essere impostate in un certo modo per ottenere un appropriato referto in formato PDF. I profili dei referti possono essere creati e gestiti nella scheda “Report Profiles” (profili dei referti) dell’ambiente “Configuration” (configuration).

La seguente configurazione è utile per i profili dei referti utilizzati per i dosaggi del plug-in base UDT standard con una sola posizione del rotore per ID del campione.

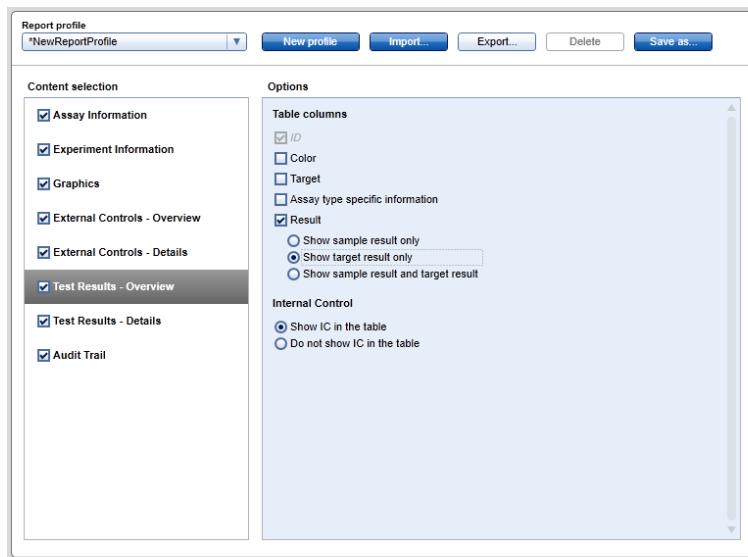
1. Andare a “External Controls - Overview” (controlli esterni - panoramica) nell’area “Content selection” (selezione contenuto) e selezionare il pulsante “Show target result only” (mostra solo risultato del target).



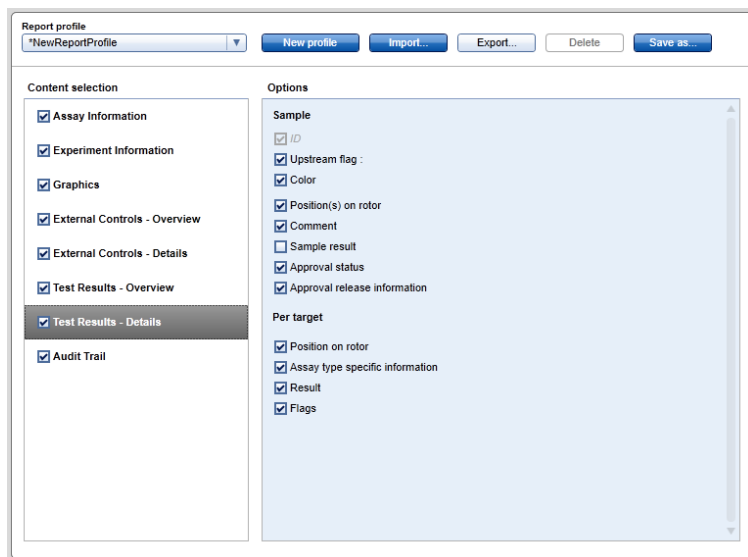
2. Andare a “External Controls - Details” (controlli esterni - dettagli) nell’area “Content selection” (selezione contenuto) e deselegionare la casella di controllo “Sample result” (risultato del campione).



3. Andare a “Test Results - Overview” (risultati analisi - panoramica) nell’area “Content selection” (selezione contenuto) e selezionare il pulsante “Show target result only” (mostra solo risultati del target).



4. Andare a “Test Results - Details” (risultati analisi - dettagli) nell’area “Content selection” (selezione contenuto) e deselegzionare la casella di controllo “Sample result” (risultato del campione).



Oltre a queste configurazioni, i profili dei referti possono essere adattati alle specifiche esigenze.

Soltanto per i dosaggi del plug-in base UDT in cui un campione è suddiviso in diverse posizioni del rotore è essenziale l'opzione "Sample result" (risultato del campione) nel profilo del referto menzionato in precedenza.

1.4 Informazioni sulla documentazione online

Rotor-Gene AssayManager usa dei plug-in per incrementare la propria funzionalità. Per avere una chiara distinzione tra il manuale utente dell'applicazione core e i manuali utente dei plug-in e per mantenere concisa e mirata la documentazione, gli argomenti di carattere generale sono spiegati nel manuale utente dell'applicazione core.

La massima qualità delle informazioni fornite dipende dall'ambiente in cui ci si trova al momento, specialmente per le voci seguenti:

- ▶ Guida per la tabella "Plots and information" (grafici e informazioni)
- ▶ Guida per la tabella "Results" (risultato)
- ▶ Guida per l'analisi di un profilo di dosaggio

1.4.1 Guida per la tabella "Plots and information" (grafici e informazioni)

La guida per la tabella "Plots and Information" (grafici e informazioni) è disponibile nel *Manuale utente del plug-in base UDT* o nel *Manuale utente dell'applicazione core di Rotor-Gene AssayManager*.

La tabella seguente mostra dove trovare altre informazioni, a seconda dell'ambiente corrente.

Ambiente	File della guida e argomento
"Approval" (con valida)	<i>Manuale utente del plug-in base UDT</i> (cioè il presente manuale) Argomento: ▶ Informazioni generali sull'approvazione dei campioni
"Archive" (archivio)	<i>Manuale utente dell'applicazione core di Rotor-Gene AssayManager</i> Argomenti: ▪ "Basic Concepts" (concetti base) → "Environments" (ambienti) → "Archive Environment" (ambiente archivio)

Ambiente	File della guida e argomento
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ “Using Rotor-Gene AssayManager” (uso di Rotor-Gene AssayManager) → “Administrative Tasks” (attività amministrative) → “Managing Archives” (gestione archivi)
“Development” (sviluppo)	<i>Manuale utente del plug-in base UDT</i> (cioè il presente manuale) Argomento: ► Analisi di un profilo di dosaggio

Qualora le informazioni facciano riferimento al *Manuale utente dell'applicazione core di Rotor-Gene AssayManager*, aprire il file della guida usando il menu “Start” di Windows:

Start → “All Programs” (tutti i programmi) → QIAGEN → Rotor-Gene AssayManager

1.4.2 Guida per la tabella “Results” (risultati)

La guida per la tabella “Results” (risultati) è disponibile nel *manuale utente del plug-in base UDT* o nel *manuale utente dell'applicazione core di Rotor-Gene AssayManager*.

La tabella seguente mostra dove trovare altre informazioni, a seconda dell'ambiente corrente.

Ambiente	File della guida e argomento
“Approval” (convalida)	<i>Manuale utente dell'applicazione core di Rotor-Gene AssayManager</i> Argomento: <ul style="list-style-type: none"> ▪ “Using Rotor-Gene AssayManager” (uso di Rotor-Gene AssayManager) → “Standard Tasks” (attività standard) → “Approving a Run” (approvazione di un processo)
“Archive” (archivio)	<i>Manuale utente dell'applicazione core di Rotor-Gene AssayManager</i> Argomento: <ul style="list-style-type: none"> ▪ “Using Rotor-Gene AssayManager” (uso di Rotor-Gene AssayManager) → “Administrative Tasks” (attività amministrative) → “Managing Archives” (gestione archivi)
“Development” (sviluppo)	<i>Manuale utente del plug-in base UDT</i> (cioè il presente manuale)

Ambiente	File della guida e argomento
	Argomento: ▶ Analisi di un profilo di dosaggio

Qualora le informazioni facciano riferimento al *manuale utente dell'applicazione core di Rotor-Gene AssayManager*, aprire il file della guida usando il menu "Start" di Windows:

Start → "All Programs" (tutti i programmi) → QIAGEN → Rotor-Gene AssayManager

1.4.3 "Core Analysis" (analisi principale)

La guida relativa a "Core Analysis" (analisi principale) è disponibile nella sezione "Creazione di un profilo di dosaggio". Fare clic sul seguente collegamento per andare alla sezione corrispondente:

▶ "Core Analysis" (analisi principale)

1.4.4 Analisi di dosaggi e campioni

La guida relativa ad "Analisi di dosaggi e campioni" è disponibile nella sezione "Creazione di un profilo di dosaggio". Fare clic sul seguente collegamento per andare alla sezione corrispondente:

▶ Analisi di dosaggi e campioni

1.5 Messaggi di errore

L'elenco seguente mostra tutti i messaggi di errore che possono comparire durante il funzionamento di questo plug-in. Se occorre contattare l'assistenza tecnica, fornire al tecnico le seguenti informazioni:

- azioni effettuate prima della comparsa del messaggio d'errore
- ID errore

Nota

L'ID errore è univoco e consente all'assistenza tecnica QIAGEN di identificare chiaramente il messaggio d'errore.

ID errore	Testo errore
560010	Il dosaggio "{0}" non è stato trovato.
560011	Il controllo esterno '{0}' non è stato trovato.

ID errore	Testo errore
560012	Il target "{0}" non è stato trovato.
560014	Si è verificato un errore durante il recupero dei campioni di analisi per il profilo di dosaggio {0}.
560015	Il parametro della regola "{0}" non è stato trovato.
560017	Impossibile creare una regola a causa di un parametro inatteso {0}.
560018	Impossibile creare una regola di tipo {0}.
560019	Impossibile creare una descrizione della regola del tipo {0}.
560020	Non è stata trovata alcuna regola con nome {0}.
560021	Non è stato trovato alcun tipo {0} di regola.
560022	Impossibile creare una regola a causa di un numero di parametri inatteso: il numero atteso era {0} ma è stato riscontrato {1}.
560023	Non è stato trovato alcun tipo {0} di descrizione di regola.
560024	La raccolta di campioni deve contenere almeno un campione.
570003	La curva fornita non è valida.
570012	Non è stato possibile effettuare la correzione della pendenza senza l'attivazione dell'opzione "Dynamic Tube" (provetta dinamica). Controllare il file .qut di Rotor Gene e riprovare.
570014	Il valore della soglia del ciclo fornito è zero. Controllare il file .qut di Rotor Gene e riprovare.
570015	La pendenza della curva di regressione fornita è zero.
570016	Validazione dello schema non riuscita: {0}
570017	Impossibile caricare il template di quantificazione. Lettura del file non riuscita. Controllare il file .qut di Rotor Gene e riprovare.
570018	Impossibile caricare il template di quantificazione. Il file non contiene tutti i campi obbligatori. Creare un file in cui siano impostati tutti i campi, inclusa la soglia.
570026	Il numero immesso per N1 non è valido. Inserire un numero valido (1 - {1}).
570027	Il valore di N2 per il target {0} non deve essere superiore a {1}. Inserire un numero valido nel campo N2.
570031	Inserire un numero valido per N2 (tra 1 e il numero massimo di cicli).
570033	Il template di processo non contiene alcun parametro di ciclizzazione.
570034	Il profilo del processo deve contenere unicamente le fasi "Cycling" (ciclizzazione) e "Hold" (mantieni). Verificare la consistenza tra il profilo del processo e il profilo di dosaggio.
570035	Inserire un numero valido per N1 (tra 1 e il numero massimo di cicli).
570036	Il file rex caricato contiene una fase di fusione. Il profilo di dosaggio non condente fasi di fusione. Verificare la consistenza tra il file rex e il profilo di dosaggio.

ID errore	Testo errore
570037	Inserire un valore valido per {0} del target {1} {2}-{3}.
570057	Non è stato trovato alcun profilo target con il nome {0}.
570066	Accorciare il commento sul campione a massimo 256 caratteri.
570067	Accorciare il commento sul dosaggio a massimo 256 caratteri.
570070	Generazione del referto non riuscita. Motivo: {0}
570073	Lancio dell'applicazione {0} non riuscito. Motivo:
570074	File {0} non trovato.
570106	Il valore di concentrazione deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.
570107	Il valore R deve essere superiore al valore del parametro da inserire.
570112	Il valore di concentrazione deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.
570113	Il valore di concentrazione deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570114	Il valore Ct deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.
570115	Il valore Ct deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570116	Il valore di concentrazione deve essere superiore al valore del parametro da inserire.
570117	Il valore di concentrazione deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570118	Il valore Ct deve essere superiore al valore del parametro da inserire.
570119	Il valore Ct deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570120	La fluorescenza deve essere superiore al valore del parametro da inserire. (la regola è valutata solo se è presente un valore Ct).
570121	La fluorescenza deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire. (la regola è valutata solo se è presente un valore Ct).
570135	Il valore R deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570136	L'efficienza deve essere superiore al valore del parametro da inserire.
570137	Il valore di efficienza deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570138	Il numero di standard di quantificazione (QS) validi deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570156	"Invalidate if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal" (invalidare se un IC non presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale).

ID errore	Testo errore
570157	“Invalidate if one IC is invalid or has no signal and no other target in the same tube has a signal” (invalidare se un IC non è valido o non presenta un segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale).
570158	“Invalidate if one IC is invalid or if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal”. (invalidare se un IC non è valido o se un IC non presenta alcun segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale).
570159	“Invalidate if at least one target is invalid or if one IC has no signal and no other target in the same tube has a signal”. (Invalidare se almeno un target è non valido o se un IC non presenta un segnale e nessun altro target nella stessa provetta presenta un segnale).
570172	{0}Inserire parametri validi. Per maggiori informazioni, posizionare il cursore sopra il nome della regola.
570175	Definisce il limite inferiore di quantificazione. Per concentrazioni inferiori al valore del parametro da inserire, è presentato soltanto un risultato qualitativo.
570176	Definisce il limite superiore di quantificazione. Per concentrazioni superiori al valore del parametro da inserire, è presentato soltanto un risultato qualitativo.
570186	La fluorescenza deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.
570187	La fluorescenza deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570192	Questo tipo di dosaggio non è supportato da AUDAS.
570195	Risultato del campione non supportato.
570202	Digitare una password valida.
570203	Questo utente è stato disattivato. Contattare il proprio amministratore locale.
570205	Password scaduta.
570206	Inserire un numero valido per il target {0} nel campo “Remove data after cycle” (rimuovi dati dopo il ciclo).
570207	Inserire un numero valido per il target {0} nel campo “Remove data before cycle” (rimuovi dati prima del ciclo) (1 - 40).
570208	Il valore di “Remove data after cycle” (rimuovi dati dopo il ciclo) deve essere superiore al valore di “Remove data before cycle” (rimuovi dati prima del ciclo). La differenza tra questi valori deve essere almeno pari a 7.
570209	Il valore nel campo “Remove data after cycle” (rimuovi dati dopo il ciclo) per il target {0} non deve essere superiore a {1}.
570210	Inserire un numero valido inferiore a {1} nel campo “Remove data before cycle” (rimuovi dati prima del ciclo) per il target {0}.

ID errore	Testo errore
570211	Il valore nel campo "Remove data after cycle" (rimuovi dati dopo il ciclo) per il target {0} non deve essere inferiore a {1}.
570212	Il valore di "Remove data before cycle" (rimuovi dati prima del ciclo) per il target {0} deve essere superiore a {1}.
570220	Copia delle celle selezionate non riuscita. Possono essere copiate solo celle adiacenti. Copiare e incollare le celle selezionate singolarmente.
570222	Operazione incolla annullata. Le celle selezionate devono essere contigue.
570223	Operazione incolla annullata. Le celle selezionate devono essere contigue.
570224	Operazione incolla annullata. Le celle selezionate devono essere modificabili per l'operazione incolla.
570225	Operazione incolla non riuscita. L'area di destinazione selezionata è più piccola dei dati presenti negli appunti. Selezionare un'area di destinazione differente oppure ridurre i dati da copiare.
570226	Operazione incolla annullata. Selezionare una o più celle.
570229	Spazio insufficiente per incollare le informazioni.
570231	Questo utente è stato disattivato poiché è stata inserita la password errata troppe volte. Contattare il proprio amministratore locale. La sessione corrente sarà chiusa.
570237	Il rilascio non è stato eseguito ma i dati sono stati salvati.
570238	La generazione del referto personalizzato non è supportata da questo plug-in.
570249	Il valore R deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.
570250	Il valore R deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570251	L'efficienza deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.
570252	Il valore di efficienza deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570253	Il valore R^2 deve essere inferiore al valore del parametro da inserire.
570254	Il valore R^2 deve essere inferiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570255	Il valore R^2 deve essere superiore al valore del parametro da inserire.
570256	Il valore R^2 deve essere superiore o uguale al valore del parametro da inserire.
570274	Il volume di eluizione iniziale non è valido. Inserire un volume valido (1 - 999 999 999).
570276	Il volume di trasferimento del campione non è valido. Inserire un volume valido (1 - 999 999 999).

ID errore	Testo errore
570279	I risultati del campione saranno riportati come validi nonostante uno o più controlli esterni non validi. Si stanno per ignorare regole di analisi del profilo di dosaggio.
570280	Il referto generato non ha potuto essere aperto. Verificare di aver installato un visualizzatore di pdf sul proprio sistema.

1.6 Appendice

L'appendice contiene la Clausola di Responsabilità Limitata e le Condizioni di Licenza per il plug-in base UDT.

Nota

Nel *manuale dell'applicazione core di Rotor-Gene AssayManager* sono disponibili altre informazioni, ad esempio un glossario.

Clausola di Responsabilità Limitata

QIAGEN è sollevata da tutti gli obblighi ai sensi della presente garanzia nel caso in cui vengano eseguite riparazioni o modifiche da persone diverse dal proprio personale, eccetto i casi in cui la società abbia dato il proprio consenso scritto a eseguire tali riparazioni o modifiche.

Tutti i materiali sostituiti ai sensi della presente garanzia sono coperti da garanzia unicamente durante il periodo di garanzia originale e in nessun caso oltre la data di scadenza originale della garanzia originale, salvo autorizzazione scritta concessa da un funzionario della Società. I dispositivi di lettura, di interfaccia e il software collegato saranno garantiti solo per il periodo proposto dal fabbricante originale di tali prodotti. Le eventuali dichiarazioni e garanzie rilasciate da chiunque, inclusi i rappresentanti di QIAGEN, che siano incoerenti o in conflitto con la presente garanzia non sono vincolanti per la società salvo accordo scritto e approvato da un funzionario QIAGEN.

Condizioni di Licenza

Contratto di licenza del software

CLAUSOLE E CONDIZIONI di un CONTRATTO LEGALE (il "Contratto") da e tra QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden, Germania, ("**QIAGEN**") e un licenziatario (persona fisica o giuridica) del software (in seguito indicato come "**SOFTWARE**").

Con l'apertura della/e confezione/i sigillata/e si acconsente ad essere vincolati dalle condizioni del presente contratto. Se non si è d'accordo con le condizioni del presente contratto, restituire al più presto la/e confezione/i intatta/e del software e gli articoli d'accompagnamento (inclusi i materiali scritti) al luogo di ritiro per un rimborso integrale.

1. CONCESSIONE DELLA LICENZA

Ambito. In base alle clausole e condizioni del presente contratto, QIAGEN concede una licenza internazionale, perpetua, non esclusiva e non trasferibile all'uso del SOFTWARE unicamente per i fini aziendali interni del licenziatario.

Non è concesso:

- modificare o alterare, completamente o in parte, il SOFTWARE, né fondere parti di esso con un altro software, né separare componenti del SOFTWARE dal SOFTWARE stesso né, salvo nella misura e nelle circostanze legalmente permesse, creare opere derivate, oppure sottoporre a reverse engineering, decompilare, disassemblare o altrimenti derivare un codice sorgente dal SOFTWARE o tentare una di queste operazioni
- copiare il SOFTWARE (tranne per quanto previsto sopra)
- cedere, affittare, trasferire, vendere, rivelare, commerciare, rendere disponibile o concedere ad alcuno diritti sul prodotto software sotto nessuna forma senza previo consenso scritto di QIAGEN;

- rimuovere, alterare, oscurare, interferire con o eseguire aggiunte ad avvisi, etichette, marchi commerciali o marchi di proprietà apposti su, allegati a o contenuti nel SOFTWARE;
- usare il SOFTWARE in modo da violare i diritti di proprietà intellettuale o di altra natura di QIAGEN o di un'altra parte; oppure
- usare il SOFTWARE per fornire servizi online o altri servizi di database ad altra persona.

Uso su singolo computer. In caso di acquisto di una licenza per un solo computer del SOFTWARE, il presente contratto permette di usare una sola copia del SOFTWARE su un computer singolo.

Uso su più computer. In caso di acquisto di una licenza per più computer del SOFTWARE da QIAGEN, il presente contratto permette di usare più copie del SOFTWARE su un numero massimo di computer specificato nel contratto d'acquisto tra QIAGEN e il titolare della licenza ("**Contratto d'Acquisto**").

Versioni di prova. Le versioni di prova del SOFTWARE possono scadere dopo un periodo di giorni 30 (trenta) senza preavviso.

Software Aperto/Software di Terzi. Il presente contratto non è applicabile ad altri componenti del software identificati come soggetti a una licenza open source nei relativi file di avviso, licenza e/o copyright inclusi nel programma (collettivamente "**Software Aperto**"). Inoltre il presente contratto non è applicabile ad altri software di cui a QIAGEN è concesso solo un diritto d'uso derivato ("**Software di Terzi**"). Il Software aperto e il Software di Terzi possono essere forniti nella stessa trasmissione elettronica di file del SOFTWARE, ma sono programmi separati e distinti. Il SOFTWARE non è assoggettato a GPL o ad altre licenze open source.

Se e nella misura in cui QIAGEN fornisce Software di Terzi, le condizioni di licenza di tale Software di Terzi si applicheranno in aggiunta e con prevalenza. Se è fornito un Software Aperto, le condizioni di licenza di tale Software Aperto si applicheranno in aggiunta e con prevalenza. QIAGEN fornirà il codice sorgente corrispondente al relativo Software Aperto, se le rispettive condizioni di licenza del Software Aperto includono tale obbligo. QIAGEN informerà se il SOFTWARE contiene un Software di Terzi e/o un Software Aperto e renderà disponibili a richiesta le relative condizioni di licenza.

2. AGGIORNAMENTI

Se il SOFTWARE è un aggiornamento di una versione precedente, viene concessa un'unica licenza per entrambe le copie e non è permesso cedere separatamente una o più versioni precedenti se non come cessione permanente in unica soluzione a un altro utente dell'ultimo aggiornamento e di tutte le versioni precedenti come permesso dalla successiva Sezione 4.

3. COPYRIGHT

Il SOFTWARE, inclusi immagini e testi incorporati nel SOFTWARE, è soggetto a copyright e protetto dalla leggi tedesche sul copyright e dai provvedimenti di trattati

internazionali. Non è permesso copiare i materiali stampati che accompagnano il SOFTWARE.

4. ALTRE LIMITAZIONI

Non è permesso affittare o noleggiare il SOFTWARE, ma è permesso cedere il SOFTWARE e i materiali scritti che lo accompagnano su base permanente a un altro utente finale a condizione che si cancellino dal proprio computer i file di installazione e che il ricevente accetti le condizioni del presente contratto. Non è ammesso eseguire il reverse engineering, decompilare o disassemblare il SOFTWARE. Ogni cessione del SOFTWARE deve includere l'aggiornamento più recente e tutte le versioni precedenti.

5. NESSUNA GARANZIA

Il SOFTWARE è fornito "tal quale" senza alcun genere di garanzia, esplicita o implicita, incluse fra l'altro garanzie implicite di commerciabilità, idoneità a uno scopo particolare o non violazione con riferimento al SOFTWARE e ai materiali scritti d'accompagnamento.

6. RIMEDI DEL CLIENTE

L'intera responsabilità di QIAGEN e l'esclusivo rimedio per il licenziatario sono, a discrezione di QIAGEN, (a) la restituzione del prezzo pagato, oppure (b) la riparazione o sostituzione del SOFTWARE che non risponde alla Garanzia Limitata di QIAGEN e che viene restituito a QIAGEN con una copia della ricevuta. La presente Garanzia Limitata è nulla se il guasto del SOFTWARE deriva da incidente, abuso o uso improprio. Ogni sostituzione del SOFTWARE sarà garantita per il resto del periodo di garanzia originale o per trenta (30) giorni, a seconda di quale sia il periodo più lungo.

7. RESPONSABILITÀ LIMITATA

In nessun caso QIAGEN o i suoi fornitori sono responsabili di danni di alcun tipo (inclusi, senza limitazioni, danni per perdita di profitti commerciali, interruzione di attività, perdita di informazioni commerciali o altra perdita pecuniaria, danni imprevedibili, perdita di successo commerciale, danno indiretto o consequenziale - in particolare danno finanziario - o danni risultanti da rivendicazioni di terzi) derivanti dall'uso o dall'impossibilità di uso del SOFTWARE, neanche nel caso in cui QIAGEN fosse stata avvisata della possibilità di tali danni.

Le limitazioni di cui sopra non sono applicabili in caso di lesioni personali o di danni derivanti da atti dolosi o negligenza grave o per responsabilità basate sulla Legge sulla Responsabilità del Prodotto ("Produkthaftungsgesetz"), su garanzie o altri provvedimenti di legge obbligatori.

La limitazione di cui sopra si applica di conseguenza in caso di:

- ritardo,
- compenso dovuto a difetto,
- compenso per spese inutili.

8. NESSUN SUPPORTO

Nulla di quanto contenuto nel presente contratto obbliga QIAGEN a fornire supporto di alcun genere per il SOFTWARE. QIAGEN può, ma senza esserne obbligata, correggere difetti del SOFTWARE e/o fornire aggiornamenti ai licenziatari del SOFTWARE. Il licenziatario compirà ogni sforzo ragionevole per riferire prontamente a QIAGEN ogni difetto riscontrato nel SOFTWARE, come contributo alla creazione di revisioni migliorate del SOFTWARE.

Ogni supporto fornito eventualmente da QIAGEN per il SOFTWARE (incluso il supporto per l'installazione di rete) è regolamentato unicamente dal Contratto d'Acquisto o relativo Contratto di Supporto.

9. RESCISSIONE

In caso di mancato rispetto delle clausole e condizioni del presente contratto, QIAGEN può rescindere il presente contratto e porre termine ai diritti e alla licenza per l'uso del SOFTWARE. Il licenziatario può in qualsiasi momento rescindere il presente contratto mediante notifica a QIAGEN. Alla rescissione del presente contratto, è obbligo cancellare il SOFTWARE dai propri computer e archivi.

SI CONVIENE CHE, ALLA RESCISSIONE DEL PRESENTE CONTRATTO PER QUALSIASI MOTIVO, QIAGEN PUÒ PRENDERE PROVVEDIMENTI VOLTI A IMPEDIRE IL FUNZIONAMENTO DEL SOFTWARE.

10. LEGGE APPLICABILE, FORO COMPETENTE

Il presente contratto deve essere interpretato in base alla legislazione della Germania, senza dare luogo a conflitto di provvedimenti legislativi. È esclusa l'applicazione dei provvedimenti della Convenzione delle NU sulle vendite. Indipendentemente da ogni altro provvedimento previsto nel presente contratto, le parti contrattuali si assoggettano alla giurisdizione esclusiva del foro di Düsseldorf.

Marchi: QIAGEN®, QIASymphony®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); Microsoft®, Windows® (Microsoft Corporation).

02/2018 © 2018 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

I marchi, i nomi registrati ecc. utilizzati nel presente documento, anche se non contrassegnati specificamente come tali, vanno considerati protetti dalla legge.

www.qiagen.com

Technical Support

www.support.qiagen.com