

Aplikační list QIASymphony RGQ

Sada *artus*[®] CT/NG QS-RGQ

(typ vzorku: moč stabilizovaná v eNaT[™], 400 µl)

Červenec 2017

Správa verze

Tento dokument je aplikačním listem sady *artus* CT/NG QS-RGQ pro moč, verze 1, R3.



Před samotným testem si ověřte dostupnost nových revizí elektronického značení na adrese www.qiagen.com/products/artusctngqsrgqkitce before test execution.

Všeobecné informace

Sada	<i>artus</i> CT/NG QS-RGQ Kit, verze 1, REF 4569365
Validovaný materiál vzorku	Ženská a mužská moč stabilizovaná v eNaT
Čištění na předním konci	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat. č. 937055)
Objem vzorku (včetně nadbytečného objemu)	500 µl
Sada parametrů	<i>artus</i> _CT_NG 400_V1
Výchozí množina analytických kontrol	Complex400_V4_DSP <i>artus</i> CT_NG
Jméno interní kontroly na modulu SP	Complex400_V4_DSP <i>artus</i> CT_NG
Eluční objem	60 µl
Vyžadovaná verze softwaru	Verze 4.0 nebo vyšší
Objem master mixu	10 µl
Objem šablony	15 µl
Počet reakcí	6–96
Doba chodu na modulu AS	Pro 6 reakcí: přibližně 8 minut Pro 72 reakcí: přibližně 35 minut

Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

Sběr vzorků	■ 2 ml eNaT tubes (2ml zkumavky eNaT) (Copan, katalogové č. 606C, www.copaninnovation.com)
Purifikační sada	■ QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kat. č. 937055)
Adaptéry pro QIASymphony SP	■ Elution Microtube Rack QS (stojánek na eluční mikrozukavky QS) (Cooling Adapter (chladicí adaptér), EMT, v2, Qsym, kat. čís. 9020730) ■ Tube Insert 3B (vločka pro zkumavky) (Insert (vločka), 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, kat. čís. 9242083)
Spotřební materiál pro QIASymphony SP	■ Sample Prep Cartridges, 8-well (8jamkové zásobníky na přípravu vzorku) (kat. čís. 997002) ■ 8-Rod Covers (kryty hrotů (po osmi)) (kat. čís. 997004) ■ Filter-Tips (špičky s filtrem), 1500 µl (kat. čís. 997024) ■ Filter-Tips (špičky s filtrem), 200 µl (kat. čís. 990332) ■ Elution Microtubes (eluční mikrozukavky) CL (kat. čís. 19588) ■ Tip disposal bags (odpadní sáčky na špičky) (kat. čís. 9013395) ■ Micro tubes 2.0 ml Type I, with skirted base (2ml mikrozukavky typu I s olemovanou základnou) (Sarstedt, kat. čís. 72.694 www.sarstedt.com) pro použití se vzorky a interními kontrolami ■ Tubes (zkumavky) 14 ml, 17 x 100 mm polystyrénové zkumavky s kulatým dnem (Becton Dickinson, kat. č. 352051) pro interní kontroly
Adaptéry a držáky na reagencie pro QIASymphony AS	■ Reagent holder 1 QS (držák na reagencie) (Cooling Adapter (chladicí adaptér), Reagent Holder 1 (držák na reagencie 1), Qsym, kat. čís. 9018090) ■ Reagent holder 2 QS (držák na reagencie) (Cooling Adapter (chladicí adaptér), Reagent Holder 2 (držák na reagencie 2), kat. čís. 9018089) ■ RG Strip Tubes 72 QS (stripy se zkumavkami) (Cooling Adapter (chladicí adaptér), RG Strip Tubes (stripy se zkumavkami) 72, Qsym, kat. čís. 9018092)

Spotřební materiál pro
QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps (stripy se zkumavkami a víčky), 0.1 ml (kat. čís. 981103)
- Tubes, conical (kónické zkumavky), 2 ml, Qsym AS (kat. čís. 997102)
- Tube, conical (kónická zkumavka), 5 ml, Qsym AS (kat. čís. 997104)
- Elution Microtubes (eluční mikrozkušavky) CL (kat. čís. 19588)
- Filter-Tips (špičky s filtrem), 1500 µl (kat. čís. 997024)
- Filter-Tips (špičky s filtrem), 200 µl (kat. čís. 990332)
- Filter-Tips (špičky s filtrem), 50 µl (kat. čís. 997120)
- Tip disposal bags (odpadní sáčky na špičky) (kat. čís. 9013395)

Pro přípravu vzorků (eNaT)

- Buffer ATL, GPR (pufr ATL, GPR) (katalogové číslo 939016)

Uchovávání a nakládání se vzorky

Sběr vzorků	2ml zkumavky eNaT (Copan, katalogové č. 606C, www.copaninnovation.com)
Přeprava vzorků	Přeprava chránící před otřesy Přeprava při 20 °C během 6 hodin od odběru vzorků Poštovní přeprava podle právních pokynů pro přepravu patogenního materiálu*
Příprava vzorku	Zamezte vytvoření pěny na nebo ve vzorcích. Vzorky by měly být před začátkem protokolu ekvilibrovány na pokojovou teplotu (15–25 °C).
Skladování vzorků	Krátkodobé (až do 7 dnů od dodávku na místo testování): 20 °C nebo 4 °C v závislosti na místních podmínkách Dlouhodobé (až po dobu 2 týdnů): 4 °C Delší uchovávání: –20 °C

* International Air Transport Association (Mezinárodní asociace leteckých dopravců) (IATA). Dangerous Goods Regulations (Předpisy pro přepravu nebezpečného zboží).

Postup

Příprava RNA nosiče a přidavek interní kontroly ke vzorkům

Použití sad QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi ve spojení se sadou *artus* CT/NG QS-RGQ vyžaduje zapojení interní kontroly (CT/NG RG IC) do purifikační procedury, aby se mohla monitorovat efektivita přípravy vzorku a následných rozborů.

Interní kontroly se musí přidávat spolu se směsí RNA nosiče (CARRIER) a pufru AVE (AVE). Celkový objem směsi interní kontroly, RNA nosiče (CARRIER) a pufru AVE (AVE) zůstává 120 μ l.

Tabulka udává přidavek interní kontroly k izolaci v poměru 0,1 μ l na 1 μ l elučního objemu. Doporučujeme připravit pro každý běh čerstvé směsi bezprostředně před použitím.

Pro výpočet vnitřní kontroly (IC) je nutné použít „IC Calculator“ (Kalkulátor IC) s konzolou řízení QIASymphony (QMC).

Komponenta	Objem (μ l) (zkumavky SAR)*	Objem (μ l) (zkumavky BD™)†
Základní nosič RNA (CARRIER)	3	3
Interní kontrola‡	9	9
Pufr AVE	108	108
Konečný objem na jeden vzorek (vyjma mrtvého objemu)	120	120
Celkový objem pro n vzorků	$(n \times 120) + 360$ §	$(n \times 120) + 600$ ¶

* 2ml mikrozkušavky typu I s olemovanou základnou (Sarstedt, kat. čís. 72.694, www.sarstedt.com).

† Zkušavky 14 ml, 17 x 100 mm polystyrénové zkumavky s kulatým dnem (Becton Dickinson, kat. č. 352051).

‡ Výpočet množství interní kontroly se zakládá na výchozích elučních objemech (90 μ l). Dodatečný mrtvý objem závisí na typu použité zkumavky na vzorek.

§ Vyžaduje se směs interní kontroly odpovídající 3 přidavných vzorků (tj. 360 μ l). Neplňte více než na celkový objem 1,92 ml (odpovídající maximu 13 vzorků). Tyto objemy jsou specifické pro 2ml mikrozkušavky typu I s olemovanou základnou (Sarstedt, kat. čís. 72.694, www.sarstedt.com).

¶ Vyžaduje se směs interní kontroly odpovídající 5 přidavných vzorků (tj. 600 μ l). Neplňte více než na celkový objem 13,92 ml (odpovídající maximu 111 vzorků). Zkušavky 14 ml, 17 x 100 mm polystyrénové zkumavky s kulatým dnem (Becton Dickinson, kat. č. 352051).

Nastavení QIASymphony SP

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držák jednotkové krabice 1—4	Prázdné jednotkové krabice
Držák odpadních sáčků	Prázdný odpadní sáček
Držák nádoby na kapalný odpad	Vyprázdněte a vložte nádobu na tekutý odpad

Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Eluční stojánek	Chladicí pozice, použijte štěrbinu 1 (stojánek EMT)
Eluční objem*	Předvolený eluční objem: 60 µl Výchozí eluční objem: 90 µl

* Eluční objem je předvolený pro protokol. Toto je minimální dosažitelné množství eluátu ve výsledné eluční zkumavce.
Původní objem elučního roztoku je vyžadován, aby bylo zajištěno, že skutečný objem eluátu odpovídá předvolenému objemu.

Zásuvka „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotřební díly)

Poloha A1 a/nebo A2	Vložte 1 zásobník s reagensy (RC) pro až 72 vzorků plazmy nebo 2 nové zásobníky s reagensy (RC) pro až 144 vzorků
Poloha B1	Pufr ATL (ATL), skenujte čárový kód nádoby stisknutím tlačítka „Bottle ID“ (ID nádoby) v zásuvce „Reagents and Consumables“
Držák stojánků se špičkami pozice 1-17	Vložte dostatečné množství stojánků jednorázových špiček s filtrem, 200 µl a 1500 µl (viz stránka 7)
Držák boxů s jednotkami pozice 1-4	Vložte jednotkové krabice obsahující zásobníky vzorových preparátů a 8tyčové kryty (viz stránka 7)

Zásuvka „Sample“ (Vzorek)

Typ vzorku	Medium pro transport vzorků eNaT
Objem vzorku (včetně nadbytečného objemu)	500 µl
Zkumavky na vzorky (primární)	2ml zkumavky eNaT (Copan, katalogové č. 606C, www.copaninnovation.com)*
Zkumavky na vzorky (sekundární)	2ml mikrozukavky typu I s olemovanou základnou (Sarstedt, kat. čís. 72.694 www.sarstedt.com).
Vložka	Vložka pro zkumavky 3B (kat. čís. 9242083)

* Zajistěte odstranění stěrů z primárních zkumavek před vložením do QIASymphony SP.

Požadovaný plastový materiál pro 1–4 sady vzorků

	Jedna šarže, 24 vzorků*	Dvě šarže, 48 vzorků*	Tři šarže, 72 vzorků*	Čtyři šarže, 96 vzorků*
Jednorázové špičky s filtrem, 200 µl ^{†‡}	28	52	74	100
Jednorázové špičky s filtrem, 1500 µl ^{†‡}	93	178	263	348
Zásobníky pro přípravu vzorků [§]	18	36	54	72
8tyčové kryty [¶]	3	6	9	12

* Užití více než jedné zkumavky s interní kontrolou na jednu sadu a provedení více než jedné kontroly vloženého obsahu vyžaduje dodatečné jednorázové špičky s filtrem.

[†] Jeden stojánek na špičky obsahuje 32 špiček s filtrem.

[‡] Počet požadovaných filtračních špiček zahrnuje filtrační špičky pro 1 snímek inventáře na kazetu s reagensy.

[§] Je tu 28 kazet s preparáty vzorku/jednotková krabice.

[¶] Je tu dvanáct 8tyčových krytů/jednotková krabice.

Vkládání vzorků a kontrol

Dbejte na to, aby byly na začátek vašich vzorků ve vstupu vzorku QIASymphony umístěny 2 kontroly (CT/NG Control CT+/NG– a CT/NG Control NG+/CT–). Při přípravě více než 69 vzorků musí být k dispozici 2 další kontroly (viz například následující tabulka). Je to důležité, protože jeden běh PCR obsahuje 72 reakcí (69 vzorků + 2 kontrolu v modulech přípravy vzorků a 1 NTC v modulu nastavení analýzy). Při testování více než 69 vzorků modul AS automaticky napipetuje druhý běh PCR. Aby byla zajištěna platnost tohoto běhu, musí být v pozicích 1 a 2 PCR 2 kontroly. Proto dbejte na to, aby byly 2 kontroly pro přípravu vzorku vždy na počátku běhu RotorGene Q. Při testování více než 45 vzorků doporučujeme rozdělit vzorky do 2 šarží na modulu AS a odpovídajícím způsobem do 2 samostatných běhů na přístroji Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. Bližší informace viz tabulka 2 níže. Nezapomeňte, že NTC zpracovává modul AS a nikoliv modul SP.

Poznámka: Nedoporučujeme ručně měnit počet replikátů NTC. Správce analýzy Rotor-Gene Assay Manager odmítne běh, pokud se změní počet replikátů NTC.

Distribuce vzorků a kontrol (příklad pro 96 reakcí)

	Šarže SP 1 Pozice	Šarže SP 2 Pozice	Šarže SP 3 Pozice	Šarže SP 4 Pozice
Kontroly CT/NG	1: CT+/NG– 2: NG+/CT–	–	49: CT+/NG– 50: NG+/CT–	–
Vzorky	3–24	25–48	51–72	73–96

Po každé množině vzorků (1–71 a 72–96) přidá modul AS vzorek NTC (kontrola bez šablony).

Doporučený pracovní tok 96 vzorků (včetně kontrol) je vyobrazen v následující tabulce. V tomto případě bude zpracováno 2 x 46 vzorků (+ 2 kontroly) ve 2 šaržích AS a 2 bězích PCR. První běh PCR se 46 vzorky, 2 kontrolami a 1 NTC bude dokončen, jakmile se zpracují šarže 3 a 4 SP.

Doporučený pracovní tok pro 96 vzorků využívající integrovaných běh

	Šarže AS 1		Šarže AS 2	
	Šarže SP 1 Pozice	Šarže SP 2 Pozice	Šarže SP 3 Pozice	Šarže SP 4 Pozice
Kontroly CT/NG	1: CT+/NG– 2: NG+/CT–	–	49: CT+/NG– 50: NG+/CT–	–
Vzorky	3–24	25–48	51–72	73–96

Nastavení QIASymphony AS

Spotřební díly

Během nastavení jsou na dotykové obrazovce přístroje vyznačeny příslušné pozice pro každý spotřební díl na modulu QIASymphony AS.

Spotřební díly	Název na dotekové obrazovce	Pro použití s adaptérem/ držákem na reagentie
Zkumavky s proužky a uzávěry, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	Zkumavky s proužky 72 QS
Kónické zkumavky, 2 ml, Qsym AS (500) [†]	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [§]	Držák na reagentie 1 QS Držák na reagentie 2 QS
Kónická zkumavka, 5 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§]	Držák na reagentie 1 QS Držák na reagentie 2 QS
Eluční mikrozukumavky CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Stojánek na eluční mikrozukumavky QS

* Označuje laboratorní vybavení, které lze chladit chladicím adaptérem s čárovým kódem.

[†] Pro komponenty hlavní směsi, systémem připravený hlavní směs, standardy a kontroly.

[‡] Kónické zkumavky, 2 ml, Qsym AS (kat. čís. 997102)

[§] Přípona „(m)“ na dotekové obrazovce ukazuje, že výpočet hladiny tekutiny u příslušné zkumavky byl optimalizován pro reagentie tvořící konkávní meniskus.

Adaptéry a držáky na reagentie

Stojánek/držák na reagentie	Název	Požadovaný počet*
Stojánek pro vzorky	Stojánek na eluční mikrozkušavky QS	1
Držáky na reagentie	Držák na reagentie 1 QS	1
Stojánky pro rozbor	Zkušavky s proužky 72 QS	1

* Vypočítáno pro rozbor se 72 reakcemi.

Špičky s filtrem

Vložte stojánky na špičky počínaje drážkami 1, 2 a 3 do zásuvky „Eluate and Reagents“ (Eluát a reagentie) a poté vložte držáky na špičky do drážek 7, 8 a 9 v zásuvce „Assays“ (Analýzy).

Spotřební materiál	Název na dotekové obrazovce	Minimální počet pro 24 reakcí	Minimální počet pro 72 reakcí
Špičky s filtrem, 1500 µl (1024)	1500 µl	2	2
Špičky s filtrem, 200 µl (1024)	200 µl	6	6
Špičky s filtrem, 50 µl (1024)	50 µl	24	72
Odpadní sáčky na špičky	–	1	1

Rozdělení master mixu

I když je sada optimalizována pro 2 x 48 reakcí, jsou možné různé kombinace. Protože automatické pipetovací systémy vždy mají určitou velikost mrtvého objemu, rozdělení 48 reakčních zkušavek neobsahuje 2 x 24 reakcí. Vizi následující tabulku, kde je přehled možných reakcí.

Komponenta(y)	Zkušavky master mixu	Běhy PCR	Reakce na běh PCR*	Vzorky pacientů	Kontroly†
2 x 48 reakčních zkušavek	2	2	49	2 x 46	2 x 3
1 x 48 reakčních zkušavek	1	1	49	1 x 46	1 x 3
1 x 48 reakčních zkušavek	1	2	17	2 x 14	2 x 3

* Vypočítáno jako n vzorků pacientů + 2 kontroly CT/NG (CT+/NG– a NG+/CT–) + 1 NTC na běh PCR.

† CT/NG kontrola CT+/NG–, CT/NG kontrola NG+/CT– a NTC (přidáno modulem nastavení analýzy).

PCR v reálném čase na přístroji Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*

Sadu *artus* CT/NG QS-RGQ lze spustit na přístroji Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM pomocí ruční analýzy se softwarem Rotor-Gene Q 2.1 nebo vyšší, případně pomocí automatické analýzy se softwarem Rotor-Gene AssayManager®. Následující části popisují nastavení a instalaci pomocí 2 odlišných balíčků softwaru.

Připravte rotor ke spuštění na přístroji Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM:

- Do držáku rotoru umístěte 72jamkový rotor.
- Naplňte rotor stripy se zkumavkami. Ujistěte se, že jste začali v poloze 1 a naplnili stripy se zkumavkami ve správném směru.
- Použijte prázdné zavíčkované stripy se zkumavkami pro vyplnění všech nepoužívaných pozic.
- Půjpevněte pojistný prstenec.
- Do přístroje Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM vložte rotor a pojistný prstenec.

PCR v reálném čase s využitím softwaru Rotor-Gene AssayManager

Pro automatickou analýzu se sadou *artus* CT/NG QS-RGQ se softwarem Rotor-Gene AssayManager musí být nainstalován zásuvný modul *artus* Basic V1.0.3 (dostupný ke stažení na www.qiagen.com/shop/automated-solutions/accessories/rotor-gene-assaymanager) do softwaru Rotor-Gene AssayManager.

Začněte instalační proces dvojitým kliknutím na soubor *ArtusBasic.Installation.msi* a postupujte podle instalačních pokynů. Podrobný popis naleznete v „Installing Plug-ins“ (Instalace zásuvných modulů) v Uživatelské příručce základní aplikace Rotor-Gene AssayManager (*Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual*).

Pro použití profilu analýzy *artus_CTNG_sample400_QS* (zkrácený název: *CTNG_a*) se sadou *artus* CT/NG QS-RGQ se musí nainportovat soubor *AP_artus_CTNG_sample400_QS_V2_0_0.iap* (dostupný ke stažení z www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgkitce) do softwaru Rotor-Gene AssayManager.

Jak importovat profil analýzy do softwaru Rotor-Gene AssayManager:

1. Navigujte na „Configuration Environment“ (Konfigurační prostředí) a přejděte na kartu „Assay Profile“ (Profil analýzy).
2. Klikněte na „Import“ (Import) a vyberte soubor *AP_artus_CTNG_sample400_QS_V2_0_0.iap*, abyste otevřeli souborový dialog.
3. Klikněte na „Open“ (Otevřít) a profil se načte a přidá do seznamu dostupných profilů analýzy.

Poznámka: Stejná verze profilu analýzy se nemůže importovat dvakrát.

* Pokud to bude vhodné, platí pro přístroj Rotor-Gene Q 5plex HRM s datem výroby leden 2010 nebo pozdější. Datum výroby lze získat ze sériového čísla na zadní straně přístroje. Sériové číslo je ve formátu „mmrrnnn“, kde „mm“ označuje číslicemi měsíc výroby, „rr“ označuje poslední dvě číslice roku výroby a „nnn“ je jedinečný identifikátor přístroje.

Spuštění běhu pomocí softwaru Rotor-Gene AssayManager

Po instalaci zásuvného modulu a importování profilu analýzy může software Rotor-Gene AssayManager použít informace uvedené v souboru výsledků QIASymphony AS k nastavení běhu pro amplifikaci PCR v reálném čase a následnou automatickou interpretaci výsledků.

Soubory výsledků QIASymphony AS lze buď stáhnout pomocí USB flash paměti, nebo přes správcovskou konzolu QIASymphony. Pokud se soubor výsledků QIASymphony AS stahuje pomocí USB flash paměti, uloží se ve formátu .zip do složky x:\Log\results\AS.

Poznámka: Před importováním souboru výsledků QIASymphony AS se soubor ve formátu .zip musí rozbít. Pokud se přenáší soubor výsledků QIASymphony AS pomocí správcovské konzoly QIASymphony (QMC), tento krok se nevyžaduje.

Jak provést běh PCR:

1. Spusťte software Rotor-Gene AssayManager.
2. Změňte na prostředí „Setup“ (Nastavení) a vyberte zdroj „QIASymphony“ jako „Import type“ (Typ importu). V dialogu „Select file“ (Vybrat soubor) otevřete příslušný soubor s výsledky QIASymphony AS a klikněte na „Open“. K seznamu dostupných pracovních seznamů se pak přidá pracovní seznam.
3. Běh lze spustit z tabulky „Available work lists“ (Dostupné pracovní seznamy) kliknutím na „Apply“ (Použít) v panelu tlačítek u příslušného záznamu v pracovním seznamu (vložit pojmenování importovaných pracovních seznamů QS).
4. Zadejte název experimentu.
5. Vyberte cyklér a potvrďte, že je připevněn pojistný prstenec.
6. Klikněte na zelené tlačítko „Start run“ (Spustit běh).

Dokončení a uvolnění běhu

Chcete-li sledovat průběh běhu, přejděte na odpovídající obrazovku cykléru. Když běh skončí, kliknutím na „Finish run“ (Dokončit běh) uvolníte cyklér a schválíte vzorek v prostředí „Approval“ (Schválení).

7. Vyberte prostředí „Approval“.
8. Klikněte na „Apply filter“ (Použijte filtr) (nebo vyberte vlastní možnosti filtru předem).
9. Vyberte experiment.
10. Klikněte „Start approval“ (Spustit schválení).
11. Schvalte výsledky každého vzorku testu: Použijte tlačítko „Accepted“ (Schváleno) pro vzorky testů, s jejichž výsledky analyzovanými softwarem Rotor-Gene AssayManager souhlasíte. Pokud bude výsledek testu vzorku vyhodnocený softwarem Rotor-Gene AssayManager nepřijatelný z jakéhokoliv důvodu, použijte tlačítko „Rejected“ (Odmítnuto).

Poznámka: Výsledek, který byl automaticky nastaven softwarem Rotor-Gene AssayManager na „Invalid“ (Neplatný), nelze již nikdy převést na platný výsledek, a to i v případě, že je výsledek odmítnut.

12. Klikněte na „Release/report data ...“ (Uvolnit/vykazovat data...)

13. Vyberte profil sestavy a klikněte na „OK“. Sestava se automaticky vytvoří a uloží.

Poznámka: Uživatel potřebuje ke schválení běhu schvalovací práva.

14. Vyložte přístroj Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM a zlikvidujte zkumavky ve stripu podle místních bezpečnostních předpisů.

Interpretace výsledků pomocí softwaru Rotor-Gene AssayManager

Software *artus* CT/NG QS-RGQ AssayProfile pro vzorky moči automaticky nastaví prahovou hodnotu a obsahuje všechna pravidla pro automatickou interpretaci výsledků analýzy. Software podle toho vyhodnotí platnost nebo neplatnost vzorků a kontrol. Tato automatická analýza může poskytnout následující příslušné příznaky.

DŮLEŽITÉ: V kanálu NG se aplikuje mezní hodnota C_T 40, která povede k výsledku „NEPLATNÉ“ s příznakem „CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE“. Následující pokyn je nutné pečlivě dodržet.

- Je-li stav NG vyhodnocen jako neplatný s příznakem „CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE“ a je detekována IC, která je platná, vzorek lze považovat za **platný NG-negativní vzorek**. Provedení opakovaného testu není nutné.
- Je-li stav NG vyhodnocen jako neplatný s jiným příznakem, vzorek je nutné testovat znovu.
- Je-li stav CT vyhodnocen jako neplatný s jakýmkoli příznakem, vzorek je nutné testovat znovu.

Příznak	Chování	Popis
ASSAY_INVALID	Neplatná	Analýza je neplatná, protože je neplatná nejméně jedna kontrola.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Neplatná	Detekovaná hodnota C_T je vyšší než definovaná mezní C_T . DŮLEŽITÉ: Je-li stav NG vyhodnocen jako neplatný s tímto příznakem, vzorek lze považovat za platný NG-negativní vzorek za předpokladu, že IC je platná.
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Neplatná	Detekovaná hodnota C_T je nižší než definovaná mezní C_T .

Příznak	Chování	Popis
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Neplatná	Křivka amplifikace z nezpracovaných dat vykazuje tvar, který se odchyluje od zavedeného chování pro tuto analýzu. Existuje vysoká pravděpodobnost chybných výsledků nebo chybné interpretace výsledků.
FLAT_BUMP	Neplatná	Křivka amplifikace vykazuje plochý hrbol, který se odchyluje od zavedeného chování pro tuto analýzu. Existuje vysoká pravděpodobnost chybných výsledků nebo chybné interpretace výsledků (nesprávné stanovení hodnoty C_T).
FLUORESCENCE_TOO_LOW	Neplatná	Fluorescenční signál je nižší, než je definovaná fluorescenční mez.
IC_INVALID	Neplatná	Interní kontrola je neplatná. Cíl a interní kontrola se dělí o tutéž zkumavku.
IC_NO_SIGNAL	Neplatná	Nebyl detekován žádný signál interní kontroly. Cíl a interní kontrola se dělí o tutéž zkumavku.
INHIBITION_BY_CT	Neplatná	Definované maximum rozsahu C_T mezi C_T pro interní kontrolu daného vzorku a C_T pro interní kontrolu NTC bylo překročeno.
INHIBITION_BY_FLUORESCENCE	Neplatná	Byl překročen definovaný maximální rozdíl fluorescence mezi fluorescencí vnitřní kontroly NTC a fluorescencí vnitřní kontroly daného vzorku pro poslední cyklus.
LOW_FLUORESCENCE_CHANGE	Varování	<p>Procentuální změna fluorescence je pro tento vzorek vůči zkumavce se vzorkem s největší změnou fluorescence nižší, než je definovaný limit.</p> <p>Poznámka: Pokud bude platný vzorek označen tímto příznakem, schvalovatel musí věnovat zvláštní pozornost faktu označenému tímto příznakem předtím, než se rozhodne výsledek zamítnout či přijmout.</p>

Příznak	Chování	Popis
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	Neplatná	Křivka amplifikace překračuje prahovou hodnotu více než jedenkrát. Nelze určit jednoznačnou hodnotu C_T .
NO_CT_DETECTED	Neplatná	Pro tento cíl není určena žádná C_T .
NORM_FACTOR_ALTERATION	Varování	Odchylka během normalizačního postupu. Amplifikační křivka je zobrazena s výchozí normalizací, správnost výsledků je zapotřebí zkontrolovat ručně.
OTHER_TARGET_INVALID	Neplatná	Další cíl pro stejný vzorek je neplatný.
SATURATION	Neplatná	Fluorescence nezpracovaných dat se silně saturuje před inflexním bodem amplifikační křivky.
SPIKE	Varování	Na amplifikační křivce byl detekován hrot u fluorescence nezpracovaných dat, ale mimo oblast, kde je stanovena C_T . Poznámka: Pokud bude platný vzorek označen tímto příznakem, schvalovatel musí věnovat zvláštní pozornost faktu označenému tímto příznakem předtím, než se rozhodne výsledek zamítnout či přijmout.
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Neplatná	Hrot byl detekován na amplifikační křivce v blízkosti C_T .
STEEP_BASELINE	Neplatná	Na amplifikační křivce je detekována strmě rostoucí výchozí hodnota pro fluorescenci nezpracovaných dat.
STRONG_BASELINE_DIP	Neplatná	Na amplifikační křivce je detekována strmě rostoucí výchozí hodnota pro fluorescenci nezpracovaných dat.
STRONG_NOISE	Neplatná	Mimo růstovou fázi amplifikační křivky byl detekován silný šum.

Příznak	Chování	Popis
STRONG_NOISE_ IN_GROWTH_PHASE	Neplatná	V růstové (exponenciální) fázi amplifikační křivky byl detekován silný šum.
UNEXPECTED_CT_DETECTED	Neplatná	Pro cíl, který se nesmí amplifikovat, byla detekována hodnota C _T .
UPSTREAM	Variable	Status vzorku byl nastaven na neplatný nebo nejasný procesem v předchozích krocích (např. nastavení analýzy QIASymphony). Poznámka: Pro „unclear“ (nejasné) příznaky z procesů v předchozích krocích je chování softwaru Rotor-Gene AssayManager definováno v prostředí „Configuration“ (Konfigurace). Pro „invalid“ (neplatné) příznaky z procesů v předchozích krocích software Rotor-Gene AssayManager vždy takové vzorce zneplatní.
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	Neplatná	Na amplifikační křivce je detekována vlnitá výchozí hodnota pro fluorescenci nezpracovaných dat.

Výsledky softwaru Rotor-Gene AssayManager potřebuje schválení/odmítnutí ze strany uživatele, jemuž je přidělena uživatelská role „Approver“. Další informace o schvalovacím procesu viz Uživatelská příručka základního zásuvného modulu *artus Rotor-Gene AssayManager (artus Basic Plug-in User Manual)*.

PCR v reálném čase používající software Rotor-Gene Q verze 2.1 nebo vyšší

Specifická nastavení pro sadu *artus* CT/NG QS-RGQ Kit

Specifická nastavení softwaru Rotor-Gene 2.1 jsou uvedena níže.

Reakční objem (µl)	25
Držet	Teplota zdržení: 95 stupňů Doba zdržení: 15 minut
Cyklování	45krát 95 stupňů po 11 s 60 stupňů po 20 s 72 stupňů po 20 s
Nastavení optimalizace automatického zesílení	60 stupňů (Vzorky: CT: Zelená, NG: Oranžová; IC: Žlutá)

Další informace viz list protokolu specifického pro software „Settings to run artus QS-RGQ Kits“ (Nastavení pro spuštění sad *artus* QS-RGQ) naleznete na adrese www.qiagen.com/products/artuscctngqsrqgkitce.

Interpretace výsledků používající software Rotor-Gene Q verze 2.1 nebo vyšší

Sadu *artus* CT/NG QS-RGQ lze spustit na přístroji Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM pomocí ruční analýzy se softwarem Rotor-Gene Q 2.1 nebo vyšší. Tato část popisuje interpretaci výsledků na Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. Prověřte také informace o stavu vzorku ze souborů s výsledky QIASymphony SP/AS k analýze úplného pracovního toku od vzorku k výsledku. Je nutné používat pouze vzorky s platným stavem.

Detekce signálu a závěry

Signál v kanálu Cycling Green	Signál v kanálu Cycling Orange ≤40 Cts	Signál v kanálu Cycling Orange >40 Cts	Signál v kanálu Cycling Yellow	Interpretace
Ano	Ne	Ne	Ano/Ne*	Platný výsledek: DNA CT detekována, DNA NG nedetekována
Ano	Ne	Ano	Ano/Ne*	Platný výsledek: DNA CT detekována, DNA NG nedetekována
Ne	Ano	Ne	Ano/Ne*	Platný výsledek: DNA CT nedetekována, DNA NG detekována
Ano	Ano	Ne	Ano/Ne*	Platný výsledek: Detekováno CT a NG DNA
Ne	Ne	Ano	Ano	Platný výsledek: nebyla detekována žádná CT nebo NG DNA†
Ne	Ne	Ne	Ano	Platný výsledek: nebyla detekována žádná CT nebo NG DNA†
Ne	Ne	Ano	Ne	Neplatný výsledek: Není možné učinit závěr‡
Ne	Ne	Ne	Ne	Neplatný výsledek: Není možné učinit závěr‡

* V tomto případě je detekce signálu v kanálu Cycling Yellow podružná, protože vysoké výchozí koncentrace CT DNA (pozitivní signál v kanálech Cycling Green a/nebo Cycling Orange) mohou vést k redukovanému až chybějícímu fluorescenčnímu signálu interní kontroly v kanálu Cycling Yellow (kompetice).

† Pokud je ovšem C_T hodnota interní kontroly negativního vzorku po více než 3 cykly vyšší než C_T hodnota interní kontroly beztemplátové kontroly ($C_{T \text{ IC Sample}} - C_{T \text{ IC NTC}} > 3$), měl by být tento vzorek považován za neplatný. Není možné učinit závěr.

‡ Informace ohledně zdrojů chyb a jejich řešení lze nalézt v „Troubleshooting guide“ (Průvodce odstraňováním závad) *artus CT/NG QS-RGQ Kit* Manuál (*artus CT/NG QS-RGQ Kit Handbook*).

Nastavení prahové hodnoty pro analýzu PCR

Th Doporučené nastavení prahové hodnoty pro analýzu *artus* CT/NG jsou uvedeny v následující tabulce.

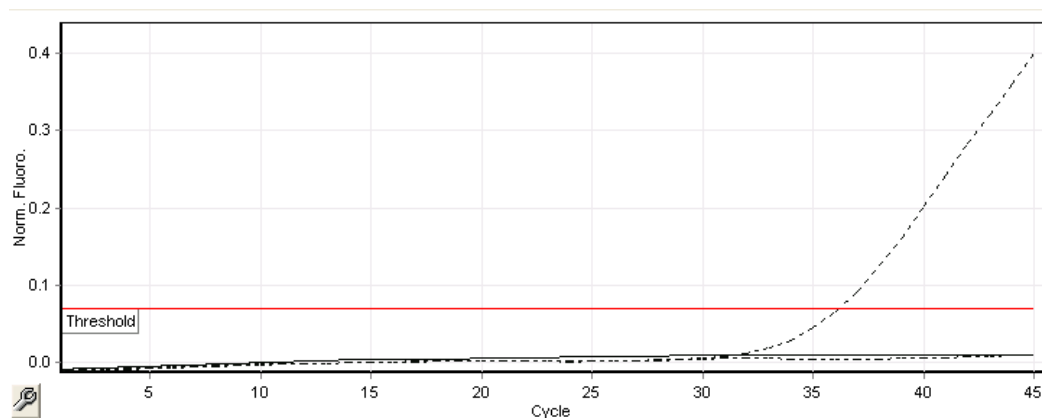
Doporučená nastavení prahových hodnot

Fluorescenční kanál	Nastavení prahové hodnoty
Cycling Green	0,07
Cycling Orange	0,10
Cycling Yellow	0,03

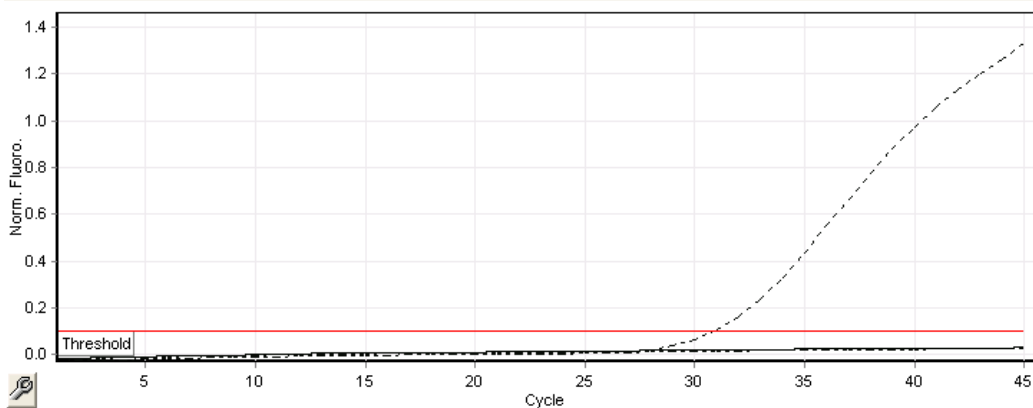
Příklady pozitivních a negativních reakcí PCR

Sada *artus* CT/NG QS-RGQ obsahuje 2 kontroly pro sledování extrakčního postupu a PCR: CT/NG Control CT+/NG- a CT/NG Control NG+/CT-. Tyto kontroly jsou vloženy do QIA Symphony SP/AS a zpracovávají jako jiné vzorky. Vnitřní kontrola (CT/NG RG IC) se přidává do vzorku během procesu izolace DNA a je přítomna ve všech vzorcích a NTC.

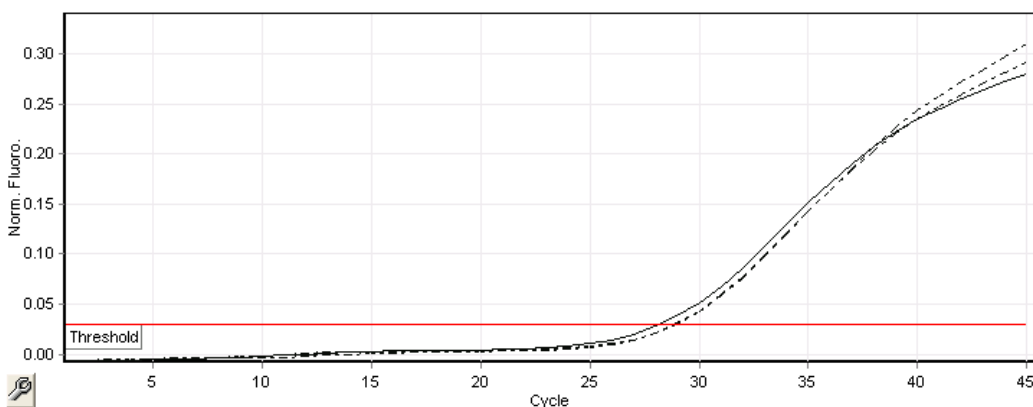
Kontroly se používají v procesu nastavení PCR a je třeba vyprodukovat specifické výsledky v PCR podobné výsledkům zobrazeným v následujících číslech.



Obrázek 1. Cycling Green: Pozitivní kontrola CT. Výsledky běhu s CT/NG Control CT+/NG-.



Obrázek 2. Cycling Orange: Pozitivní kontrola NG. Výsledky běhu s CT/NG Control NG+/CT–.



Obrázek 3. Cycling Yellow: interní kontrola. Výsledky běhu s CT/NG RG IC.

Očekávané hodnoty C_T pro kontroly v případě úspěšného a platného experimentu PCR jsou zobrazeny v následující tabulce.

Očekávané hodnoty C_T

Kontrola/vzorek	Rozsah C_T (minimum – maximum)		
	Cycling Green	Cycling Yellow	Cycling Orange
Kontrola CT+/NG–	28,99–37,94	$\leq 33,44$	–
Kontrola NG+/CT–	–	$\leq 33,44$	27,22–35,08
NTC	–	$\leq 33,44$	–
Vzorek pacienta	Jakákoliv	Hodnota $\leq C_T$ z NTC v aktuálním běhu + 5 C_T	Jakákoliv

Pokud jedna z kontrol nebo příslušný signál IC selže, běh musí být hodnocen jako neplatný.

Omezení

Studie byla provedena pro hodnocení chování sady *artus* CT/NG QS-RGQ se vzorky obsahujícími vysoké koncentrace CT nebo NG v přítomnosti jiného patogenu v nízkých počtech kopií. Výsledky se zobrazí v následující tabulce.

Chování sady *artus* CT/NG QS-RGQ s odlišnými koncentracemi cílové DNA

Patogen A	Patogen B	Míra zásahu patogenu B (%)
1,00 x 10 ⁶ cfu/ml <i>N. gonorrhoeae</i>	23 EB/ml <i>C. trachomatis</i>	100
1,00 x 10 ⁵ cp/ml <i>C. trachomatis</i>	58,5 cfu/ml <i>N. gonorrhoeae</i>	100

Poznámka: Nízké koncentrace „Patogenu B“ mohou vést k nižším mírám zásahu.

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro sadu QIAGEN nebo příručce uživatele. Příručky k soupravám QIAGEN a uživatelské příručky jsou k dispozici na stránkách www.qiagen.com nebo si je lze vyžádat od technických služeb společnosti QIAGEN nebo místního distributora.

Ochranné známky: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); BD™ (Becton, Dickinson and Company); eNaT™ (Copan Italia Spa).

Omezená licenční smlouva pro sadu *artus* CT/NG QS-RGQ

Používáním tohoto produktu vyjadřuje kterýkoliv kupující nebo uživatel produktu svůj souhlas s následujícími podmínkami:

1. Tento výrobek se může používat výhradně v souladu s protokoly poskytnutými s tímto výrobkem a touto příručkou a pro použití pouze s komponenty dodanými v soupravě. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou licenci svých duševních práv k používání nebo začlenění součástí, které jsou obsaženy v této soupravě, společně s kterýmikoliv součástmi, které nejsou v této soupravě obsaženy, s výjimkou případů popsaných v této příručce a dalších protokolech dostupných na stránkách www.qiagen.com. Některé z těchto doplňujících protokolů byly poskytnuty uživateli výrobků společnosti QIAGEN pro jiné uživatele výrobků QIAGEN. Tyto protokoly nebyly důkladně testovány ani optimalizovány společností QIAGEN. Společnost QIAGEN nezaručuje ani neposkytuje záruku na to, že neporušují práva třetích stran.
2. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou jinou záruku než výslovně stanovené licence v tom smyslu, že tato sada a/Nebo její použití nenarušuje práva třetích stran.
3. Tato sada a její komponenty jsou licencovány k jednorázovému použití a nesmí se používat opakovaně, přepracovávat ani opakovaně prodávat.
4. Společnost QIAGEN specificky odmítá jakékoliv další výslovné nebo nepřímé licence s výjimkou těch, které jsou uvedeny výslovně.
5. Kupující a uživatel této sady souhlasí s tím, že nepodnikne ani nikomu jinému neumožní podniknout žádné kroky, které by mohly vést k jakémukoli shora zakázané činnosti nebo ji usnadnit. Společnost QIAGEN může prosazovat zájazy tohoto ujednání o omezené licenci u kteréhokoliv soudu, a bude vyžadovat kompenzaci za veškeré náklady vynaložené na vyšetřování a soudní výlohy včetně poplatků za právní zástupce v případě jakéhokoliv soudního sporu s cílem prosadit toto ujednání o omezené licenci nebo kteréhokoliv ze svých práv k duševnímu vlastnictví v souvislosti se soupravou nebo jejími součástmi.

Pro aktualizovaná licenční ustanovení viz www.qiagen.com.

Koupě tohoto produktu opravňuje kupujícího k jeho užití k provedení diagnostických služeb pro humánní diagnostiku in vitro. Tímto není udělen žádný všeobecný patent ani jiná licence jakéhokoliv druhu, s výjimkou tohoto specifického práva k použití po koupi.

HB-1517-S02-003 07-2017

© 2017 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

