

Manuale del kit *artus*[®] GBS QS-RGQ



Versione 1

IVD

Diagnostica qualitativa in vitro

Per l'uso con gli strumenti QIASymphony[®] SP/AS e Rotor-Gene[®] Q



REF 4576366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANIA

Prodotto da **IMD**_x per QIAGEN

R3 **MAT** 1078211IT



QIAGEN Sample and Assay Technologies

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

QIAGEN pone nuovi standard:

- nella purificazione del DNA, RNA e delle proteine
- nell'analisi di acidi nucleici e proteine
- nella ricerca sul microRNA e sull'RNAi
- nelle tecnologie automatizzate per campioni e analisi

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

Indice

Uso previsto	4
Sommario e spiegazioni	4
Informazioni sull'agente patogeno	4
Principio della metodica	4
Materiali in dotazione	5
Contenuto del kit	5
Materiali necessari ma non in dotazione	5
Avvertenze e precauzioni	7
Informazioni di sicurezza	7
Precauzioni generali	8
Conservazione e manipolazione dei reagenti	9
Conservazione e manipolazione dei campioni	9
Procedura	11
Controlli	12
Preparazione del carrier RNA (CARRIER) e del controllo interno (controllo interno per GBS)	12
Set di controllo del test e set di parametri del test	14
Protocolli	
■ Isolamento del DNA e setup del test sugli strumenti QIA Symphony SP/AS15	
■ PCR sullo strumento Rotor-Gene Q	30
Interpretazione dei risultati	34
Guida alla risoluzione dei problemi	40
Controllo di qualità	45
Limiti della metodica	45
Caratteristiche delle prestazioni	46
Riferimenti bibliografici	46
Simboli	46
Informazioni sui contatti	48
Informazioni per gli ordini	49

Uso previsto

Il kit *artus* GBS QS-RGQ è un test per l'amplificazione del DNA tramite PCR in tempo reale eseguito sugli strumenti QIASymphony SP/AS e Rotor-Gene Q per il rilevamento qualitativo diretto dello streptococco di gruppo B (GBS) da colture in brodo LIM arricchite (fatte crescere per 18–24 ore) ottenute da campioni di tamponi vaginali/rettali di donne preparto.

Il kit *artus* GBS QS-RGQ è destinato all'uso come ausilio nel rilevamento della colonizzazione da GBS in donne preparto. Sono necessari isolati di colture per eseguire test di sensibilità secondo le raccomandazioni per le donne allergiche alla penicillina.

Sommario e spiegazioni

Il kit *artus* GBS QS-RGQ è un sistema pronto all'uso per il rilevamento del DNA dello streptococco di gruppo B tramite reazione a catena della polimerasi (PCR) sugli strumenti Rotor-Gene Q con preparazione dei campioni e setup del test eseguiti con gli strumenti QIASymphony SP e AS.

Informazioni sull'agente patogeno

Gli streptococchi di gruppo B (GBS), compreso lo *Streptococcus agalactiae*, sono cocchi gram-positivi, beta-emolitici, che formano catene. Sono la principale causa di sepsi potenzialmente letale e meningite nei neonati, quindi comportano elevati tassi di morbilità e mortalità (1). Le donne in gravidanza sono colonizzate da GBS per il 25% e possono trasmettere i batteri ai neonati *in utero* o durante il parto naturale. Le linee guida dei Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Centri per la Prevenzione e il Controllo delle Malattie) raccomandano lo screening delle donne preparto nelle settimane di gravidanza 35–37 per prevenire la trasmissione dell'infezione ai neonati (2). I test per l'amplificazione degli acidi nucleici hanno dimostrato di essere più sensibili dei tradizionali metodi di coltura e possono contribuire ad identificare una popolazione più estesa di madri colonizzate da GBS (3).

Principio della metodica

Il GBS Master A e il GBS Master B contengono reagenti ed enzimi per l'amplificazione specifica di regioni bersaglio nel genoma del GBS e per il rilevamento diretto dell'amplicone specifico nel canale di fluorescenza Cycling Green (ciclo verde) degli strumenti Rotor-Gene Q.

Il kit *artus* GBS QS-RGQ contiene inoltre un secondo sistema di controllo eterologo per identificare potenziali errori durante l'intera analisi. Tali errori vengono rilevati come controllo interno (IC) nel canale di fluorescenza Cycling Red (ciclo rosso) degli strumenti Rotor-Gene Q.

Materiali in dotazione

Il contenuto del kit *artus* GBS QS-RGQ è sufficiente per 72 test in uno - tre lotti di 24 reazioni sul QIA Symphony RGQ. Il rotore dello strumento Rotor-Gene Q contiene fino a 72 provette di reazione.

Contenuto del kit

<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit			(72)
N° di catalogo			4576366
Numero di reazioni			72
Blu	GBS Master A (master A per GBS)	MASTER A	3 x 330 µl
Viola	GBS Master B (master B per GBS)	MASTER B	3 x 600 µl
Verde	GBS Internal Control (controllo interno per GBS)	IC	3 x 540 µl
Rosso	GBS Positive Control (controllo positivo per GBS)	CONTROL +	3 x 330 µl
Bianco	GBS Negative Control (controllo negativo per GBS)	CONTROL -	3 x 330 µl
<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit Handbook (Manuale del kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ) (inglese)			1

Materiali necessari ma non in dotazione

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

Adattatori per QIASymphony SP

- Rack QS per microprovette di eluizione (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, cat. n. 9020730) in combinazione con il telaio di trasferimento QIASymphony SP/AS
- Inserto provetta 3B (Insert, 2.0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, cat. n. 9242083)

Materiali di consumo e reagenti per QIASymphony SP

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (cat. n. 937036)
- Buffer ATL (4 x 50 ml) (tampone ATL) (cat. n. 939016)
- Sample Prep Cartridges, 8-well (cartucce per preparazione dei campioni, 8 pozzetti) (cat. n. 997002)
- 8-Rod Covers (coperchi per 8 barre) (cat. n. 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (puntali con filtro) (cat. n. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (puntali con filtro) (cat. n. 990332)
- Elution Microtubes CL (microprovette di eluizione CL) (EMTR) (cat. n. 19588)
- Tip disposal bags (sacchetti per smaltimento puntali) (cat. n. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H, without skirted base (microprovette da 2,0 ml tipo H, senza base flangiata) (cat. n. 72.693) o Micro tubes 2.0 ml Type I, with skirted base (microprovette da 2,0 ml tipo I, con base flangiata) (Sarstedt®, cat. n. 72.694, www.sarstedt.com) per l'uso con campioni e controlli interni
- Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (provette da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo) (Corning®, cat. n. 352051; BD™ era il precedente fornitore di queste provette; Corning, Inc. è l'attuale fornitore), da utilizzare con i controlli interni

Adattatori e portareagenti per QIASymphony AS

- Portareagenti 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, cat. n. 9018090)
- Provette per strisce RG 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym), cat. n. 9018092)

Materiali di consumo per QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (provette per strisce e tappi) (cat. n. 981103)

- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (provette a fondo conico) (cat. n. 997102)
- Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (provette a fondo conico) (cat. n. 997104)
- Filter-Tips, 1500 µl (puntali con filtro) (cat. n. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (puntali con filtro) (cat. n. 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (puntali con filtro) (cat. n. 997120)
- Tip disposal bags (sacchetti per smaltimento puntali) (cat. n. 9013395)

Attrezzatura generica da laboratorio

- Pipette (regolabili)* e puntali per pipetta sterili con filtri
- Agitatore vortex *
- Centrifuga da banco* con rotore per provette di reazione da 2 ml

Attrezzatura per la preparazione dei campioni e il setup dei test

- QIASymphony SP (cat. n. 9001297),* versione software 4.0 o superiore
- QIASymphony AS (cat. n. 9001301),* versione software 4.0 o superiore

Attrezzatura per PCR

- Strumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*†
- Rotor-Gene AssayManager® versione 1.0 o superiore

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico in vitro

Informazioni di sicurezza

Quando si opera con sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le appropriate schede di sicurezza (SDS). Le schede SDS, nel pratico e compatto formato PDF, sono disponibili online all'indirizzo www.qiagen.com/safety.

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

† Se applicabile, strumento Rotor-Gene Q 5plex HRM con data di produzione pari o successiva a gennaio 2010. La data di produzione può essere ricavata dal numero di serie sul retro dello strumento. Il numero di serie è nel formato "mmaannn", dove "mm" sta per il mese di produzione in cifre, "aa" per le ultime due cifre dell'anno di produzione e "nnn" per l'identificatore univoco dello strumento.

Per le informazioni antinfortunistiche riguardanti il kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini, consultare le istruzioni per l'uso (il manuale) del kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen (*QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit Instructions for Use (Handbook)*) fornito assieme a questo kit. Per le informazioni antinfortunistiche riguardanti gli strumenti, consultare il manuale utente QIASymphony SP/AS - descrizione generale (*QIASymphony SP/AS User Manual – General Description*), il manuale utente QIASymphony SP/AS - funzionamento del QIASymphony SP (*QIASymphony SP/AS User Manual – Operating the QIASymphony SP*), il manuale utente QIASymphony SP/AS - funzionamento del QIASymphony AS (*QIASymphony SP/AS User Manual – Operating the QIASymphony AS*), il manuale utente della QIASymphony Management Console (*QIASymphony Management Console User Manual*), il manuale utente dell'applicazione core del Rotor-Gene AssayManager (*Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual*), il manuale utente dei plug-in di base artus (*artus Basic Plug-in User Manual*) e il manuale utente fornito con il Rotor-Gene Q.

Smaltire i campioni e i residui dei test secondo le locali disposizioni in materia di sicurezza.

Le seguenti frasi precauzionali e di rischio sono valide per i componenti del kit *artus* GBS QS-RGQ:

GBS Positive Control



Contiene: miscela di 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one e 2-metil-2H-isotiazol-3-one (3:1). Attenzione! Può provocare una reazione allergica cutanea. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso

Precauzioni generali

Attenersi sempre a quanto segue:

- Utilizzare puntali con filtro sterili per pipette.
- Durante le operazioni manuali, tenere chiuse le provette il più possibile ed evitare ogni contaminazione.
- Prima dell'inizio del test scongelare tutti i componenti a temperatura ambiente (15–25°C).
- Una volta scongelati, miscelare i componenti (pipettandoli ripetutamente su e giù o in vortex a impulsi) e sottoporli a breve centrifugazione. Verificare che nelle provette dei reagenti non siano presenti bolle o schiuma.

- Non miscelare i componenti di kit con numero di lotto diverso.
- Osservare le precauzioni universali. Tutti i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infetti e trattati di conseguenza.
- Accertarsi che gli adattatori necessari siano stati preraffreddati a 2–8°C.
- Prima del caricamento, operare rapidamente tenendo i reagenti per PCR in ghiaccio o nel blocco di raffreddamento.
- Procedere senza interruzioni da una fase all'altra del flusso di lavoro. Il tempo di trasferimento dal QIASymphony AS al Rotor-Gene Q non deve superare 30 minuti.
- Verificare che la manutenzione sia stata eseguita e che le parti sostituibili (ad es. le protezioni dei puntali) siano state reinstallate.
- Controllare che siano installati i file del processo di applicazione e il necessario plug-in del Rotor-Gene AssayManager.

Conservazione e manipolazione dei reagenti

I componenti del kit *artus* GBS QS-RGQ devono essere conservati ad una temperatura compresa tra –30 e –10°C e sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. Evitare scongelamenti e congelamenti ripetuti (più di tre volte), perché ciò potrebbe ridurre le prestazioni del test. Tutti i reagenti caricati sul QIASymphony AS devono essere utilizzati esclusivamente per quel processo. Non rimuovere i componenti residui per utilizzarli in un'altra analisi PCR.

Conservazione e manipolazione dei campioni

Le informazioni riguardanti la conservazione e la manipolazione dei campioni in brodo LIM sono riportate nella Tabella 1.



Tutti i campioni devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo.

Tabella 1. Manipolazione, conservazione e preparazione dei campioni in brodo LIM

Prelievo dei campioni	Un campione vaginale-rettale viene prelevato e trasportato in laboratorio utilizzando sistemi standard per il trasporto dei tamponi batterici contenenti un mezzo di trasporto non nutritivo (es. Amies o Stuart). In laboratorio, il tampone viene prelevato dal mezzo di trasporto e collocato nel brodo LIM selettivo (brodo Todd-Hewitt addizionato con colistina [10 µg/ml] e acido nalidissico [15 µg/ml]). Dopo incubazione della coltura in brodo LIM inoculato per 18–24 ore a 35°C ±2°C in aria ambiente o con 5% di CO ₂ , un'aliquota del brodo viene analizzata utilizzando il kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ.
Trasporto dei campioni	Trasporto di materiale fragile Spedizione entro 24 ore dal prelievo dei campioni Spedizione per posta in conformità alle istruzioni legali per il trasporto di materiali patogeni* I campioni vanno spediti refrigerati (2–8°C)
Conservazione dei campioni (compreso il tempo necessario per il trasporto)	2–8°C fino a max. 7 giorni da –30 a –10°C fino a max. 30 giorni
Preparazione dei campioni	Collocare 350 µl di brodo di coltura LIM post-incubazione in una microprovetta Sarstedt da 2,0 ml e caricarla sul QIASymphony SP.

*International Air Transport Association (IATA). Dangerous Goods Regulations.

Procedura

Tabella 2. Informazioni generali

Kit	<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit, REF 4576366
Campioni	Colture in brodo LIM arricchite (fatte crescere per 18–24 ore a 35°C ±2°C) ottenute da campioni di tamponi vaginali/rettali di donne preparto
Purificazione front-end	QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (cat. n. 937036)
Volume del campione (compreso il volume in eccesso)	350 µl
Set di parametri del test	<i>artus_GBS_broth200_V1</i>
Set di controllo del test predefinito	<i>Complex200_V6_DSP_artus_GBS</i>
Volume di eluizione	60 µl
Versione del software QIAAsymphony necessaria	Versione 4.0 o superiore
Profilo di configurazione necessario per gli strumenti QIAAsymphony SP/AS	Profilo di default 1
Volume miscela master	25 µl
Volume template	15 µl
Numero di reazioni	24–72* (inclusi tutti i controlli da caricare sul QIAAsymphony SP e sul QIAAsymphony AS)
Durata esecuzione sugli strumenti QIAAsymphony SP/AS	Per 24 reazioni: circa 90 minuti Per 72 reazioni: circa 280 - 290 minuti
Durata di esecuzione sullo strumento Rotor-Gene Q	Circa 120 minuti

* Accertarsi di non superare il limite di 72 reazioni e di 1 adattatore del rack per test. Evitare tempi di incubazione prolungati (>30 minuti) tra il completamento dell'analisi e il trasferimento allo strumento Rotor-Gene Q.

Controlli

Controllo positivo

Il controllo positivo per GBS (fornito con il kit *artus* GBS QS-RGQ) esegue il monitoraggio dell'efficienza della preparazione dei campioni e del test a valle. Questo controllo positivo viene caricato sul QIA Symphony SP prima della purificazione del DNA (per maggiori informazioni sul caricamento del controllo positivo vedere il punto 7 a pagina 21).

Controllo negativo

Il controllo negativo per GBS (fornito con il kit *artus* GBS QS-RGQ) viene caricato sul QIA Symphony SP prima della purificazione del DNA al posto del campione di un paziente e rappresenta un valido ausilio nell'identificazione della contaminazione durante la preparazione dei campioni e/o del test a valle (per maggiori informazioni sul caricamento del controllo negativo vedere il punto 7 a pagina 21).

Preparazione del carrier RNA (CARRIER) e del controllo interno (controllo interno per GBS)

L'utilizzo dei kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen in combinazione con il kit *artus* GBS QS-RGQ richiede l'inserimento del controllo interno (controllo interno per GBS), costituito da DNA plasmidico sintetico in una soluzione tamponata, nella procedura di purificazione per monitorare l'efficienza della preparazione dei campioni e del test a valle.

Il controllo interno (controllo interno per GBS), fornito con il kit *artus* GBS QS-RGQ, deve essere aggiunto con la miscela di carrier RNA (CARRIER)-tampone AVE (AVE). Il volume totale della miscela di controllo interno-carrier RNA (CARRIER)-tampone AVE (AVE) è pari a 120 µl per ogni campione.

Per preparare la miscela di carrier RNA (CARRIER)-tampone AVE (AVE), aggiungere 1.350 µl di tampone AVE (AVE), fornito con il kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Mini, per risospendere il carrier RNA (CARRIER) liofilizzato. Capovolgere la provetta per miscelare il contenuto.

Per il calcolo del controllo interno (IC) si raccomanda di utilizzare l'"IC Calculator" (calcolatore CI) inserito nella QIA Symphony Management Console (QMC).

La tabella 3 descrive l'aggiunta del controllo interno al campione nel rapporto di 0,1 µl per 1 µl di volume di eluizione. Si consiglia di preparare miscele fresche per ogni processo di analisi subito prima dell'uso.

Tabella 3. Preparazione del carrier RNA (CARRIER) e del controllo interno (controllo interno per GBS)

Componente	n = numero di campioni e controlli	
	n ≤ 13 Volume (µl) (provette Sarstedt)*	n > 13 Volume (µl) (provette BD™)†
Soluzione madre con carrier RNA (CARRIER)	(n + 3) x 3	(n + 5) x 3
Controllo interno (controllo interno per GBS)	(n + 3) x 9	(n + 5) x 9
Tampone AVE (AVE)	(n + 3) x 108	(n + 5) x 108
Volume finale per campione (volume morto escluso)	120	120
Volume totale per n campioni	(n + 3) x 120	(n + 5) x 120

* Micro tubes 2.0 ml Type H e Micro tubes 2.0 ml Type I (microprovette da 2,0 ml tipo H e microprovette da 2,0 ml tipo I) (Sarstedt, cat. n. 72.693 e 72.694). Se si prepara il controllo interno come soluzione madre in una provetta più grande, moltiplicare il volume totale di ogni componente per il numero di provette di controlli interni utilizzate. È necessaria una miscela di controllo interno corrispondente a 3 campioni supplementari (ossia 360 µl). Non riempire per un volume totale superiore a 1,92 ml (corrispondente ad un massimo di 13 campioni).

Se si utilizzano più di 13 reazioni nelle microprovette da 2,0 ml, impostare le reazioni in una provetta più grande e caricare in provette multiple. Verificare che a ogni provetta sia aggiunto il necessario volume in eccesso pari a 3 reazioni supplementari.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (provette da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo) (Corning®, cat. n. 352051; BD™ era il precedente fornitore di queste provette; Corning, Inc. è l'attuale fornitore). È necessaria una miscela di controllo interno corrispondente a 5 campioni supplementari (ossia 600 µl). Non riempire per un volume totale superiore a 13,92 ml (corrispondente ad un massimo di 111 campioni).

Calcolo della miscela mediante "IC Calculator"

1. Aprire la QMC.
2. Selezionare l'icona dell'IC Calculator.
3. Selezionare "Complex200_V6_DSP_artus_GBS" dall'elenco a discesa ACS.
4. Inserire il numero richiesto di campioni.
5. Selezionare il materiale da laboratorio utilizzato per il controllo interno.
6. Selezionare un volume di eluizione di 60 µl.

7. Selezionare "Internal Control/Eluate" (controllo interno/eluito) e "0.1 µl" (0,1 µl) per la modalità del controllo interno.
8. Premere "Calculate" (calcola) per avviare il calcolo della miscela di controllo interno.

Sul lato destro della schermata dell'IC Calculator compaiono i diversi volumi di reagenti da miscelare per ottenere la miscela di controllo interno e il tipo di provetta da utilizzare.

Set di controllo del test e set di parametri del test

I set di controllo del test combinano un protocollo con alcuni parametri addizionali, quali un controllo interno, per la purificazione del campione sul QIASymphony SP. Un set di controllo del test predefinito è preinstallato per ogni protocollo.

I set di parametri del test combinano una definizione del test con alcuni parametri addizionali definiti, quali conteggio dei replicati e numero degli standard del test, per il setup del test sul QIASymphony AS.

Per il processo integrato sugli strumenti QIASymphony SP/AS, il set di parametri del test, `artus_GBS_broth200_V1`, è direttamente collegato al set di controllo del test iniziale, `Complex200_V6_DSP_artus_GBS`, che specifica il processo associato di purificazione dei campioni.

Protocollo: Isolamento del DNA e setup del test sugli strumenti QIASymphony SP/AS

Punti importanti prima di iniziare

- Acquisire esperienza con l'uso degli strumenti QIASymphony SP/AS. Per le istruzioni di funzionamento consultare i manuali utente allegati agli strumenti, le cui versioni più aggiornate sono disponibili online nel sito www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx.
- Scaricare il pacchetto dell'applicazione da "Protocol Files" (file dei protocolli) nella scheda "Resources" (risorse) della pagina del catalogo web del kit *artus* GBS QS-RGQ (www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE).
- Prima di utilizzare una cartuccia reagenti (RC) per la prima volta, controllare che i tamponi QSL2 e QSB1 nella cartuccia reagenti (RC) non contengano un precipitato. Se necessario, rimuovere i recipienti contenenti i tamponi QSL2 e QSB1 dalla cartuccia reagenti (RC) e incubarli per 30 minuti a 37°C agitandoli di tanto in tanto per sciogliere il precipitato. Accertarsi di riposizionare correttamente i recipienti. Se la cartuccia reagenti (RC) è già stata perforata, accertarsi che i recipienti vengano sigillati con le strisce sigillanti riutilizzabili, quindi incubare l'intera cartuccia reagenti (RC) per 30 minuti a 37°C agitando di tanto in tanto in un bagnomaria.* Fare raffreddare i reagenti a temperatura ambiente (15–25°C).
- Controllare che il tampone ATL (ATL) non contenga un precipitato. Se si è formato del precipitato, è necessario discioglierlo riscaldando il tampone a 70°C e agitandolo delicatamente in un bagnomaria.* Aspirare le bolle d'aria dalla superficie e portare il tampone a temperatura ambiente (15–25°C).
- Evitare di scuotere energicamente la cartuccia reagenti (RC) e il flacone del tampone ATL (ATL). In caso contrario, può formarsi schiuma che può compromettere il rilevamento del livello del liquido.
- Prima del caricamento, operare rapidamente tenendo i reagenti per PCR in ghiaccio o nel blocco di raffreddamento.
- I volumi di reagente sono ottimizzati per 3 lotti di 24 reazioni per kit per ogni processo.

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

- Verificare che gli eluiti ottenuti dalla preparazione dei campioni e tutti i componenti del kit *artus* GBS QS-RGQ rimangano sullo strumento per un tempo non superiore a quello normalmente necessario per la purificazione dei campioni e il setup di 72 reazioni del test, compreso il tempo di trasferimento massimo di 30 minuti dal QIASymphony AS al Rotor-Gene Q.
- **Nota:** non utilizzare un rack per microprovette di eluizione CL che è già stato utilizzato su un diverso strumento QIASymphony SP. Non inserire manualmente un ID del rack.

Prima di iniziare

- Prima di ogni utilizzo, tutti i reagenti contenuti nel kit *artus* GBS QS-RGQ devono essere scongelati completamente, miscelati (pipettandoli ripetutamente su e giù o su vortex rapido) e centrifugati per almeno 3 secondi. Evitare la formazione di bolle d'aria o schiuma nei reagenti.
- Preparare tutte le miscele necessarie. Se necessario, preparare le miscele contenenti l'RNA (CARRIER) e i controlli interni subito prima di iniziare. Per maggiori informazioni, vedere "Preparazione del carrier RNA (CARRIER) e del controllo interno (controllo interno per GBS)", pagina 12.
- Prima di avviare un processo integrato, accertarsi che tutti gli strumenti siano puliti e che le parti sostituibili (ad es. le protezioni dei puntali) siano state caricate come descritto nelle istruzioni di manutenzione del manuale utente QIASymphony SP/AS - descrizione generale (*QIASymphony SP/AS User Manual – General Description*), il manuale utente QIASymphony SP/AS - funzionamento del QIASymphony SP (*QIASymphony SP/AS User Manual – Operating the QIASymphony SP*), il manuale utente QIASymphony SP/AS - funzionamento del QIASymphony AS (*QIASymphony SP/AS User Manual – Operating the QIASymphony AS*) e il manuale utente della QIASymphony Management Console (*QIASymphony Management Console User Manual*) forniti in dotazione. Eseguire regolarmente la manutenzione per minimizzare il rischio di cross-contaminazione.
- Verificare che il profilo del processo del QIASymphony "Default Profile 1" (profilo di default 1) sia attivo. Il profilo selezionato è visualizzato in basso, nell'angolo destro del touch screen. Il profilo può essere modificato nel menu "Configuration" (configurazione) della scheda "Tools" (strumenti) da un utente registrato come "Supervisor" (supervisore).

Procedura

Purificazione del DNA batterico sul QIASymphony SP

1. **Chiudere tutti i cassettei e i coperchi del modulo QIASymphony SP/AS.**
2. **Accendere lo strumento e attendere la visualizzazione della schermata "Sample Preparation" (preparazione dei campioni) e la fine della procedura di inizializzazione.**

L'interruttore di alimentazione è collocato nell'angolo inferiore sinistro dello strumento QIASymphony SP.

3. **Eeguire il login nello strumento.**
4. **Preparare il cassetto "Waste" (materiali di scarto) del QIASymphony SP.**
 - Aprire il cassetto "Waste".
 - Svuotare e installare il contenitore dei materiali di scarto liquidi. Accertarsi di avere tolto il coperchio prima di inserire il contenitore nel cassetto.
 - Inserire lo scivolo dei puntali.

Nota: per il funzionamento a banco e il funzionamento dell'armadio QIASymphony SP/AS devono essere utilizzati scivoli dei puntali diversi.

- Inserire la stazione di sosta dei puntali.
- Inserire box unitari vuoti (vedere la Tabella 4 e la Figura 1). Accertarsi che nell'apertura 4 (più vicina all'operatore) sia presente almeno un box unitario vuoto.
- Installare un sacchetto vuoto per lo smaltimento dei puntali (sotto il cassetto dei materiali di scarto per il funzionamento a banco o nel contenitore dei materiali di scarto per il funzionamento dell'armadio QIASymphony SP/AS).
- Chiudere il cassetto "Waste" ed eseguire una scansione di inventario.

Tabella 4. Plastica da laboratorio necessaria per lotti da 1–3 campioni

	Un lotto, 24 campioni	Due lotti, 48 campioni	Tre lotti, 72 campioni
Box unitari vuoti	2	3	4



Figura 1. Posizione dei box unitari (1–4).

5. Caricare il cassetto "Eluate" (eluato).

- Posizionare l'adattatore (rack per microprovette di eluizione QS) sul telaio di trasferimento.
- Aprire il cassetto "Eluate".
- Posizionare il gruppo formato da adattatore e telaio di trasferimento sull'apertura 1 del cassetto "Eluate".
- Selezionare "Elution Slot 1" (apertura 1 di eluizione) sul touch screen.
- Rimuovere il fondo dal rack per microprovette di eluizione CL ruotando il rack fino a fare fuoriuscire il fondo.
- Eseguire la scansione del codice a barre sul rack per microprovette di eluizione CL utilizzando il lettore portatile.
- Inserire il rack nell'adattatore sulla "Elution Slot 1".
- Togliere il coperchio del rack per microprovette di eluizione CL.
- Chiudere il cassetto "Eluate".
- Premere "OK".
- Attendere che il processo di scansione sia terminato.

6. Caricare il cassetto "Reagents and Consumables" (reagenti e materiali di consumo) (Figura 2).

- Aprire il cassetto "Reagents and Consumables".
- Prendere una cartuccia reagenti (RC) e prima di utilizzarla per la prima volta, controllare che i tamponi QSL2 e QSB1 nella cartuccia non contengano un precipitato. Se i tamponi QSL2 e QSB1 contengono un precipitato, seguire le istruzioni riportate a pagina 15.

Nota: evitare di agitare energicamente la cartuccia reagenti (RC) per prevenire la formazione di schiuma che può causare problemi di rilevamento del livello del liquido.

- Collocare la cartuccia reagenti (RC) sul relativo supporto grigio.
- Accertarsi che le particelle magnetiche siano completamente risospese. Agitare su vortex il recipiente contenente le particelle magnetiche per almeno 3 minuti prima dell'uso. Riposizionare il recipiente contenente le particelle magnetiche nella cartuccia reagenti (RC).
- Prima di caricare la cartuccia reagenti (RC), rimuovere il coperchio dal recipiente contenente le particelle magnetiche.
- Aprire le provette dell'enzima. Collocare i coperchi delle provette dell'enzima sul portacoperchi nel supporto grigio per la cartuccia reagente.

Nota: aspirare dalla superficie delle provette dell'enzima le bolle d'aria eventualmente presenti.

- Montare il rack per enzima (ER) sulla cartuccia reagenti (RC).
- Collocare il coperchio perforante (PL) sulla cartuccia reagenti (RC) e farlo scattare delicatamente in posizione.
- Posizionare la o le cartucce reagenti preparate (RC) nella posizione RC 1 e/o RC 2. Una nuova cartuccia reagenti (RC) è sufficiente per un massimo di 96 campioni.
- Premere il pulsante "R+C" sul touch screen.
- Premere il pulsante "Bottle ID" (ID flacone).
- Premere il campo di testo e scansionare il codice a barre del tampone ATL (ATL) con l'apposito lettore portatile.

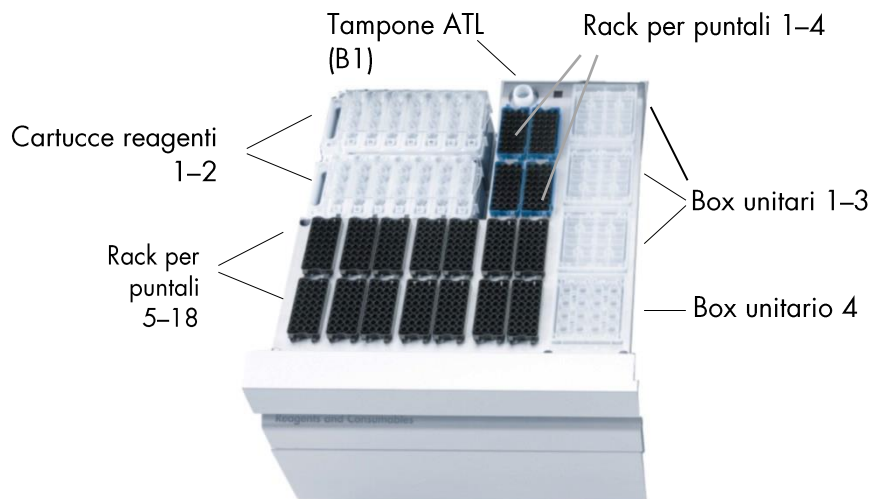


Figura 2. Posizione dei reagenti e dei materiali di consumo sul QIASymphony SP.

- Aprire il flacone del tampone ATL (ATL) e controllare che non contenga un precipitato. Se il tampone ATL (ATL) contiene un precipitato, seguire le istruzioni riportate a pagina 15.
- Collocare il flacone del tampone ATL (ATL) in posizione B1, vale a dire accanto all'apertura 1 della cartuccia reagenti (RC 1).

Nota: evitare di agitare energicamente il flacone del tampone per prevenire la formazione di schiuma, che può compromettere il rilevamento del livello del liquido.

- Caricare un numero sufficiente di rack di puntali con filtro monouso da 200 µl nel supporto per rack per puntali, posizioni 1–4 (vedere la Tabella 5, pagina 21).
- Caricare un numero sufficiente di rack di puntali con filtro monouso da 1.500 µl nel supporto per rack per puntali, posizioni 5–18 (vedere la Tabella 5, pagina 21).
- Verificare che tutti i rack siano scattati in posizione.

Nota: si raccomanda di caricare un numero di puntali con filtro di ogni misura superiore rispetto al numero necessario, in modo che sia disponibile una quantità di puntali sufficiente in caso di gestione automatizzata degli errori.

- Togliere il coperchio dei box unitari delle cartucce per la preparazione dei campioni e caricare un numero sufficiente di cartucce nel supporto dei box unitari, posizioni 1–3 (vedere la Tabella 5, pagina 21).
- Rimuovere il coperchio del box unitario per coperchi per 8 barre e caricare il box con un numero sufficiente di coperchi per 8 barre nel supporto dei box unitari, posizione 4 (vedere la Tabella 5, pagina 21).

Nota: i materiali di consumo in plastica possono spostarsi durante il trasferimento o la conservazione. Verificare che tutti i materiali in plastica siano allineati correttamente all'interno del box unitario prima di caricarli sul QIASymphony SP.

- Premere "OK" nella schermata dei materiali di consumo.
- Chiudere il cassetto "Reagents and Consumables" ed eseguire una scansione di inventario.

Tabella 5. Plastica da laboratorio necessaria per lotti da 1–3 campioni

	Un lotto, 24 campioni*	Due lotti, 48 campioni*	Tre lotti, 72 campioni*
Puntali con filtro monouso, 200 µl^{†‡}	34 (1 rack)	60 (2 rack)	86 (3 rack)
Puntali con filtro monouso, 1.500 µl^{†‡}	123 (4 rack)	205 (7 rack)	295 (10 rack)
Cartucce per la preparazione dei campioni	18	36	54
Coperchi per 8 barre	3	6	9

*L'esecuzione di più scansioni di inventario richiede puntali con filtro monouso supplementari.

† Ci sono 32 puntali con filtro su ogni rack per puntali, 28 cartucce per la preparazione dei campioni in ogni box unitario e dodici coperchi per 8 barre in ogni box unitario.

‡ La quantità di puntali con filtro necessari include i puntali con filtro per una scansione di inventario per ogni cartuccia reagenti.

7. Caricare i controlli positivi e negativi nel cassetto "Sample" (campione) (portaprovette).

- Collocare la provetta contenente il controllo positivo per GBS (fornito con il kit *artus* GBS QS-RGQ) nella posizione 1 del primo portaprovette (utilizzare l'insero provetta 3B per microprovette da 2 ml).
- Collocare la provetta contenente il controllo negativo per GBS (fornito con il kit *artus* GBS QS-RGQ) nella posizione 2 del primo portaprovette (utilizzare l'insero provetta 3B per microprovette da 2 ml).

Nota: assicurarsi di caricare i controlli positivi e negativi in posizione corretta. Il Rotor-Gene AssayManager non importerà il file dei risultati se i controlli positivi e negativi si trovano in un'altra posizione. Non caricare i controlli su supporti supplementari per lo stesso lotto AS.

Nota: è possibile visualizzare la posizione dei campioni e dei controlli sul rack per test prima di avviare il processo. Dopo la creazione del lotto AS (punto 11, pagina 23), premere il pulsante del cassetto "Assays" (test) sul touch screen e selezionare la corrispondente apertura "Assay" (test). Premendo il pulsante di commutazione "Sample" è possibile visualizzare il tipo di campione di ciascuna posizione ("Type", tipo).

8. Caricare i campioni nel cassetto "Sample" (portaprovette).

- Caricare i campioni preparati (vedere pagina 10) nelle microprovette da 2 ml nel portaprovette per campioni già contenente i controlli (utilizzare l'insero provetta 3B per microprovette da 2 ml).
- Se necessario, preparare nello stesso modo altri portaprovette. Non aggiungere altri controlli nei portaprovette da unire nello stesso lotto AS (vedere punto 11).

Nota: se i campioni contengono codici a barre, orientare i campioni nel portaprovette in modo che i codici a barre siano completamente visibili.

- Verificare che le provette contenenti i campioni e i controlli siano caricate correttamente e che siano scattate in posizione.
- Inserire tutti i portaprovette nel cassetto "Sample", aperture 1–4. Se il caricamento è corretto, la luce del LED si accende in colore arancione.

Nota: caricare innanzi tutto il portaprovette contenente i controlli e i campioni nell'apertura 1. Non caricare più di 72 campioni e controlli nello stesso processo.

9. Utilizzando il setup "Integrated run" (processo integrato) sul touch screen del QIASymphony, inserire le informazioni necessarie per ogni lotto di campioni da processare.

- Premere la scheda "Integrated Run" sul touch screen.
- Premere "Define run" (definisci processo).
- Selezionare "SP Batch 1" (lotto SP 1) (o il numero appropriato di lotto del portacampioni con "Full Process Controls" (controlli completi del processo), se si esegue il caricamento in continuo).
- Premere "Edit samples" (modifica campioni).

- Accertarsi che ai campioni sia assegnato il materiale da laboratorio corretto. Se necessario, correggere l'assegnazione del materiale da laboratorio.
- Premere "ID/Type" (ID/tipo).
- Selezionare la prima posizione e premere "Sample ID" (ID campione).
- Premere il campo di testo e inserire il controllo positivo per GBS, quindi premere "OK".
- Selezionare la prima posizione e premere "EC+".
- Selezionare la seconda posizione e premere "Sample ID".
- Premere il campo di testo e inserire il controllo negativo per GBS, quindi premere "OK".
- Selezionare la seconda posizione e premere "EC-".
- Se necessario, risolvere eventuali errori del codice a barre del campione e inserire gli ID.
- Premere "OK".

Nota: non assegnare il tipo di campione "EC+" o "EC-" a provette diverse da quelle del controllo positivo e negativo fornite con il kit *artus* GBS QS-RGQ. Il Rotor-Gene AssayManager rifiuterà i processi con modelli di controllo errati. Se assieme ai campioni del test si stanno processando anche campioni precedentemente caratterizzati, accertarsi di assegnare il "sample type" (tipo di campione) "sample" a tali campioni.

10. Definire il o i test da eseguire.

- Premere il corrispondente pulsante "SP Batch".
- Premere "Define assays" (definisci test).
- Selezionare i campioni da processare con il test.
- Selezionare il test "artus_GBS_broth200_V1" nella categoria "artus QS-RGQ".
- Premere "OK".
- Ripetere il punto 10 per tutti i lotti e i campioni da processare.

11. Definire il lotto del QIASymphony AS.

- Selezionare tutti i lotti da processare in un unico processo integrato del QIASymphony RGQ.
- Premere "Create AS batch" (crea lotto AS).

Nota: tutti i lotti del QIASymphony SP assegnati allo stesso lotto del QIASymphony AS (processo integrato del QIASymphony RGQ) saranno processati nella stessa procedura di setup del test.

- Premere "OK" per mettere in coda il processo.

12. Caricare la miscela di controllo interno nel cassetto "Sample".

- Posizionare la o le provette già preparate della miscela di controllo interno (vedere pagina 12) nel portacampioni (utilizzare l'inserto provetta 3B per microprovette da 2 ml).
- Inserire il portaprovette nell'apertura A del cassetto "Sample".

Nota: per alcuni livelli di liquido in provette da 14 ml non etichettate (vedere "Materiali di consumo e reagenti per QIASymphony SP"), possono verificarsi errori di scansione a causa del liquido trasparente e della provetta. Per evitare tali errori, applicare un'etichetta bianca sulla provetta oppure contrassegnare l'area della provetta rivolta verso il lettore di codici a barre con un pennarello indelebile.

13. Definire le posizioni dei controlli interni.

- Premere il pulsante "Define ICs" (definisci IC).
- Selezionare le posizioni della miscela di controllo interno.
- Selezionare il corrispondente controllo interno "Complex200_V6_DSP_artus_GBS" dalla cartella "Required" (necessario).
- Accertarsi che sia assegnato il materiale da laboratorio corretto. In caso contrario, correggere l'assegnazione del materiale da laboratorio premendo "IC Tubes" (provette IC).
- Premere "OK".
- Controllare la scheda "R+C" per accertarsi che tutti i reagenti e i materiali di consumo necessari siano stati caricati.

14. Avviare il processo.

- Per avviare il processo, premere il pulsante "Run" (esegui).
- Leggere e confermare il messaggio che compare.
- Si consiglia di attendere accanto allo strumento il rilevamento del livello di liquido delle provette dei controlli interni (lo stato del portaprovette del QIASymphony SP cambia in "running" (in esecuzione)).

Nota: non mettere in pausa o arrestare il processo durante l'elaborazione (se non in caso d'emergenza), per evitare che i rispettivi campioni e le

reazioni del test siano contrassegnati come "unclear" (equivoco). Il Rotor-Gene AssayManager invaliderà le reazioni del test "unclear".

Nota: è possibile caricare i campioni in continuo e aggiungerli a questo processo (fino a quando sono caricati reagenti) oppure a un nuovo processo del QIASymphony RGQ.

Caricamento dei cassette del QIASymphony AS per il setup del test

15. Installare un sacchetto vuoto per lo smaltimento dei puntali e scivoli dei puntali.

- Installare un sacchetto vuoto per lo smaltimento dei puntali per il funzionamento a banco o nel contenitore dei materiali di scarto per il funzionamento dell'armadio QIASymphony SP/AS.
- Aprire il cassetto "Eluate and Reagents" (eluiti e reagenti) e il cassetto "Assays" del QIASymphony AS.
- Aprire il coperchio e inserire lo scivolo dei puntali all'interno dello strumento.

Nota: per il funzionamento a banco e il funzionamento dell'armadio QIASymphony SP/AS devono essere utilizzati scivoli dei puntali diversi.

- Chiudere il coperchio, quindi leggere e confermare il messaggio.

16. Caricare il rack per test nel cassetto "Assays".

- Premere l'apertura 5 "Assay" (gialla).
- Riempire il numero necessario di provette per strisce (4 provette = 1 segmento) in un adattatore di raffreddamento per provette per strisce Rotor-Gene 72 QS preraffreddato come indicato sul touch screen.

Nota: caricare provette per strisce complete. Non rompere le provette per strisce.

- Caricare le provette per strisce nell'adattatore sull'apertura 5 del cassetto "Assays".
- Premere "Rack ID" (ID del rack) sul touch screen, digitare un ID del rack definito dall'utente e premere "OK".

Nota: è anche possibile utilizzare la funzione ID automatica.

- Premere "Load" (carica).

17. Caricare i puntali con filtro nel cassetto "Assays" e nel cassetto "Eluate and Reagents".

- Caricare come minimo il numero di puntali con filtro forniti nella schermata "Assay Setup | Loading Information" (setup del test | informazioni di caricamento).

Nota: avviare il caricamento dei rack per puntali dalle posizioni posteriori (accanto agli adattatori di raffreddamento). In rari casi può accadere che la testa di pipettaggio non sia in grado di raggiungere alcune posizioni in prossimità del coperchio; in tal caso lo strumento potrebbe mettersi in pausa automaticamente. Si raccomanda di caricare un numero di puntali con filtro di ogni misura superiore rispetto al numero necessario, in modo che sia disponibile una quantità di puntali sufficiente in caso di gestione automatizzata degli errori.

18. Caricare i reagenti nel cassetto "Eluate and Reagents".

- Prima di ogni utilizzo, è necessario scongelare completamente, miscelare e centrifugare per almeno 3 secondi tutti i reagenti del test. Evitare la formazione di bolle d'aria e schiuma dei reagenti (vedere la procedura descritta in "Punti importanti prima di iniziare", pagina 15).
- Premere l'apertura 3 "Reagent" (reagente) (gialla) sul touch screen.
- Preparare un portareagenti preraffreddato come richiesto sul touch screen.
- Selezionare le posizioni delle provette sul touch screen, caricare una provetta vuota per la miscela master e versare come minimo il volume richiesto di reagenti corretti nelle rispettive provette situate nelle corrispondenti posizioni indicate sul touch screen.

Nota: il test GBS non è destinato alla processazione di meno di 24 reazioni per ogni sessione. Se il numero di reazioni nella sessione è inferiore a 24, occorre collocare una provetta piena di GBS Master A e di GBS Master B sul QIASymphony AS anche se il QIASymphony AS mostra un volume di caricamento specifico per il processo che è inferiore ai volumi di GBS Master A e GBS Master B nelle provette in dotazione con il kit.

Nota: può essere necessario combinare gli stessi tipi di reagenti (GBS Master A o GBS Master B) in una sola provetta qualora il volume necessario superi il volume di riempimento dei reagenti corrispondenti. Una provetta di GBS Master A e una di GBS Master B sono sufficienti per 24 eluiti del QIASymphony SP (controlli inclusi).

Nota: i reagenti viscosi possono essere difficili da manipolare con le pipette manuali. Accertarsi di trasferire l'intero volume di GBS Master A e GBS Master B nelle rispettive provette.

Nota: in alternativa, selezionare "List View" (visualizzazione elenco) sul touch screen e preparare l'adattatore del reagente in modo corrispondente. È anche possibile scaricare (e stampare) un "Loading Information File" (file delle informazioni di caricamento) tramite la QMC o la porta USB dopo avere definito e messo in coda il lotto del QIASymphony AS.

- Premere il pulsante "Scan Kit Barcode" (scansiona il codice a barre del kit) sul touch screen e premere la riga azzurra del codice a barre del kit.
- Premere il campo di testo e scansionare il codice a barre posto sul lato superiore del kit *artus* GBS QS-RGQ utilizzando l'apposito lettore portatile.

Nota: in caso di mancata scansione del codice a barre del kit in questa fase, il Rotor-Gene AssayManager rifiuta il file dei risultati del QIASymphony AS durante l'importazione.

- Caricare l'adattatore del reagente preparato sull'apertura 3 del cassetto "Eluate and Reagents".
- Premere il pulsante "Load".
- Chiudere i due cassettei.
- Premere "Scan" (scansiona) per accedere alla finestra di dialogo della scansione.
- Premere "Scan" per eseguire una scansione di inventario di tutti i componenti del QIASymphony AS.

Nota: si consiglia di attendere accanto allo strumento fino al termine della scansione.

- Il setup del test si avvierà automaticamente al termine della preparazione sul QIASymphony SP.

19. Verificare la durata per il completamento del lotto del QIASymphony AS per rimuovere il rack per test.

- Al termine della scansione del QIASymphony AS, sulla schermata "Integrated Run Overview" (panoramica del processo integrato) compare la durata del processo integrato calcolato. La durata massima consentita dal termine del processo del QIASymphony AS all'avvio del processo del Rotor-Gene Q è di 30 minuti. Accertarsi di trasferire il rack per test al Rotor-Gene Q entro 30 minuti dal termine dell'analisi.

Rimozione del rack per test e trasferimento del file dei risultati

20. Rimuovere il lotto del QIA Symphony AS e il rack per test.

- Aprire i cassetti "Assays" e "Eluate and Reagents".
- Rimuovere l'adattatore con le provette per strisce e chiudere le provette con i tappi appropriati.
- Premere l'apertura 5 "Assay".
- Premere il pulsante "Remove".
- Rimuovere l'adattatore per reagenti ed eliminare i reagenti nel rispetto dei regolamenti locali in materia di sicurezza.
- Premere l'apertura 3 "Reagent".
- Premere il pulsante "Remove".
- Chiudere i cassetti "Assays" e "Eluate and Reagents".
- Premere "Scan" (scansione) per accedere alla finestra di dialogo della scansione.
- Premere "Scan" per eseguire una scansione di inventario degli adattatori a sinistra e a destra (di solito preselezionata).
- Premere il pulsante "Integrated Batch" (lotto integrato) (verde) per rimuovere il processo integrato.
- Leggere e confermare il messaggio.
- Viene creato il file finale dei risultati del QIA Symphony AS, che può essere trasferito su una penna USB oppure in una cartella definita (\log\Results\AS) tramite la QMC.

21. Trasferire il file dei risultati in una cartella definita. Per trasferire il file dei risultati utilizzando la penna USB, seguire quanto riportato al punto 21a. Per trasferire il file dei risultati utilizzando la QMC, seguire quanto riportato al punto 21b.

21a. Trasferire il file dei risultati utilizzando la penna USB.

- Inserire la penna USB.
- Selezionare "Tools".
- Selezione "File Transfer" (trasferimento file).
- Selezionare "Result Files" (file dei risultati) nella colonna "Save to USB Stick" (salva sulla penna USB).
- Premere il pulsante "Transfer" (trasferisci).
- Leggere e confermare il messaggio.

- Al termine del trasferimento, premere "OK" e rimuovere la penna USB.
- Procedere a "Protocollo: PCR sullo strumento Rotor-Gene Q", pagina 30.

21b. Trasferire il file dei risultati utilizzando la QMC.

- Eseguire il login agli strumenti QIASymphony SP/AS corretti.
- Selezionare l'icona di trasferimento del file.
- Scegliere il formato del file "Result File AS" (file dei risultati AS).
- Dall'elenco dei file "Remote Site" (sito remoto) (colonna a destra), selezionare il file dei risultati con la marcatura dell'ora e l'ID del lotto corretti.
- Trasferire il file dei risultati al "Local Site" (sito locale) (il file viene salvato nel percorso definito in "Tools", "Options" (opzioni), "File Transfer", in \log\Results\AS).

Nota: se sul QIASymphony AS sono configurati più lotti in un processo integrato, controllare la capacità residua del sacchetto per lo smaltimento dei puntali e ricaricare i cassette del QIASymphony AS partendo dal punto 14.

- Procedere a "Protocollo: PCR sullo strumento Rotor-Gene Q", pagina 30.

Nota: si raccomanda di contrassegnare i tappi delle provette per strisce per garantire il corretto posizionamento e di utilizzare un telaio di trasporto raffreddato per evitare la contaminazione.

Protocollo: PCR sullo strumento Rotor-Gene Q

Punti importanti prima di iniziare

- Dedicare il tempo necessario ad acquisire familiarità con il Rotor-Gene Q prima di avviare il protocollo. Fare riferimento al manuale utente dello strumento.
- Il Rotor-Gene AssayManager consente l'interpretazione automatizzata dei risultati della PCR.
- Il kit *artus* GBS QS-RGQ deve essere eseguito sul Rotor-Gene Q con l'ausilio dell'interpretazione automatizzata dei risultati ottenuta con il Rotor-Gene AssayManager. I parametri di ciclizzazione sono bloccati per il processo.
- Scaricare il pacchetto dell'applicazione da "Protocol Files" (file dei protocolli) nella scheda "Resources" (risorse) della pagina del catalogo web del kit *artus* GBS QS-RGQ (www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE).
- Dopo avere installato il plug-in e avere importato il profilo del test (vedere la seguente sezione "Prima di iniziare"), il Rotor-Gene AssayManager può utilizzare le informazioni fornite nel file dei risultati del QIA Symphony AS per impostare un processo per l'amplificazione della PCR in tempo reale e la successiva interpretazione automatizzata dei risultati.
- Per garantire la sicurezza dei processi nell'intero sistema, è necessario attivare le seguenti impostazioni nella modalità Closed (chiusa): "Material number required" (numero del materiale obbligatorio), "Valid expiry date required" (data di scadenza valida obbligatoria) e "Lot number required" (numero di lotto obbligatorio). (in "Configuration", "Settings" (impostazioni), "Global Settings" (impostazioni globali), "Work List" (elenco di lavoro). Per avere accesso a "Configuration" è necessario il ruolo utente di "Administrator" (amministratore).

Prima di iniziare

- Per l'interpretazione automatizzata dei risultati utilizzando il kit *artus* GBS QS-RGQ con il Rotor-Gene AssayManager, sul proprio Rotor-Gene AssayManager deve essere installato il plug-in di base *artus* più recente. Avviare il processo d'installazione cliccando due volte su **ArtusBasic.Installation.msi** e seguire le istruzioni di installazione. Per una descrizione dettagliata, consultare la sezione "Installing Plug-ins" (Installazione dei plug-in) (vedere il manuale utente dell'applicazione core

del Rotor-Gene AssayManager (*Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual*) fornito in dotazione).

- Per utilizzare il kit *artus* GBS QS-RGQ per campioni in brodo LIM, occorre importare il file **AP_artus_GBS_broth200_QS_V1_0_x.iap** nel Rotor-Gene AssayManager. Per importare il profilo del test nel Rotor-Gene AssayManager, navigare fino all'ambiente "Configuration" e passare alla scheda "Assay Profile" (profilo del test). Fare clic su "Import" (importa) e selezionare il file **AP_artus_GBS_broth200_QS_V1_0_x.iap** nella finestra di dialogo di apertura del file. Fare clic su "Open" (apri) e il profilo del test selezionato viene caricato e aggiunto all'elenco dei profili del test disponibili.

Nota: non è possibile importare due volte la stessa versione di un profilo del test.

Procedura

1. Preparare il rotore e avviare il processo sullo strumento Rotor-Gene Q.

- Posizionare un rotore a 72 pozzetti sul relativo supporto.
- Riempire il rotore con le provette per strisce. Accertarsi di iniziare dalla posizione 1 e di riempire le provette nell'orientamento corretto.
- Utilizzare provette per strisce vuote con tappo per riempire tutte le posizioni non utilizzate.
- Collegare l'anello di bloccaggio.
- Caricare il rotore e l'anello di bloccaggio sul Rotor-Gene Q.
- Se si utilizza una penna USB per il trasferimento dei dati direttamente dagli strumenti QIASymphony SP/AS, decomprimere il file dei risultati del QIASymphony AS. I file dei risultati sono memorizzati in `\log\Results\AS`.

Nota: nella maggior parte dei computer, i file possono essere decompressi cliccando sul file con il tasto destro del mouse e poi facendo clic su "Extract" (estrai) nel menu che si apre. I file devono essere decompressi per essere importati nel Rotor-Gene AssayManager.

- Avviare il Rotor-Gene AssayManager.
- Eseguire il login nella modalità Closed.
- Selezionare l'ambiente "Setup" se non è già preselezionato.

- Importare il file dei risultati del QIASymphony AS visualizzato in basso sulla schermata. Selezionare la sorgente "QIASymphony" come "Import type" (importa tipo).
- Nella finestra di dialogo "Select file" (seleziona file), aprire il corrispondente file dei risultati del QIASymphony AS e fare clic su "Open".
- Leggere e confermare il messaggio.
- Al termine del processo di importazione, selezionare l'elenco di lavoro corrispondente dal relativo elenco e fare clic sul pulsante "Apply" (applica).
- Inserire il nome di un esperimento
- Selezionare il termociclature da utilizzare nella finestra di dialogo "Cycler selection" (selezione del termociclature).
- Accertarsi del corretto collegamento dell'anello di bloccaggio e verificare sulla schermata che l'anello sia collegato.
- Chiudere il coperchio del Rotor-Gene Q.
- Fare clic sul pulsante "Start run" (avvia il processo).

Nota: se si utilizzano processi multipli del termociclature, passare all'ambiente del termociclature corrispondente per osservare lo stato di avanzamento del processo.

- Al termine del processo, fare clic su "Finish run..." (termina processo...).
- Per gli utenti registrati con il ruolo di Operator (operatore): Fare clic su "Release" (rilascia).
- Per gli utenti registrati con il ruolo di Approver (convalidatore): Fare clic su "Release and go to approval" (rilascia e vai alla convalida).

2. Rilascio e report dei risultati.

- Se in precedenza è stato utilizzato "Release", selezionare l'ambiente "Approval" (convalida).
- Premere "Apply filter" (applica filtro) (oppure scegliere prima le proprie opzioni di filtraggio).
- Selezionare l'esperimento.
- Fare clic su "Start approval" (avvia convalida).
- Convalidare i risultati di ogni campione di analisi. Usare il pulsante "Accepted" (accettato) per i campioni di analisi di cui approvare i risultati analizzati dal Rotor-Gene AssayManager. Usare il pulsante

“Rejected” (rifiutato) se il risultato del campione di analisi valutato dal Rotor-Gene AssayManager è inaccettabile per qualche ragione.

Nota: un risultato impostato automaticamente su “Invalid” (non valido) dal Rotor-Gene AssayManager non può essere più convertito in un risultato valido neanche rifiutando il risultato.

- Facoltativo: inserire dei commenti.
- Fare clic su “Release /report data...” (rilascio/report del dati...).
- Selezionare un profilo del report e fare clic su “OK”. Il report sarà generato e memorizzato automaticamente.

Nota: per rilasciare un test l’utente deve possedere diritti di convalida.

- Scaricare il Rotor-Gene Q ed eliminare le provette per strisce nel rispetto dei regolamenti locali in materia di sicurezza.

3. Eseguire la manutenzione.

- Quando tutti i lotti del QIASymphony AS del processo integrato degli strumenti QIASymphony SP/AS sono stati completati, eseguire la regolare manutenzione come descritto nel manuale utente QIASymphony SP/AS - descrizione generale (*QIASymphony SP/AS User Manual – General Description*).

Nota: tale operazione può essere eseguita in qualsiasi momento prima di avviare il successivo processo integrato, nel rispetto dei regolamenti locali o secondo le priorità.

- Eseguire la manutenzione giornaliera, settimanale e preventiva annuale come descritto nel manuale utente QIASymphony SP/AS - descrizione generale (*QIASymphony SP/AS User Manual – General Description*).

Interpretazione dei risultati

Questa sezione descrive l'interpretazione dei risultati sullo strumento Rotor-Gene Q. Esaminare anche le informazioni sullo stato dei campioni ricavate dai file dei risultati del QIAasymphony SP/AS per l'analisi del flusso di lavoro completo dal campione al risultato. Utilizzare unicamente campioni con stato valido.

Il profilo del test del kit *artus* GBS QS-RGQ contiene le istruzioni per analizzare il campione e il controllo positivo/negativo e produrre i risultati automaticamente.

Ogni campione e controllo mostra un risultato indipendente per ciascun target: GBS e controllo interno. Ogni risultato è riportato come "Signal detected" (segnale rilevato), "No signal" (nessun segnale) o "INVALID".

Risultati dei controlli positivi/negativi:

- Tutti i target del controllo positivo ("Positive Control") e del controllo negativo ("Negative Control") devono essere validi per confermare che lo stato del test è riuscito e che i risultati dell'analisi possono essere messi a referto. Se un target del controllo positivo o del controllo negativo non è valido, i risultati per ogni campione nel processo saranno visualizzati come "INVALID". L'intera analisi deve essere testata di nuovo.
- Il controllo positivo deve riportare un risultato "Signal detected" per lo GBS e il controllo interno.
- Il controllo negativo deve riportare un risultato "Signal detected" per il controllo interno e "No signal" per i target specifici.

Risultati del campione:

- Per il riepilogo dell'interpretazione dei risultati, vedere la Tabella 6.
- Un campione è considerato positivo per GBS se il target è stato rilevato.
- Il segnale del controllo interno deve essere rilevato nei campioni in cui non viene rilevato alcun segnale GBS. Se il segnale del controllo interno non viene rilevato oppure è "INVALID" nei campioni in cui non viene rilevato alcun segnale GBS, tutti i target per il campione saranno visualizzati come "INVALID". Il campione deve essere testato di nuovo.
- Il target del controllo interno può essere riportato come "No signal" o "INVALID" in campioni in cui viene rilevato il segnale GBS. In questi casi vengono riportati tutti i target per il campione. Non è necessario eseguire di nuovo il test.
- **Nota:** si prevede che in alcuni campioni positivi per GBS il controllo interno PCR potrebbe essere stato inibito dalla competizione derivante

dall'amplificazione del DNA del GBS, condizione che determina un risultato "No signal" o "INVALID" per il controllo interno.

- In alcuni campioni, un risultato per GBS può essere riportato come "INVALID". In questi casi, si raccomanda di testare di nuovo il campione.
- Se il target GBS è riportato come "INVALID" e il flag indica CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE, questo campione non deve essere testato di nuovo ed è considerato "No signal", se il controllo interno è valido.

Tabella 6. Riepilogo dell'interpretazione dei risultati

GBS	Risultato target		Stato dei campioni	GBS rilevato nel campione
		Controllo interno		
Signal detected	Signal detected/ No signal/ INVALID	Valido	Sì	
No signal	Signal detected	Valido	No	
No signal	No signal/INVALID	Non valido	Errore, testare di nuovo il campione	
INVALID*	Signal detected/ No signal/ INVALID	Valido o non valido	Errore, testare di nuovo il campione	

*Se un target è riportato come "INVALID" e il flag indica CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE, questo campione non deve essere testato di nuovo ed è considerato "No signal", se il controllo interno è valido.

Questa analisi automatizzata può generare i flag di seguito descritti.

Flag	Comportamento	Descrizione
ASSAY_INVALID	Non valido	Test non valido perché almeno un controllo esterno non è valido.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Non valido	Il valore C _T rilevato è superiore al C _T di cutoff definito (vedere oben).
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Non valido	Il valore C _T rilevato è inferiore al C _T di cutoff definito.

Flag	Comportamento	Descrizione
CURVE_SHAPE_ ANOMALY	Non valido	La curva di amplificazione dei dati non elaborati mostra una forma che devia rispetto al comportamento definito per questo test. Esiste un'elevata probabilità di risultati errati o di un'errata interpretazione dei risultati.
FLAT_BUMP	Non valido	La curva di amplificazione mostra una forma simile ad una protuberanza piatta, che devia rispetto al comportamento definito per questo test. Esiste un'elevata probabilità di risultati errati o di un'errata interpretazione dei risultati (errata determinazione del valore C_T).
IC_INVALID	Non valido	Il controllo interno non è valido. Il target e il controllo interno condividono la stessa provetta.
IC_NO_SIGNAL	Non valido	Nessun segnale del controllo interno rilevato. Il target e il controllo interno condividono la stessa provetta.
MULTI_THRESHOLD_ CROSSING	Non valido	La curva di amplificazione incrocia la soglia più di una volta. Non può essere stabilito un valore C_T univoco.
NO_CT_DETECTED	Non valido	Non viene rilevato alcun valore C_T per questo target.

Flag	Comportamento	Descrizione
NORM_FACTOR_ALTERATION	Avvertenza	<p>Curva non normalizzata correttamente a causa del basso segnale.</p> <p>Nota: se un campione valido viene etichettato con questo flag, al convalidatore viene richiesto di prestare particolare attenzione alle informazioni fornite da tale flag prima di decidere se accettare o rifiutare il risultato.</p>
OTHER_TARGET_INVALID	Non valido	Un altro target per lo stesso campione non è valido.
SATURATION	Non valido	La fluorescenza dei dati non elaborati risulta notevolmente satura prima del punto di flessione della curva di amplificazione.
SATURATION_IN_PLATEAU	Avvertenza	<p>La fluorescenza dei dati non elaborati risulta satura nella fase di plateau della curva di amplificazione.</p> <p>Nota: se un campione valido viene etichettato con questo flag, al convalidatore viene richiesto di prestare particolare attenzione alle informazioni fornite da tale flag prima di decidere se accettare o rifiutare il risultato.</p>
SPIKE	Variabile	Nella curva di amplificazione è stato rilevato un picco nella fluorescenza dei dati non elaborati, ma all'esterno della regione in cui è determinato il valore C_T .

Flag	Comportamento	Descrizione
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Non valido	Nella curva di amplificazione è stato rilevato un picco vicino al valore C_T .
STEEP_BASELINE	Non valido	Nella curva di amplificazione è stato rilevato un ripido tratto ascendente nella linea di base per la fluorescenza dei dati non elaborati.
STRONG_BASELINE_DIP	Non valido	Nella curva di amplificazione è stato rilevato un ripido tratto discendente nella linea di base per la fluorescenza dei dati non elaborati.
STRONG_NOISE	Non valido	È stato rilevato un forte rumore all'esterno della fase di crescita (esponenziale) della curva di amplificazione.
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	Non valido	È stato rilevato un forte rumore nella fase di crescita (esponenziale) della curva di amplificazione.
UNCERTAIN	Non valido	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.

Flag	Comportamento	Descrizione
UPSTREAM	Variabile	<p>Lo stato dei campioni è stato impostato su "invalid" o "unclear" (equivoco) da un processo a monte (es. setup del test QIA Symphony).</p> <p>Nota: Per i flag "unclear" dei processi a monte, il comportamento del Rotor-Gene AssayManager è definito nell'ambiente "Configuration".</p> <p>Per i flag "invalid" dei processi a monte, il Rotor-Gene AssayManager invalida sempre tali campioni.</p>
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	Non valido	<p>Nella curva di amplificazione è stato rilevato un tratto sinusoidale nella linea di base per la fluorescenza dei dati non elaborati.</p>

Guida alla risoluzione dei problemi

Questa guida alla risoluzione dei problemi può essere utile per chiarire eventuali dubbi che possano presentarsi. Per maggiori informazioni, consultare anche la pagina relativa alle domande frequenti (FAQ) nel nostro servizio di assistenza tecnica: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Gli esperti del servizio di assistenza tecnica di QIAGEN sono sempre disponibili per rispondere a qualsiasi domanda riguardante informazioni e protocolli presentati in questo manuale o le tecnologie per campioni e analisi (per le informazioni sui contatti vedere il retro di copertina o visitare il sito www.qiagen.com).

Commenti e suggerimenti

Gestione generale

Messaggio d'errore visualizzato sul touch screen	Se durante un processo integrato viene visualizzato un messaggio d'errore, consultare i manuali utente forniti con gli strumenti.
--	---

Precipitato nel recipiente del reagente della cartuccia aperta del kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen

a) Evaporazione del tampone	Un'eccessiva evaporazione può causare un aumento della concentrazione di sali o una riduzione della concentrazione di alcol nei tamponi. Eliminare la cartuccia reagenti (RC). Accertarsi di sigillare i recipienti dei tamponi di una cartuccia reagenti (RC) utilizzata solo parzialmente con le strisce sigillanti riutilizzabili se i tamponi non vengono utilizzati per la purificazione.
-----------------------------	--

Commenti e suggerimenti

- b) Conservazione della cartuccia reagenti (RC) La conservazione della cartuccia reagenti (RC) ad una temperatura inferiore ai 15°C può provocare la formazione di precipitati. Se necessario, rimuovere i recipienti contenenti i tamponi QSL2 e QSB1 dalla cartuccia reagenti (RC) e incubarli in un bagnomaria* per 30 minuti a 37°C agitandoli di tanto in tanto per sciogliere il precipitato. Accertarsi di riposizionare correttamente i recipienti. Se la cartuccia reagenti (RC) è già stata perforata, accertarsi che i recipienti vengano sigillati con le strisce sigillanti riutilizzabili, quindi incubare l'intera cartuccia reagenti (RC) in un bagnomaria* per 30 minuti a 37°C agitando di tanto in tanto.

Bassa resa di acidi nucleici

- a) Particelle magnetiche non risospese completamente Prima di avviare la procedura, accertarsi che le particelle magnetiche siano completamente risospese. Agitare su vortex per almeno 3 minuti prima dell'uso.
- b) Campioni congelati non miscelati correttamente dopo lo scongelamento Scongellare i campioni con una leggera agitazione per garantirne un'accurata miscelazione.
- c) Carrier RNA (CARRIER) non aggiunto Ricostituire il carrier RNA (CARRIER) nel tampone AVE (AVE) e miscelare con un volume adeguato di tampone AVE (AVE) come descritto in "Preparazione del carrier RNA (CARRIER) e del controllo interno (controllo interno per GBS)", pagina 12. Ripetere il processo di purificazione con nuovi campioni.

* Assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati periodicamente secondo le disposizioni del produttore.

Commenti e suggerimenti

- d) Acidi nucleici degradati
I campioni sono stati conservati in modo errato oppure soggetti a troppi cicli di congelamento-scongelo. Ripetere il processo di purificazione con nuovi campioni.
- e) Lisi dei campioni incompleta
Prima dell'uso verificare che i tamponi QSL2 e QSB1 non contengano precipitati. Se necessario, rimuovere i recipienti contenenti i tamponi QSL2 e QSB1 dalla cartuccia reagenti (RC) e incubarli per 30 minuti a 37°C agitandoli di tanto in tanto per sciogliere il precipitato. Se la cartuccia reagenti (RC) è già stata perforata, accertarsi che i recipienti vengano sigillati con le Strisce Sigillanti Riutilizzabili, quindi incubare l'intera cartuccia reagenti (RC) per 30 minuti a 37°C agitando di tanto in tanto in un bagnomaria.*
- f) Ostruzione del puntale per pipetta a causa di materiale insolubile
Il materiale insolubile non è stato rimosso dal campione prima di avviare la procedura di purificazione QIASymphony. Per rimuovere il materiale insolubile per applicazioni batteriche, centrifugare il campione a 3000 x g per 1 minuto, quindi trasferire il supernatante in una nuova provetta.

* Assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati periodicamente secondo le disposizioni del produttore.

Commenti e suggerimenti

QIAsymphony AS rileva Master insufficiente

Master insufficiente
trasferito nella provetta

Unire il contenuto di un numero appropriato di provette di GBS Master A in una sola provetta prima dell'uso. Unire il contenuto di un numero appropriato di provette di GBS Master B in una sola provetta prima dell'uso. I reagenti viscosi possono essere difficili da manipolare con le pipette manuali. Accertarsi di trasferire l'intero volume di Master nella provetta.

Per i reagenti viscosi si consiglia di aspirare un volume extra del 5% quando si utilizzano pipette manuali (ad es., regolare la pipetta a 840 µl per un volume di 800 µl).

In alternativa, dopo aver lentamente dispensato il liquido ed effettuato un blow-out sulla parete della provetta target, rimuovere il puntale dal liquido, rilasciare lo stantuffo della pipetta e attendere altri 10 secondi. Il liquido residuo scenderà dal puntale e, a questo punto, si potrà effettuare il blow-out premendo una seconda volta lo stantuffo della pipetta. L'impiego di puntali con filtro per PCR "low retention" può migliorare il recupero del liquido.

Non viene rilevato nessun segnale con il controllo positivo (controllo positivo per GBS) per il target GBS

a) Configurazione non
corretta della PCR

Verificare che il setup del test sia stato eseguito correttamente e che sia stato usato il set corretto di parametri del test. Ripetere la reazione di PCR, se necessario. Vedere "Set di controllo del test e set di parametri del test", pagina 14.

Commenti e suggerimenti

- | | |
|---|---|
| b) Le condizioni di conservazione per uno o più componenti del kit non corrispondevano alle istruzioni fornite in "Conservazione e manipolazione dei reagenti" (pagina 9) | Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza dei reagenti (vedere etichetta del kit) e utilizzare un nuovo kit se necessario. |
| c) Il kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ è scaduto | Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza dei reagenti (vedere etichetta del kit) e utilizzare un nuovo kit se necessario. |

Segnale debole o assente del controllo interno di un campione negativo sottoposto a purificazione con il kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen per il target "Internal Control" (controllo interno) e assenza simultanea di segnale per il target GBS

- | | |
|--|---|
| a) Le condizioni della PCR non sono conformi al protocollo | Verificare le condizioni della PCR (vedere sopra) e ripetere la PCR con impostazioni corrette, se necessario. |
| b) La PCR è stata inibita | Verificare che sia stato usato il metodo di isolamento validato (vedere "Protocollo: Isolamento del DNA e setup del test sugli strumenti QIASymphony SP/AS", pagina 15) e seguire scrupolosamente le istruzioni. |
| c) DNA perso durante l'estrazione | L'assenza di segnale del controllo interno può indicare la perdita di DNA durante l'estrazione. Verificare che sia stato usato il metodo di isolamento validato (vedere "Protocollo: Isolamento del DNA e setup del test sugli strumenti QIASymphony SP/AS", pagina 15) e seguire scrupolosamente le istruzioni.

Vedere anche "Bassa resa degli acidi nucleici" sopra. |

Commenti e suggerimenti

- | | |
|---|---|
| d) Le condizioni di conservazione per uno o più componenti del kit non corrispondevano alle istruzioni fornite in "Conservazione e manipolazione dei reagenti" (pagina 9) | Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza dei reagenti (vedere etichetta del kit) e utilizzare un nuovo kit se necessario. |
| e) Il kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ è scaduto | Controllare le condizioni di conservazione e la data di scadenza dei reagenti (vedere etichetta del kit) e utilizzare un nuovo kit se necessario. |

Segnali con i controlli negativi per il GBS target della PCR analitica

- | | |
|---|--|
| a) Si è verificata una contaminazione durante la preparazione della PCR | Ripetere la PCR con nuovi reagenti in replicati.
Se possibile, chiudere le provette per PCR subito dopo l'immissione del campione da testare.
Verificare che l'ambito di lavoro e gli strumenti vengano decontaminati a intervalli regolari. |
| b) Si è verificata una contaminazione durante l'estrazione | Ripetere l'estrazione e la PCR del campione da testare utilizzando nuovi reagenti.
Verificare che l'ambito di lavoro e gli strumenti vengano decontaminati a intervalli regolari. |

Controllo di qualità

In conformità con il sistema di gestione per la qualità di QIAGEN certificato ISO ogni lotto del kit *artus* GBS QS-RGQ è stato testato in base a specifiche prestabilite per garantire la costante qualità del prodotto.

Limiti della metodica

L'uso di tutti i reagenti è riservato esclusivamente alla diagnostica in vitro.

L'utilizzo del kit *artus* GBS QS-RGQ è riservato a esperti di laboratorio addestrati all'uso degli strumenti QIASymphony SP/AS e Rotor-Gene Q e del Rotor-Gene AssayManager.

L'utilizzo è consentito soltanto a personale dotato delle necessarie conoscenze e competenze in merito alle procedure della diagnostica in vitro. Gli eventuali risultati diagnostici generati dal sistema devono essere interpretati in combinazione con gli esiti di altri esami clinici o di laboratorio.

Per ottenere risultati PCR ottimali è assolutamente necessario attenersi al protocollo.

Rispettare le date di scadenza dei singoli componenti, riportate sulla confezione e sulle etichette. Non utilizzare reagenti scaduti.

Sebbene accada raramente, eventuali mutazioni nelle regioni altamente conservate del genoma batterico coperte dai primer e/o dalla sonda del kit possono essere causa di una mancata individuazione dei batteri. La validità e le prestazioni del kit vengono revisionate ad intervalli regolari.

Caratteristiche delle prestazioni

Vedere il sito www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE per le caratteristiche delle prestazioni del kit *artus* GBS QS-RGQ.

Riferimenti bibliografici

1. Fluegge, K. et al. (2006) Incidence and clinical presentation of invasive neonatal group B streptococcal infections in Germany. *Pediatrics*, **117**, e1139.
2. Centers for Disease Control and Prevention (USA). GBS Prevention in Newborns. <http://www.cdc.gov/groupbstrep/about/prevention.html>
3. Young, B.C., Dodge, L.E., Gupta, M., Rhee, J.S. and Hacker, M.R. (2011) Evaluation of a rapid, real-time intrapartum group B streptococcus assay. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **205**, 372.

Simboli

I seguenti simboli possono comparire sulla confezione e sull'etichettatura:



<N>





Contenuto sufficiente per <N> test



Data di scadenza



Dispositivo medico per diagnostica in vitro

REF	Numero di catalogo
LOT	Numero di lotto
MAT	Numero di materiale
COMP	Componenti
CONT	Contiene
NUM	Numero
GTIN	Global Trade Item Number
Rn	R indica la revisione del manuale e n il numero di revisione
	Limite di temperatura
	Produttore
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Attenzione
MASTER A	Master A
MASTER B	Master B
IC	Controllo interno
CONTROL +	Controllo positivo
CONTROL -	Controllo negativo

Informazioni sui contatti

Per ricevere assistenza tecnica e ulteriori informazioni, potete consultare il nostro sito www.qiagen.com/Support, chiamare il numero 00800-22-44-6000 o contattare il servizio di assistenza tecnica QIAGEN o il distributore locale (consultate il retro di copertina o visitate il sito www.qiagen.com).

Informazioni per gli ordini

Prodotto	Indice	Cat n.
<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit (72)	Per 72 reazioni: 2 master, controllo positivo, controllo interno, controllo negativo	4572366
Kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen		
QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit	Per 192 preparazioni (da 200 µl cad.): include 2 cartucce reagenti, rack per enzima e accessori	937036
Strumenti QIAasymphony SP/AS		
QIAasymphony SP	Modulo per la preparazione dei campioni QIAasymphony: include la garanzia di 1 anno sulle parti e sulla funzionalità di laboratorio.	9001297
QIAasymphony AS	Modulo per il setup del test QIAasymphony: include la garanzia di 1 anno sulle parti e sulla funzionalità di laboratorio.	9001301
Rotor-Gene Q		
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Termociclatore per PCR in tempo reale e analizzatore per fusione ad alta risoluzione a 5 canali (verde, giallo, arancione, rosso, cremisi) più canale HRM, notebook, software, accessori: include la garanzia di 1 anno sulle parti e sulla funzionalità di laboratorio; installazione e addestramento non incluse	9002032
Rotor-Gene AssayManager — per test di routine con gli strumenti Rotor-Gene Q e QIAasymphony RGQ		
Rotor-Gene AssayManager	Software per test di routine in combinazione con gli strumenti Rotor-Gene Q e QIAasymphony RGQ; software con licenza unica per l'installazione su un solo computer	9022737

Prodotto	Indice	Cat n.
Rotor-Gene AssayManager (10)	Software per test di routine in combinazione con gli strumenti Rotor-Gene Q e QIA Symphony RGQ; software con più licenze per l'installazione su un numero massimo di 10 computer	9022739

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti, consultare il manuale del kit o il manuale utente QIAGEN. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili nel sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza tecnica QIAGEN o al proprio distributore locale.

Questa pagina è stata lasciata in bianco intenzionalmente

L'acquisto di questo prodotto ne consente l'uso all'acquirente per l'esecuzione di servizi per la diagnostica umana in vitro. Con il presente non si concede nessun brevetto generico o licenza di altro tipo in aggiunta agli specifici diritti di utilizzo garantiti dall'acquisto.

Marchi: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (Gruppo QIAGEN); BD™ (Becton, Dickinson and Company); Corning® (Corning, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

Il kit *artus* GBS QS-RGQ è un dispositivo di diagnostica contrassegnato CE secondo la direttiva europea della diagnostica in vitro 98/79/CE. Non disponibile in tutti i paesi.

Contratto di Licenza Limitato per il kit *artus* GBS QS-RGQ

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

1. Questo prodotto può essere utilizzato esclusivamente in conformità ai protocolli forniti insieme al prodotto e al presente manuale e soltanto con i componenti contenuti nel kit. QIAGEN non concede alcuna licenza, in relazione a qualunque proprietà intellettuale, per l'uso o l'aggiunta dei componenti del kit ad altri componenti non contenuti nel kit, ad eccezione di quanto descritto nei protocolli forniti insieme al prodotto, nel presente manuale e nei protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com. Alcuni di questi protocolli aggiuntivi sono stati forniti da utenti QIAGEN per altri utenti QIAGEN. Tali protocolli non sono stati completamente testati od ottimizzati da QIAGEN. QIAGEN non garantisce in alcun modo che non violino i diritti di terze parti.
2. Se non espressamente dichiarato nelle licenze, QIAGEN non garantisce in alcun modo che questi kit e/o il relativo impiego non violino i diritti di terze parti.
3. Il presente kit e i relativi componenti sono concessi in licenza per l'impiego monouso e non possono essere riutilizzati, ripristinati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del kit concordano nel non consentire a nessuno di intervenire o consentire ad altri di realizzare o contribuire a realizzare azioni proibite. QIAGEN può imporre presso qualunque tribunale i divieti del presente Contratto di Licenza Limitato e recupererà tutte le spese di indagine e spese legali, comprese le parcelle degli avvocati, in qualunque azione per imporre il presente Contratto di Licenza Limitato o qualsiasi diritto di proprietà intellettuale correlato al kit e/o ai suoi componenti.

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

© 2015 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

www.qiagen.com

Australia ▪ techservice-au@qiagen.com

Austria ▪ techservice-at@qiagen.com

Belgium ▪ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ▪ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ▪ techservice-ca@qiagen.com

China ▪ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ▪ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ▪ techservice-nordic@qiagen.com

France ▪ techservice-fr@qiagen.com

Germany ▪ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ▪ techservice-hk@qiagen.com

India ▪ techservice-india@qiagen.com

Ireland ▪ techservice-uk@qiagen.com

Italy ▪ techservice-it@qiagen.com

Japan ▪ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ▪ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ▪ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ▪ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ▪ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ▪ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ▪ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ▪ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ▪ techservice-ch@qiagen.com

UK ▪ techservice-uk@qiagen.com

USA ▪ techservice-us@qiagen.com

