

Manual do kit *artus*[®] GBS QS-RGQ



Versão 1

IVD

Diagnóstico qualitativo in vitro

Para utilização com os instrumentos QIA Symphony[®] SP/AS e Rotor-Gene[®] Q



REF 4576366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANHA

Fabricado por **IMD** para a QIAGEN

R3 **MAT** 1078211PT



QIAGEN Sample and Assay Technologies

A QIAGEN é o principal fornecedor de tecnologias inovadoras de amostragem e ensaio, permitindo o isolamento e a detecção do conteúdo de qualquer amostra biológica. Os produtos e serviços avançados e de elevada qualidade da nossa empresa são garantia de sucesso, desde a amostra ao resultado.

A QIAGEN é uma empresa de referência em matéria de:

- Purificação de ADN, ARN e proteínas
- Ensaio de ácidos nucleicos e proteínas
- Investigação em microARN e ARNi
- Automatização de tecnologias de amostragem e ensaio

A nossa missão permitir-lhe-á alcançar o sucesso, bem como resultados notáveis. Para obter mais informações, visite www.qiagen.com.

Índice

Utilização prevista	4
Resumo e explicação	4
Informação sobre o agente patogénico	4
Princípio do procedimento	4
Materiais fornecidos	5
Conteúdo do kit	5
Materiais necessários, mas não fornecidos	5
Avisos e precauções	7
Informações de segurança	7
Precauções gerais	8
Armazenamento e manuseamento de reagentes	9
Manuseamento e armazenamento de amostras	9
Procedimento	11
Controlos	12
Preparação do ARN transportador (CARRIER) e controlo interno (controlo interno de GBS)	12
Conjuntos de controlo do ensaio e conjuntos de parâmetros de ensaio	14
Protocolos	
■ Isolamento do ADN e configuração do ensaio no QIA Symphony SP/AS	15
■ PCR no instrumento Rotor-Gene Q	30
Interpretação de resultados	34
Guia de resolução de problemas	40
Controlo da qualidade	45
Limitações	46
Características de desempenho	46
Referências	46
Símbolos	47
Informações de contacto	48
Informações para encomenda	49

Utilização prevista

O kit *artus* GBS QS-RGQ é um ensaio de amplificação de ADN de PCR em tempo real realizado nos instrumentos QIASymphony SP/AS e Rotor-Gene Q para a deteção direta qualitativa do estreptococos do grupo B (GBS) a partir de culturas enriquecidas de caldo Lim (em desenvolvimento durante 18-24 horas) obtidas de amostras de exsudado vaginal/retal de mulheres grávidas.

O kit *artus* GBS QS-RGQ destina-se a auxiliar na deteção da colonização de GBS em mulheres grávidas. São necessários isolados de cultura para a realização dos testes de suscetibilidade, tal como recomendado para as mulheres alérgicas à penicilina.

Resumo e explicação

O kit *artus* GBS QS-RGQ é um sistema pronto a usar para a deteção de ADN do estreptococos do grupo B através da reação em cadeia da polimerase (PCR) nos instrumentos Rotor-Gene Q, com preparação da amostra e configuração de ensaio utilizando os instrumentos QIASymphony SP e AS.

Informação sobre o agente patogénico

Os estreptococos do grupo B (GBS), incluindo o *Streptococcus agalactiae*, são cocos Gram-positivos, beta-hemolíticos, formadores de corrente, e constituem a principal causa de sepsia e meningite potencialmente fatais em recém-nascidos, levando a uma elevada taxa de morbilidade e mortalidade (1). Cerca de 25% das mulheres grávidas estão colonizadas com GBS e podem transmitir as bactérias aos bebés *in utero* ou durante o parto vaginal. As diretrizes dos Centers for Disease Control and Prevention (CDC - Centros de Controlo e Prevenção de Doenças) recomendam o despiste de mulheres grávidas durante as semanas 35-37 de gravidez, a fim de impedir a transmissão aos recém-nascidos (2). Ficou comprovado que os testes de amplificação de ácido nucleico são mais sensíveis do que os métodos de cultura tradicionais e podem ajudar a identificar uma população maior de mães colonizadas com GBS (3).

Princípio do procedimento

O GBS Master A e o GBS Master B contêm reagentes e enzimas para a amplificação específica de regiões alvo dentro do genoma GBS e para a deteção direta do amplicon específico no canal de fluorescência Cycling Green dos instrumentos Rotor-Gene Q.

Além disso, o kit *artus* GBS QS-RGQ contém um segundo sistema de controlo heterólogo para identificar possíveis falhas durante todo o processo do ensaio. Isto é detetado como controlo interno (IC) no canal de fluorescência Cycling Red dos instrumentos Rotor-Gene Q.

Materiais fornecidos

O conteúdo do kit *artus* GBS QS-RGQ é suficiente para 72 testes em um a três lotes de 24 reações no QIA Symphony RGQ. O rotor do instrumento Rotor Gene Q acondiciona até 72 tubos de ensaio.

Conteúdo do kit

<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit			(72)
N.º de catálogo			4576366
Número de reações			72
Azul	GBS Master A	MASTER A	3 x 330 µl
Violeta	GBS Master B	MASTER B	3 x 600 µl
Verde	GBS Internal Control (Controlo interno GBS)	IC	3 x 540 µl
Vermelho	GBS Positive Control (Controlo positivo GBS)	CONTROL +	3 x 330 µl
Branco	GBS Negative Control (Controlo negativo GBS)	CONTROL -	3 x 330 µl
<i>artus GBS QS-RGQ Kit Handbook</i> (Manual do kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ) (inglês)			1

Materiais necessários, mas não fornecidos

Ao trabalhar com produtos químicos, usar sempre equipamento de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (MSDS) adequadas, disponíveis junto do fornecedor do produto.

Adaptadores para o QIASymphony SP

- Suporte de microtubos de eluição QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, n.º cat. 9020730) em conjunto com a QIASymphony SP/AS Transfer Frame (Estrutura de transferência QIASymphony SP/AS).
- Introduzidor de tubos 3B (Insert, 2.0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, n.º cat. 9242083)

Consumíveis e reagentes para o QIASymphony SP

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (n.º cat. 937036)
- Buffer ATL (4 x 50 ml) (Tampão ATL) (n.º de cat. 939016)
- Sample Prep Cartridges, 8-well (Cartuchos de prep. da amostra, 8 poços) (n.º cat. 997002)
- 8-Rod Covers (Mangas de 8 barras) (n.º cat. 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (Pontas com filtro) (n.º cat. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (Pontas com filtro) (n.º cat. 990332)
- Elution Microtubes CL (Microtubos de eluição CL) (EMTR) (n.º cat. 19588)
- Tip disposal bags (Sacos para eliminação de pontas) (n.º cat. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H, without skirted base (Microtubos 2,0 ml Tipo H, sem base em saia) (n.º de cat. 72.693) ou Micro tubes 2.0 ml Type I, with skirted base (Microtubos 2,0 ml Tipo I, com base em saia) (Sarstedt®, n.º cat. 72.694, www.sarstedt.com) para usar com amostras e controlos internos
- Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Tubos de base redonda de 14 ml, 17 x 100 mm em poliestireno) (Corning®, n.º cat. 352051; BD™ era o antigo fornecedor deste tubo; Corning, Inc. é o novo fornecedor), para usar com controlos internos

Adaptadores e suportes de reagentes para o QIASymphony AS

- Suporte de reagente 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1), Qsym, n.º cat. 9018090)
- Tiras de tubos RG 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, n.º cat. 9018092)

Consumíveis para o QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (Tiras de tubos e tampas) (n.º cat. 981103)

- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (Tubos cónicos) (n.º cat. 997102)
- Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (Tubos cónicos) (n.º cat. 997104)
- Filter-Tips, 1500 µl (Pontas com filtro) (n.º cat. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (Pontas com filtro) (n.º cat. 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (Pontas com filtro) (n.º cat. 997120)
- Tip disposal bags (Sacos para eliminação de pontas) (n.º cat. 9013395)

Equipamento geral de laboratório

- Pipetas (ajustáveis)* e pontas de pipetas estéreis com filtros
- Misturador vórtex*
- Centrífuga de bancada* com rotor para tubos de ensaio de 2 ml

Equipamento para preparação de amostras e configuração de ensaios

- QIASymphony SP (n.º cat. 9001297),* versão de software 4.0 ou superior
- QIASymphony AS (n.º cat. 9001301),* versão de software 4.0 ou superior

Equipamento para PCR

- Instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*†
- Rotor-Gene AssayManager® versão 1.0 ou superior

Avisos e precauções

Para utilização em diagnóstico in vitro

Informações de segurança

Ao trabalhar com produtos químicos, usar sempre equipamento de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (MSDSs) adequadas. Estas estão disponíveis online no formato PDF, prático e compacto, no endereço

* Assegurar que os instrumentos foram verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

† Se aplicável, instrumento Rotor-Gene Q 5plex HRM com uma data de fabrico de janeiro de 2010 ou posterior. A data de fabrico pode ser obtida a partir do número de série que se encontra na parte posterior do instrumento. O número de série encontra-se no formato "mmaannn" em que "mm" indica o mês de fabrico em dígitos, "aa" indica os últimos dois dígitos do ano de fabrico e "nnn" indica o identificador exclusivo do instrumento.

www.qiagen.com/safety, onde poderá encontrar, visualizar e imprimir as MSDSs para cada kit QIAGEN® e respetivos componentes.

Para informações de segurança sobre o kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini, consultar as Instruções de Utilização do Kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen (Manual) (*QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit Instructions for Use (Handbook)*) fornecidas com este kit. Para informações de segurança relativas aos instrumentos, consultar o Manual do Utilizador do QIASymphony SP/AS – Descrição Geral (*QIASymphony SP/AS User Manual – General Description*), o Manual do Utilizador do QIASymphony SP/AS – Operação do QIASymphony SP (*QIASymphony SP/AS User Manual – Operating the QIASymphony SP*), o Manual do Utilizador do QIASymphony SP/AS – Operação do QIASymphony AS (*QIASymphony SP/AS User Manual – Operating the QIASymphony AS*), o Manual do Utilizador da QIASymphony Management Console (*QIASymphony Management Console User Manual*), o Manual do Utilizador da Rotor-Gene AssayManager Core Application (*Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual*), o Manual do Utilizador de *artus* Basic Plug-in (*artus Basic Plug-in User Manual*) e o manual do utilizador fornecido com o instrumento Rotor-Gene Q.

Eliminar as amostras e os resíduos do ensaio de acordo com os regulamentos de segurança locais.

As seguintes advertências de precaução e de perigo aplicam-se aos componentes do kit *artus* GBS QS-RGQ:

GBS Positive Control



Contém: mistura de 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona e 2-metil-2H-isotiazole-3-ona (3:1). Aviso! Pode provocar uma reacção alérgica na pele. Usar luvas protecção/ vestuário de protecção/óculos de protecção/máscara de protecção.

Precauções gerais

Tenha sempre em atenção as seguintes recomendações:

- Utilizar pontas de pipetas estéreis com filtros.
- Durante as etapas manuais, sempre que possível, manter os tubos fechados e evitar contaminação.
- Descongelar completamente todos os componentes à temperatura ambiente (15-25 °C) antes de dar início a um ensaio.

- Assim que estiverem descongelados, misturar os componentes (pipetando repetidamente para cima e para baixo ou aplicando impulsos no vórtex) e centrifugar brevemente. Assegurar que não há espuma ou bolhas nos tubos de reagentes.
- Não misture componentes dos kits com números de lotes diferentes.
- Seguir as precauções universais. Todas as amostras dos doentes devem ser consideradas potencialmente infecciosas e manuseadas em conformidade.
- Assegurar que os adaptadores necessários são pré-arrefecidos para 2-8 °C.
- Trabalhar com rapidez e manter os reagentes da PCR em gelo ou no bloco de arrefecimento antes de proceder ao respetivo carregamento.
- Avançar continuamente entre etapas do procedimento. Não exceder em mais de 30 minutos o tempo de transferência entre o QIA Symphony AS e o instrumento Rotor-Gene Q.
- Assegurar que a manutenção foi efetuada e que as peças substituíveis (por exemplo, proteções das pontas) foram reinstaladas.
- Verifique se os ficheiros do processo de aplicação e o plug-in do Rotor-Gene AssayManager necessário estão instalados.

Armazenamento e manuseamento de reagentes

Os componentes do kit *artus* GBS QS-RGQ devem ser armazenados entre -30 °C e -10 °C e são estáveis até ao prazo de validade impresso no rótulo. Deve evitar-se repetir o processo de descongelamento e congelamento (>3 vezes), uma vez que pode reduzir o desempenho do ensaio. Todos os reagentes que são colocados no QIA Symphony AS destinam-se a ser utilizados apenas durante essa corrida. Não retirar os componentes residuais para os utilizar numa segunda PCR.

Manuseamento e armazenamento de amostras

As informações acerca do manuseamento e armazenamento de amostras de caldo LIM são facultadas na Tabela 1.



Todas as amostras têm de ser tratadas como material potencialmente infeccioso.

Tabela 1. Manuseamento, armazenamento e preparação de amostras de caldo LIM

Colheita de amostras	É colhido um exsudado vaginal/retal e transportado para o laboratório através de sistemas de transporte de exsudado bacteriano contendo um meio de transporte não nutritivo (p. ex., Amies ou Stuart). No laboratório, o exsudado é removido do meio de transporte e colocado no caldo Lim seletivo (caldo Todd-Hewitt complementado com colistina [10 µg/ml] e ácido nalidíxico [15 µg/ml]). Depois da incubação da cultura de caldo Lim inoculada durante 18-24 horas a 35 °C ±2 °C à temperatura ambiente ou 5% de CO ₂ , é processada uma alíquota do caldo com o kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ.
Transporte de amostras	Transporte à prova de estilhaços Envio no prazo de 24 horas após a colheita Envio por correio de acordo com as instruções legais para o transporte de material patogénico* As amostras devem ser enviadas refrigeradas (2 a 8 °C)
Armazenamento de amostras (incluindo o tempo necessário para o transporte)	2-8 °C durante até 7 dias -30 °C a -10 °C durante até 30 dias
Preparação da amostra	Colocar 350 µl de caldo de cultura Lim pós-incubação dentro de um microtubo Sarstedt de 2,0 ml e carregar no QIASymphony SP

*International Air Transport Association (IATA, Associação Internacional de Transporte Aéreo). Dangerous Goods Regulations (Regulamentos para Mercadorias Perigosas).

Procedimento

Tabela 2. Informações gerais

Kit	<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit, REF 4576366
Material para amostra	Culturas enriquecidas de caldo Lim (em desenvolvimento durante 18-24 horas a 35 °C ±2 °C) obtidas de amostras de exsudado vaginal/retal de mulheres grávidas.
Purificação avançada	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (n.º cat. 937036)
Volume da amostra (incluindo volume excedente)	350 µl
Conjunto de parâmetros de ensaio	<i>artus_GBS_broth200_V1</i>
Conjunto de controlo do ensaio predefinido	<i>Complex200_V6_DSP_artus_GBS</i>
Volume de eluição	60 µl
Versão de software necessária do QIASymphony	Versão 4.0 ou posterior
Perfil de configuração necessário para o QIASymphony SP/AS	Perfil predefinido 1
Volume de mistura padrão (Master)	25 µl
Volume modelo	15 µl
Número de reações	24-72* (incluindo todos os controlos a colocar no QIASymphony SP e no QIASymphony AS)
Tempo de corrida no QIASymphony SP/AS	Para 24 reações: aproximadamente 90 minutos Para 72 reações: aproximadamente 280 a 290 minutos
Tempo de corrida no instrumento Rotor-Gene Q	Aproximadamente 120 minutos

* Assegurar que o limite de 72 reações e 1 adaptador de suporte de ensaio não é excedido. Evitar um tempo de incubação alargado (>30 minutos) entre a conclusão da corrida de ensaio e a transferência para o instrumento Rotor-Gene Q.

Controlos

Controlo positivo

O controlo positivo GBS (fornecido com o kit *artus* GBS QS-RGQ) controla a eficiência da preparação da amostra e o ensaio a jusante. Este controlo positivo é colocado no QIASymphony SP antes da purificação do ADN (consultar mais detalhes sobre a colocação do controlo positivo no passo 7 na página 21).

Controlo negativo

O controlo negativo de GBS (fornecido com o kit *artus* GBS QS-RGQ) é colocado no QIASymphony SP antes da purificação de ADN no local de uma amostra do doente e ajuda a identificar a contaminação durante a preparação de amostras e/ou o ensaio a jusante (consultar mais detalhes sobre a colocação do controlo negativo no passo 7 na página 21).

Preparação do ARN transportador (CARRIER) e controlo interno (controlo interno de GBS)

A utilização conjunta dos kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen com o kit *artus* GBS QS-RGQ requer a introdução do controlo interno (controlo interno de GBS) no procedimento de purificação, composto por ADN de plasmídeo sintético numa solução tamponada, a fim de monitorizar a eficiência da preparação da amostra e o ensaio a jusante.

O controlo interno (controlo interno de GBS), fornecido com o kit *artus* GBS QS-RGQ, tem de ser adicionado com uma mistura de ARN transportador (CARRIER)-tampão AVE (AVE). O volume total da mistura de controlo interno-ARN transportador (CARRIER)-tampão AVE (AVE) é de 120 µl por amostra.

Para preparar a mistura ARN transportador (CARRIER)-tampão AVE (AVE), adicionar 1350 µl de tampão AVE (AVE), fornecido com o kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini, para ressuspender o ARN transportador (CARRIER) liofilizado. Inverter o tubo para misturar.

Para calcular o controlo interno (IC), deve utilizar-se o "IC Calculator" (calculador de IC) na QIASymphony Management Console (QMC, consola de gestão do QIASymphony).

A tabela 3 representa a adição do controlo interno à amostra numa proporção de 0,1 µl por cada 1 µl de volume de eluição. Recomendamos a preparação de misturas novas para cada corrida imediatamente antes de usar.

Tabela 3. Preparação do ARN transportador (CARRIER) e controlo interno (controlo interno de GBS)

Componente	n = número de amostras e controlos	
	n ≤ 13 Volume (µl) (tubos Sarstedt)*	n > 13 Volume (µl) (tubos BD™)†
ARN transportador de stock (CARRIER)	(n + 3) x 3	(n + 5) x 3
Controlo interno (controlo interno de GBS)	(n + 3) x 9	(n + 5) x 9
Tampão AVE (AVE)	(n + 3) x 108	(n + 5) x 108
Volume final por amostra (excluindo volume morto)	120	120
Volume total para n amostras	(n + 3) x 120	(n + 5) x 120

* Micro tubes 2.0 ml Type H (microtubos 2,0 ml tipo H) e Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubos 2,0 ml tipo I), Sarstedt, n.º cat. 72.693 e 72.694). Se estiver a preparar o controlo interno como solução-mãe num tubo maior, multiplicar o volume total de cada componente pelo número de tubos de controlo interno utilizados. É necessária uma mistura de controlo interno correspondente a 3 amostras adicionais (ou seja, 360 µl). Não encher mais de 1,92 ml de volume total (correspondente a um máximo de 13 amostras).

Se se utilizarem mais de 13 reações em microtubos de 2,0 ml, programar as reações num tubo maior e colocar em vários tubos. Assegurar que, para cada tubo, é adicionado o volume em excesso necessário de 3 reações adicionais.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Tubos de base redonda de 14 ml, 17 x 100 mm em poliestireno) (Corning, n.º cat. 352051; BD era o antigo fornecedor deste tubo; Corning, Inc. é o novo fornecedor). É necessária uma mistura de controlo interno correspondente a 5 amostras adicionais (ou seja, 600 µl). Não encher mais de 13,92 ml de volume total (correspondente a um máximo de 111 amostras).

Cálculo da mistura com o “IC Calculator”

1. Abrir o QMC.
2. Selecionar o ícone do calculador de IC.
3. Selecionar “Complex200_V6_DSP_artus_GBS” na lista pendente ACS.
4. Introduzir o número pretendido de amostras.
5. Selecionar o material de laboratório utilizado para o controlo interno.
6. Selecionar um volume de eluição de 60 µl.

7. Selecionar "Internal Control/Eluate" (Controlo interno/Eluato) e "0.1 µl" para o modo de controlo interno.
8. Premir "Calculate" (Calcular) para iniciar o cálculo da mistura de controlo interno.

O calculador de IC apresenta os diferentes volumes de reagentes a misturar para a mistura de controlo interno e o tipo de tubo a ser utilizado no lado direito do ecrã.

Conjuntos de controlo do ensaio e conjuntos de parâmetros de ensaio

Os conjuntos de controlo do ensaio são uma combinação de um protocolo com parâmetros adicionais, tais como o controlo interno, para purificação da amostra no QIASymphony SP. Um conjunto de controlo do ensaio predefinido é pré-instalado para cada protocolo.

Os conjuntos de parâmetros de ensaio são a combinação de uma definição de ensaio com parâmetros adicionais definidos, tais como modelos de replicação e número de padrões de ensaio, para configuração de ensaio no QIASymphony AS.

Para a corrida integrada no QIASymphony SP/AS, o conjunto de parâmetros de ensaio, `artus_GBS_broth200_V1`, é ligado diretamente ao conjunto de controlo do ensaio adiantado, `Complex200_V6_DSP_artus_GBS`, especificando o processo de purificação da amostra associado.

Protocolo: Isolamento do ADN e configuração do ensaio no QIASymphony SP/AS

Pontos importantes antes de iniciar o procedimento

- Assegurar que o utilizador está familiarizado com o modo de funcionamento dos instrumentos QIASymphony SP/AS. Consultar os manuais do utilizador fornecidos com os instrumentos e as versões mais atuais disponíveis online em www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx para as instruções de funcionamento.
- Transferir o pacote de aplicações de "Protocol Files" (Ficheiros do protocolo) no separador "Resources" (Recursos) da página do catálogo na internet do kit *artus* GBS QS-RGQ (www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE).
- Antes de utilizar um cartucho de reagente (RC) pela primeira vez, verificar se os tampões QSL2 e QSB1 no cartucho de reagente (RC) não contêm um precipitado. Se necessário, remover as cavidades que contêm os tampões QSL2 e QSB1 do cartucho de reagente (RC) e incubar, durante 30 minutos, a 37 °C, com agitação ocasional para dissolver o precipitado. Assegurar que as cavidades são novamente colocadas nas posições corretas. Se o cartucho de reagente (RC) já estiver perfurado, assegurar que as cavidades são seladas com tiras vedantes reutilizáveis e proceder à incubação do cartucho de reagente completo (RC), durante 30 minutos, a 37 °C com agitação ocasional em banho-maria.* Deixar que os reagentes arrefeçam até à temperatura ambiente (15-25 °C).
- Verificar se o tampão ATL (ATL) não contém um precipitado. Caso se tenha formado um precipitado, dissolver aquecendo o tampão a 70 °C com agitação lenta em banho-maria.* Aspirar as bolhas da superfície e deixar o tampão arrefecer até à temperatura ambiente (15-25 °C).
- Tentar evitar a agitação vigorosa do cartucho de reagente (RC) e do frasco de tampão ATL (ATL). Caso contrário poderá formar-se espuma, que pode levar a problemas de deteção do nível líquido.
- Trabalhar com rapidez e manter os reagentes da PCR em gelo ou no bloco de arrefecimento antes de proceder ao respetivo carregamento.
- Os volumes de reagentes estão otimizados para 3 lotes de 24 reações por kit por corrida.

* Assegurar que os instrumentos foram verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

- Assegurar que os eluatos da preparação da amostra e todos os componentes do kit *artus* GBS QS-RGQ permanecem no instrumento por não mais do que o tempo necessário para purificação da amostra e configuração de ensaio para 72 reações, incluindo até 30 minutos de tempo de transferência do QIASymphony AS para o instrumento Rotor-Gene Q.
- **Nota:** Não usar um suporte de microtubos de eluição CL que já tenha sido usado num instrumento QIASymphony SP diferente. Não introduzir um ID de suporte manualmente.

Passos a seguir antes de começar

- Antes de cada utilização, todos os reagentes no kit *artus* GBS QS-RGQ têm de ser completamente descongelados, misturados (por pipetagem repetida para cima e para baixo ou por ação rápida do vórtex) e centrifugados durante, pelo menos, 3 segundos. Evitar a formação de bolhas ou espuma nos reagentes.
- Preparar todas as misturas necessárias. Se necessário, preparar as misturas que contêm ARN transportador (CARRIER) e controlos internos imediatamente antes de iniciar o procedimento. Para obter mais informações, consultar “Preparação do ARN transportador (CARRIER) e controlo interno (controlo interno de GBS)” na página 12.
- Antes de iniciar uma corrida integrada, assegurar que todos os instrumentos estão limpos e que as peças substituíveis foram colocadas (por exemplo, proteções das pontas) conforme descrito nas instruções de manutenção no Manual do Utilizador do QIASymphony SP/AS – Descrição Geral (*QIASymphony SP/AS User Manual – General Description*), no Manual do Utilizador do QIASymphony SP/AS – Operação do QIASymphony SP (*QIASymphony SP/AS User Manual – Operating the QIASymphony SP*), no Manual do Utilizador do QIASymphony SP/AS – Operação do QIASymphony AS (*QIASymphony SP/AS User Manual – Operating the QIASymphony AS*) e no Manual do Utilizador da QIASymphony Management Console (*QIASymphony Management Console User Manual*) fornecidos. Assegurar que a manutenção é efetuada regularmente, de forma a minimizar o risco de contaminação cruzada.
- Assegurar que o perfil de processo do QIASymphony “Default Profile 1” (Perfil predefinido 1) está ativo. O perfil selecionado é apresentado no canto inferior direito do ecrã tátil. O perfil pode ser alterado no menu

“Configuration” (Configuração) do separador “Tools” (Ferramentas) por um utilizador que tenha iniciado a sessão como “Supervisor”.

Procedimento

Purificação bacteriana no QIASymphony SP

1. Fechar todas as bandejas e coberturas do módulo QIASymphony SP/AS.
2. Ligar o instrumento e aguardar até que o ecrã “Sample Preparation” (Preparação da amostra) apareça e o procedimento de inicialização esteja concluído.

○ interruptor de alimentação está localizado no canto inferior esquerdo do QIASymphony SP.

3. Iniciar a sessão no instrumento.
4. Preparar a bandeja “Waste” (Resíduos) do QIASymphony SP.

- Abrir a bandeja “Waste” (Resíduos).
- Esvaziar e instalar o frasco de resíduos líquidos. Assegurar que a tampa é retirada antes de colocar o frasco de resíduos líquidos na bandeja.
- Inserir o coletor de pontas.

Nota: É necessário utilizar diferentes coletores de pontas para a operação em bancada e do QIASymphony Cabinet SP/AS.

- Inserir a estação de armazenamento das pontas.
- Inserir caixas de unidades vazias (ver a tabela 4 e a figura 1). Assegurar que existe, pelo menos, uma caixa de unidades vazia na ranhura 4 (mais próxima do utilizador).
- Instalar o saco de resíduos de pontas vazio (sob a bandeja de resíduos para operação em bancada ou no recipiente de resíduos para operação do QIASymphony Cabinet SP/AS).
- Fechar a bandeja “Waste” (Resíduos) e realizar uma inventariação.

Tabela 4. Material plástico necessário para 1-3 lotes de amostras

	Um lote, 24 amostras	Dois lotes, 48 amostras	Três lotes, 72 amostras
Caixas de unidades vazias	2	3	4



Figura 1. Posição das caixas de unidades (1-4).

5. Carregar a bandeja "Eluate" (Eluato).

- Colocar o adaptador (Suporte de microtubos de eluição QS) na estrutura de transferência.
- Abrir a bandeja "Eluate" (Eluato).
- Colocar o conjunto de adaptador e estrutura de transferência na ranhura 1 da bandeja "Eluate" (Eluato).
- Selecionar "Elution Slot 1" (Ranhura de eluição 1) no ecrã tátil.
- Retirar a parte de baixo do suporte de Elution Microtubes CL (Microtubos de eluição CL) rodando o suporte até que a parte inferior saia.
- Efetuar a leitura do código de barras no suporte de Elution Microtubes CL (Microtubos de eluição CL) utilizando o leitor de códigos de barras portátil.
- Inserir o suporte no adaptador em "Elution Slot 1" (Ranhura de eluição 1).
- Retirar a tampa do suporte de Elution Microtubes CL (Microtubos de eluição CL).
- Fechar a bandeja "Eluate" (Eluato).
- Premir "OK".

- Aguardar o final da leitura.

6. Carregar a bandeja “Reagents and Consumables” (Reagentes e consumíveis) (Figura 2).

- Abrir a bandeja “Reagents and Consumables” (Reagentes e consumíveis).
- Pegar no cartucho de reagente (RC) e, antes de o utilizar pela primeira vez, verificar se os tampões QSL2 e QSB1 no cartucho não contêm um precipitado. Se os tampões QSL2 e QSB1 contiverem um precipitado, seguir as instruções na página 15.

Nota: Tentar evitar a agitação vigorosa do cartucho de reagente (RC), caso contrário poderá formar-se espuma que pode levar a problemas de deteção do nível líquido.

- Colocar o cartucho de reagente (RC) no suporte do cartucho de reagente cinzento.
- Assegurar que as partículas magnéticas estão completamente em suspensão. Agitar a cavidade que contém as partículas magnéticas vigorosamente no vórtex durante, pelo menos, 3 minutos antes de utilizar. Voltar a colocar a cavidade que contém as partículas magnéticas no cartucho de reagente (RC).
- Antes de carregar o cartucho de reagente (RC), remover a cobertura da cavidade que contém as partículas magnéticas.
- Abrir os tubos de enzimas. Colocar as tampas dos tubos de enzimas nos suportes das tampas no suporte do cartucho de reagente cinzento.

Nota: Se os tubos de enzimas contiverem bolhas de ar, aspirar as bolhas da superfície.

- Montar o suporte de enzimas (ER) no cartucho de reagente (RC).
- Montar a cobertura perfurável (PL) no cartucho de reagente (RC) e encaixar cuidadosamente no local.
- Colocar o(s) cartucho(s) de reagente(s) (RC) na posição RC 1 e/ou RC 2. É suficiente um novo cartucho de reagente (RC) para até 96 amostras.
- Premir o botão “R+C” no ecrã tátil.
- Premir o botão “Bottle ID” (ID do frasco).
- Premir o campo de texto e efetuar a leitura do código de barras no frasco de tampão ATL (ATL) utilizando o leitor de códigos de barras portátil.

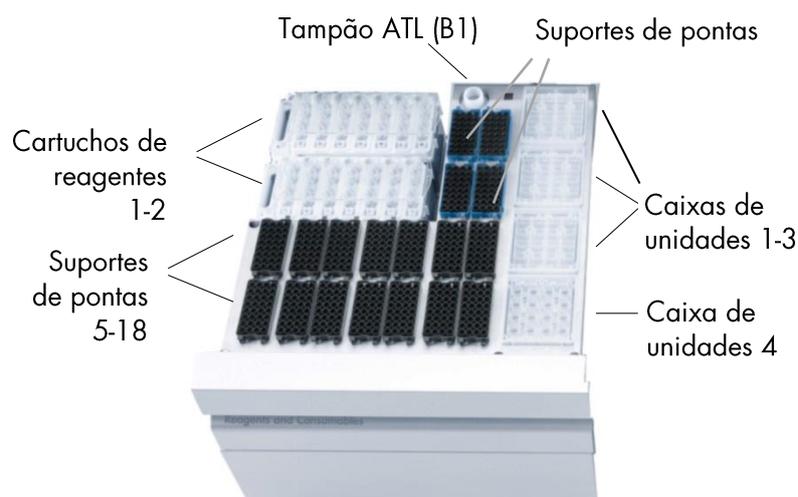


Figura 2. Posição dos reagentes e consumíveis no QIASymphony SP.

- Abrir o frasco de tampão ATL (ATL) e assegurar que não contém um precipitado. Se o tampão ATL (ATL) contiver precipitado, seguir as instruções na página 15.
- Colocar o frasco de tampão ATL (ATL) na posição B1, que se encontra ao lado da ranhura 1 do cartucho de reagente (RC 1).

Nota: Evitar agitar vigorosamente o frasco de tampão para não criar espuma. Isso pode provocar problemas de detecção do nível do líquido.

- Carregar suportes suficientes de pontas com filtro descartáveis de 200 µl nas posições 1-4 do alojamento do suporte de pontas (ver a tabela 5, página 21).
- Carregar suportes suficientes de pontas com filtro descartáveis de 1500 µl nas posições 5-18 do alojamento do suporte de pontas (ver a tabela 5, página 21).
- Assegurar que todos os suportes ficam encaixados.

Nota: Recomendamos o carregamento de mais do que o número necessário de pontas com filtro de cada tamanho, de modo a existirem disponíveis pontas com filtro suficientes para o tratamento automático de erros.

- Retirar a tampa das caixas de unidades para cartuchos de preparação da amostra e carregar cartuchos de preparação da amostra suficientes nas posições 1-3 do suporte da caixa de unidades (ver a tabela 5, página 21).
- Retirar a tampa da caixa de unidades para mangas de 8 barras e carregar a caixa de unidades com mangas de 8 barras suficientes na

posição 4 do suporte da caixa de unidades (ver a tabela 5, página 21).

Nota: Os consumíveis de plástico poderão deslocar-se durante o transporte ou armazenamento. Assegurar que todos os plásticos estão corretamente alinhados dentro da caixa de unidades antes de a colocar no QIASymphony SP.

- Premir “OK” no ecrã de consumíveis.
- Fechar a bandeja “Reagents and Consumables” (Reagentes e consumíveis) e realizar uma inventariação.

Tabela 5. Material plástico necessário para 1-3 lotes de amostras

	Um lote, 24 amostras*	Dois lotes, 48 amostras*	Três lotes, 72 amostras*
Pontas com filtro descartáveis, 200 µl†‡	34 (1 suporte)	60 (2 suportes)	86 (3 suportes)
Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl†‡	123 (4 suportes)	205 (7 suportes)	295 (10 suportes)
Cartuchos de preparação de amostras	18	36	54
Mangas de 8 barras	3	6	9

* A realização de mais do que uma inventariação requer pontas com filtro descartáveis adicionais.

† Estão disponíveis 32 suportes de pontas/pontas com filtro, 28 cartuchos de preparação de amostras/caixa de unidades e doze mangas de 8 barras/caixa de unidades

‡ O número de pontas com filtro necessárias inclui pontas com filtro para uma inventariação por cartucho de reagente.

7. Carregar a bandeja “Sample” (Amostra) (porta-tubos) com os controlos positivo e negativo.

- Colocar o tubo com o controlo positivo GBS (fornecido com o kit *artus* GBS QS-RGQ) na posição 1 do primeiro transportador de amostra (utilizar o introdutor de tubos 3B para microtubos de 2 ml).

- Colocar o tubo com o controlo negativo GBS (fornecido com o kit *artus* GBS QS-RGQ) na posição 2 do primeiro transportador de amostra (utilizar o introdutor de tubos 3B para microtubos de 2 ml).

Nota: Assegurar que os controlos positivos e negativos são carregados na posição correta. O Rotor-Gene AssayManager não irá importar o ficheiro de resultados se os controlos positivo e negativo forem colocados em qualquer outra posição. Não carregar controlos em transportadores adicionais para o mesmo lote AS.

Nota: A posição das amostras e dos controlos no suporte do ensaio pode ser visualizada antes do início da corrida. Depois da criação do lote AS (passo 11, página 24), pressionar o botão da bandeja "Assays" (Ensaio) no ecrã tátil e selecionar a respetiva ranhura "Assay" (Ensaio). O tipo de amostra de cada posição é visualizado ("Type" (Tipo)) se for pressionado o botão de báscula "Sample" (Amostra).

8. Carregar a bandeja "Sample" (porta-tubos) com as amostras.

- Carregar as amostras preparadas (ver a página 10) em microtubos de 2 ml no porta-tubos da amostra que já contém os controlos (utilizar o introdutor de tubos 3B para microtubos de 2 ml).
- Se necessário, preparar mais porta-tubos de amostra do mesmo modo. Não acrescentar mais controlos aos porta-tubos de amostra a combinar no mesmo lote AS (ver passo 11).

Nota: Caso as amostras tenham códigos de barras, orientar as amostras no porta-tubos, de forma a que os códigos de barras fiquem totalmente visíveis.

- Assegurar que a amostra e os tubos de controlo são carregados corretamente e encaixados.
- Inserir todos os transportadores de amostras nas ranhuras 1-4 da bandeja "Sample" (Amostra). A luz LED muda para laranja se estiverem carregados corretamente.

Nota: Carregar primeiro o porta-tubos de amostra com os controlos e as amostras na ranhura 1. Não carregar mais de 72 amostras e controlos numa corrida.

9. Utilizando a configuração "Integrated run" (Ensaio integrado) no ecrã tátil do QIA Symphony, introduzir as informações necessárias para cada lote de amostras a ser processado.

- Premir o separador "Integrated Run" (Corrida integrada) no ecrã tátil.
- Premir "Define run" (Definir corrida).

- Selecionar "SP Batch 1" (SP lote 1) (ou o número de lote adequado do transportador de amostra com "Full Process Controls" (Controlos de processo total), se estiver a fazer um carregamento contínuo).
- Premir "Edit samples" (Editar amostras).
- Assegurar que é atribuído o material de laboratório correto às amostras. Se necessário, corrigir a atribuição de material de laboratório.
- Premir "ID/Type" (ID/Tipo).
- Selecionar a primeira posição e premir "Sample ID" (ID da amostra).
- Premir o campo de texto, introduzir o controlo positivo GBS e, de seguida, premir "OK".
- Selecionar a primeira posição e premir "EC+".
- Selecionar a segunda posição e premir "Sample ID" (ID da amostra).
- Premir o campo de texto, introduzir o controlo negativo GBS e, de seguida, premir "OK".
- Selecionar a segunda posição e premir "EC-".
- Se necessário, solucionar quaisquer erros de código de barras para a amostra e inserir IDs.
- Premir "OK".

Nota: Não atribuir o tipo de amostra "EC+" ou "EC-" a outros tubos para além dos de controlo positivo e negativo fornecidos com o kit *artus* GBS QS-RGQ. O Rotor-Gene AssayManager irá rejeitar ensaios com padrões de controlo incorretos. Se também se estiverem a processar amostras anteriormente caracterizadas em conjunto com as amostras de teste, assegurar que se atribui o "sample type" (tipo de amostra) "sample" (amostra) a estas amostras.

10. Definir o(s) ensaio(s) a serem processados.

- Premir o botão "SP Batch" (Lote SP) correspondente.
- Premir "Define assays" (Definir ensaios).
- Selecionar as amostras a processar com o ensaio.
- Selecionar o ensaio "artus_GBS_broth200_V1" na categoria "artus QS-RGQ".
- Premir "OK".

- Repetir o passo 10 para todos os lotes e amostras a serem processadas.

11. Definir o lote QIASymphony AS.

- Selecionar todos os lotes que devem ser processados numa corrida integrada do QIASymphony RGQ.
- Premir "Create AS batch" (Criar lote AS).

Nota: Todos os lotes do QIASymphony SP atribuídos ao mesmo lote QIASymphony AS (corrida do QIASymphony RGQ integrada) serão processados no mesmo procedimento de configuração de ensaio.

- Premir "OK" para colocar a corrida em fila de espera.

12. Carregar a bandeja "Sample" (Amostra) com a mistura de controlo interno.

- Colocar o(s) tubo(s) anteriormente preparado(s) da mistura de controlo interno (ver a página 12) no transportador de amostras (utilizar o introdutor de tubos 3B para microtubos de 2 ml).
- Inserir o transportador de amostras na ranhura A da bandeja "Sample" (Amostra).

Nota: Para determinados níveis de líquido em tubos de 14 ml sem rótulo (ver "Consumíveis e reagentes para o QIASymphony SP"), podem ocorrer erros de leitura devido ao facto de líquido e tubo serem claros. Para evitar isto, colocar um rótulo em branco no tubo ou marcar a área do tubo virada para o leitor do código de barras com um marcador permanente.

13. Definir as posições do controlo interno.

- Premir o botão "Define ICs" (Definir ICs).
- Selecionar as posições da mistura de controlo interno.
- Selecionar o controlo interno correspondente "Complex200_V6_DSP_artus_GBS" na pasta "Required" (Necessário).
- Assegurar que é atribuído o material de laboratório correto. Se não for, atribuir o material de laboratório correto premindo "IC Tubes" (Tubos IC).
- Premir "OK".
- Verificar o separador "R+C" para ter a certeza de que todos os reagentes e consumíveis necessários foram carregados.

14. Iniciar o ensaio.

- Para iniciar a corrida premir o botão "Run" (Corrida).
- Ler e confirmar a mensagem que aparece.

- Recomenda-se que o utilizador aguarde ao lado do instrumento até que o mesmo tenha procedido à deteção do nível de líquido dos tubos de controlo interno (o estado do transportador QIASymphony SP muda para “running” (Em execução)).

Nota: Não colocar em pausa nem parar a corrida durante o processamento (a não ser que ocorra uma situação de emergência), pois isto dará origem a que as respetivas amostras e reações do ensaio sejam marcadas como “unclear” (Impreciso). O Rotor-Gene AssayManager irá invalidar reações do ensaio marcadas como “unclear” (Impreciso).

Nota: É possível carregar continuamente amostras e adicioná-las a esta corrida (até os reagentes serem carregados) ou a uma nova corrida do QIASymphony RGQ.

Carregar as bandejas do QIASymphony AS para configuração do ensaio

15. Instalar um saco de resíduos de pontas vazio e coletores de pontas.

- Instalar um saco de resíduos de pontas vazio para operação em bancada ou no recipiente de resíduos para operação do QIASymphony SP/AS Cabinet.
- Abrir a bandeja “Eluate and Reagents” (Eluato e reagentes) e a bandeja “Assays” (Ensaaios) do QIASymphony AS.
- Abrir a cobertura e inserir o coletor de pontas no interior do instrumento.

Nota: É necessário utilizar diferentes coletores de pontas para a operação em bancada e do QIASymphony Cabinet SP/AS.

- Fechar a tampa e ler a mensagem de confirmação.

16. Carregar a bandeja “Assays” (Ensaaios) com o suporte de ensaio.

- Premir a ranhura 5 “Assay” (Ensaio) (amarela).
- Encher o número necessário de tiras de tubos (4 tubos = 1 segmento) num adaptador de arrefecimento Rotor-Gene Strip Tubes 72 QS pré-arrefecido, conforme indicado no ecrã tátil.

Nota: Carregar tiras de tubos completas. Não partir as tiras de tubos.

- Carregar o adaptador com tiras de tubos na ranhura 5 da bandeja “Assays” (Ensaaios).
- Premir “Rack ID” (ID do suporte) no ecrã tátil, introduzir uma ID do suporte definida pelo utilizador e premir “OK”.

Nota: Também é possível utilizar a função de ID automática.

- Premir "Load" (Carregar).

17. Carregar a bandeja "Assays" (Ensaio) e "Eluate and Reagents" (Eluato e reagentes) com pontas com filtro.

- Carregar, pelo menos, o número de pontas com filtro indicado no ecrã "Assay Setup | Loading Information" (Configuração do ensaio | Informação de carregamento).

Nota: Começar a carregar os suportes de pontas a partir das posições de trás (próximo dos adaptadores de arrefecimento). Em casos raros, a cabeça de pipetagem poderá não conseguir chegar a algumas posições na direção da cobertura e isto poderá fazer com que o instrumento fique automaticamente em pausa. Recomendamos o carregamento de mais do que o número necessário de pontas com filtro de cada tamanho, de modo a existirem disponíveis pontas com filtro suficientes para o tratamento automático de erros.

18. Carregar a bandeja "Eluate and Reagents" (Eluato e reagentes) com reagentes.

- Antes de cada utilização, todos os reagentes do ensaio têm de ser completamente descongelados, misturados e centrifugados durante, pelo menos, 3 segundos. Evitar a formação de bolhas ou espuma nos reagentes (ver o procedimento descrito em "Pontos importantes antes de iniciar o procedimento", página 15).
- Premir a ranhura 3 "Reagent" (Reagente) (amarela) no ecrã tátil.
- Preparar um suporte de reagente pré-aquecido conforme solicitado no ecrã tátil.
- Selecionar as posições dos tubos no ecrã tátil, carregar um tubo vazio para a mistura padrão e encher, pelo menos, o volume necessário dos reagentes corretos nos tubos necessários nas posições correspondentes, conforme indicado no ecrã tátil.

Nota: O ensaio GBS não foi concebido para menos de 24 reações por corrida. Se o número de reações na corrida for inferior a 24, tem de ser colocado um tubo cheio de GBS Master A e GBS Master B no QIASymphony AS, mesmo que o QIASymphony AS mostre um volume de carregamento específico para a corrida inferior aos volumes do GBS Master A e do GBS Master B nos tubos fornecidos com o kit.

Nota: Poderá ser necessário combinar os mesmos tipos de reagente (GBS Master A ou GBS Master B) num tubo se o volume necessário exceder o volume de enchimento dos reagentes correspondentes. Cada tubo de GBS

Master A ou GBS Master B é suficiente para 24 eluatos QIASymphony SP (incluindo controlos).

Nota: Os reagentes viscosos podem ser difíceis de manusear com pipetas manuais. Assegurar que a totalidade do volume de GBS Master A e GBS Master B é transferida para os respetivos tubos.

Nota: Como alternativa, selecionar "List View" (Visualização em lista) no ecrã tátil e preparar o adaptador de reagente em conformidade. Um "Loading Information File" (Ficheiro de informação de carregamento) também pode ser transferido através do QMC ou porta USB (e impresso) depois de o lote de QIASymphony AS ser definido e colocado em fila de espera.

- Premir o botão "Scan Kit Barcode" (Ler código de barras do kit) no ecrã tátil e premir a linha do código de barras azul clara.
- Premir o campo de texto e efetuar a leitura do código de barras do kit na parte superior do kit *artus* GBS QS-RGQ utilizando o leitor de códigos de barras portátil.

Nota: Se o código de barras do kit não for lido neste passo, o Rotor-Gene AssayManager rejeita o ficheiro de resultado do QIASymphony AS durante a importação.

- Carregar o adaptador de reagente preparado na ranhura 3 da bandeja "Eluate and Reagents" (Eluato e reagentes).
- Premir o botão "Load" (Carregar).
- Fechar ambas as bandejas.
- Premir "Scan" (Ler) para aceder ao diálogo de leitura.
- Premir "Scan" (Ler) para efetuar uma inventariação de todos os componentes do QIASymphony AS.

Nota: Recomenda-se que o utilizador aguarde ao lado do instrumento até a leitura estar concluída.

- A configuração do ensaio irá iniciar-se automaticamente assim que terminar a preparação da amostra no QIASymphony SP.

19. Verificar o tempo para o final do lote do QIASymphony AS para retirar o suporte de ensaio.

- Assim que a leitura do QIASymphony AS terminar, o tempo de corrida integrada calculado é apresentado no ecrã "Integrated Run Overview" (Perspetiva geral da corrida integrada). O tempo máximo permitido desde o final da corrida do QIASymphony AS até ao início do instrumento Rotor-Gene Q é de 30 minutos. Assegurar que o suporte de ensaio é transferido para o instrumento Rotor-Gene Q no prazo de 30 minutos após o final da corrida de ensaio.

Remoção do suporte de ensaio e transferência do ficheiro de resultados

20. Remover o lote do QIASymphony AS e o suporte de ensaio

- Abrir as bandejas "Assays" (Ensaaios) e "Eluate and Reagents" (Eluato e reagentes).
- Retirar o adaptador com as tiras de tubos e tapar os tubos com as tampas adequadas.
- Premir a ranhura 5 "Assay" (Ensaio).
- Premir o botão "Remove" (Remover).
- Remover o adaptador de reagente e eliminar os reagentes conforme os regulamentos de segurança locais.
- Premir a ranhura 3 "Reagent" (Reagente).
- Premir o botão "Remove" (Remover).
- Fechar as bandejas "Assays" (Ensaaios) e "Eluate and Reagents" (Eluato e reagentes).
- Premir "Scan" (Ler) para aceder ao diálogo de leitura.
- Premir "Scan" (Ler) para efetuar uma inventariação dos adaptadores à esquerda e à direita (normalmente pré-selecionados).
- Premir o botão "Integrated Batch" (Lote integrado) (verde) para remover a corrida integrada.
- Ler e confirmar a mensagem.
- O ficheiro de resultados finais do QIASymphony AS é criado e pode ser transferido para uma pen USB ou para uma pasta definida (\log\Results\AS) através do QMC.

21. Transferir o ficheiro de resultados para uma pasta definida. Para transferir o ficheiro de resultados utilizando a pen USB, seguir o passo 21a. Para transferir o ficheiro de resultados utilizando o QMC, seguir o passo 21b.

21a. Transferir o ficheiro de resultados utilizando a pen USB.

- Inserir a pen USB.
- Selecionar "Tools" (Ferramentas).
- Selecionar "File Transfer" (Transferência de ficheiros).
- Selecionar "Result Files" (Ficheiros de resultados) na coluna "Save to USB Stick" (Guardar na pen USB).
- Premir o botão "Transfer" (Transferir).
- Ler e confirmar a mensagem.
- Após uma transferência com êxito, premir "OK" e remover a pen USB.
- Prosseguir para "Protocolo: PCR no instrumento Rotor-Gene Q", página 30.

21b. Transferir o ficheiro de resultados utilizando o QMC.

- Iniciar sessão no QIASymphony SP/AS correto.
- Selecionar o ícone de transferência do ficheiro.
- Selecionar o formato de ficheiro "Result File AS" (Ficheiro de resultados AS).
- Selecionar o ficheiro de resultados com o carimbo de data/hora correto e ID do lote na lista de ficheiros "Remote Site" (Local remoto) (coluna da direita).
- Transferir o ficheiro de resultados para o "Local Site" (Local próximo) (o ficheiro é guardado no caminho definido em "Tools" (Ferramentas), "Options" (Opções), "File Transfer" (Transferência de ficheiros) sob \log\Results\AS).

Nota: Se vários lotes no QIASymphony AS estiverem configurados numa corrida integrada, verificar a capacidade restante do saco de resíduos de pontas vazio e recarregar as bandejas do QIASymphony AS iniciando no passo 14.

- Prosseguir para "Protocolo: PCR no instrumento Rotor-Gene Q", página 30.

Nota: Recomenda-se que as tampas da tira de tubos sejam marcadas para garantir um posicionamento correto e a utilização de uma estrutura de transferência arrefecida para evitar contaminação.

Protocolo: PCR no instrumento Rotor-Gene Q

Pontos importantes antes de iniciar o procedimento

- Familiarizar-se com o instrumento Rotor-Gene Q antes de dar início ao protocolo. Consultar o manual do utilizador do instrumento.
- O Rotor-Gene AssayManager permite uma interpretação automatizada dos resultados da PCR.
- O kit *artus* GBS QS-RGQ deve ser processado no instrumento Rotor-Gene Q utilizando interpretação automatizada dos resultados com o Rotor-Gene AssayManager. Os parâmetros de ciclo são bloqueados para a corrida.
- Transferir o pacote de aplicações de "Protocol Files" (Ficheiros do protocolo) no separador "Resources" (Recursos) da página do catálogo na internet do kit *artus* GBS QS-RGQ (www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE).
- Depois de instalar o plug-in e importar o perfil do ensaio (ver "Passos a seguir antes de começar" abaixo), o Rotor-Gene AssayManager pode utilizar as informações facultadas no ficheiro de resultados do QIASymphony AS para configurar uma corrida para a amplificação da PCR em tempo real e subsequente interpretação automatizada dos resultados.
- Para segurança do processo no sistema é necessário ativar as definições que se seguem para o modo fechado: "Material number required" (Número de material necessário), "Valid expiry date required" (Data de validade válida necessária) e "Lot number required" (Número de lote necessário). (Em "Configuration" (Configuração), "Settings" (Definições), "Global Settings" (Definições globais), "Work List" (Lista de trabalho)). A função de utilizador "Administrator" (Administrador) é necessária para aceder a "Configuration" (Configuração)).

Passos a seguir antes de começar

- Para a interpretação automatizada de resultados utilizando o kit *artus* GBS QS-RGQ com o Rotor-Gene AssayManager, é necessário instalar o plug-in *artus* Basic mais recente no seu Rotor-Gene AssayManager. Iniciar o processo de instalação clicando duas vezes em **ArtusBasic.Installation.msi** e seguindo as instruções de instalação. Para obter uma descrição detalhada, consultar "Installing Plug-ins" (Instalar plug-ins) (consultar o Manual do Utilizador da Rotor-Gene AssayManager Core Application fornecido (*Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual*)).

- Para usar o kit *artus* GBS QS-RGQ para amostras de caldo LIM, tem de ser importado o ficheiro **AP_artus_GBS_broth200_QS_V1_0_x.iap** para o Rotor-Gene AssayManager. Para importar o perfil do ensaio para o Rotor-Gene AssayManager, navegar para o "Configuration Environment" (Ambiente de configuração) e mudar para o separador "Assay Profile" (Perfil do ensaio). Clicar em "Import" (Importar) e seleccionar o ficheiro **AP_artus_GBS_broth200_QS_V1_0_x.iap** no diálogo do ficheiro aberto. Clicar em "Open" (Abrir) e o perfil do ensaio é carregado e adicionado à lista de perfis de ensaio disponíveis.

Nota: Não é possível importar a mesma versão do perfil de ensaio duas vezes.

Procedimento

1. Preparar o rotor e iniciar o ensaio no instrumento Rotor-Gene Q.

- Colocar um rotor de 72 poços no suporte do rotor.
- Encher o rotor com tiras de tubos. Assegurar que inicia na posição 1 e que as tiras de tubos são cheias na orientação correta.
- Utilizar tiras de tubos com tampas para encher todas as posições não utilizadas.
- Colocar o anel bloqueador.
- Carregar o instrumento Rotor-Gene Q com o rotor e o anel bloqueador.
- Se se utilizar uma pen USB para a transferência de dados direta do QIASymphony SP/AS, descompactar o ficheiro de resultados do QIASymphony AS. Os ficheiros de resultados são guardados em \log\Results\AS.

Nota: Na maior parte dos computadores, os ficheiros podem ser descompactados clicando com o botão direito do rato sobre o ficheiro e depois clicando em "Extract" (Extrair) no menu que abre. Os ficheiros têm de ser descompactados para poderem ser importados para o Rotor-Gene AssayManager.

- Iniciar o Rotor-Gene AssayManager.
- Iniciar sessão no modo fechado.
- Seleccionar o ambiente "Setup" (Configuração), se ainda não estiver pré-seleccionado.

- Importar o ficheiro de resultados do QIASymphony AS na parte inferior do ecrã. Selecionar a fonte "QIASymphony" como "Import type" (Tipo a importar).
- No diálogo "Select file" (Selecionar ficheiro), abrir o ficheiro de resultados QIASymphony AS correspondente e clicar em "Open" (Abrir).
- Ler e confirmar a mensagem.
- Depois de importar com êxito, selecionar a lista de trabalho correspondente na lista de gestão da lista de trabalho e clicar no botão "Apply" (Aplicar).
- Introduzir um nome experimental.
- Selecionar o ciclador a utilizar no diálogo "Cycler selection" (Seleção do ciclador).
- Verificar a fixação correta do anel bloqueador e confirmar no ecrã que o anel bloqueador está fixo.
- Fechar a tampa do instrumento Rotor-Gene Q.
- Clicar o botão "Start Run" (Iniciar corrida).

Nota: Se estiver a utilizar várias corridas no ciclador, mudar para o ambiente do ciclador correspondente para verificar o progresso da corrida.

- No final da corrida, clicar em "Finish run..." (Concluir corrida).
- Para utilizador com sessão iniciada na função de operador: Clicar em "Release" (Libertar).
- Para utilizadores com sessão iniciada na função de aprovador: Clicar "Release and go to approval" (Libertar e avançar para aprovação).

2. Libertar e relatar os resultados.

- Se já se tiver utilizado "Release" (Libertar) antes, selecionar o ambiente "Approval" (Aprovação).
- Premir "Apply filter" (Aplicar filtro) (ou selecionar antecipadamente as próprias opções de filtro).
- Selecionar experimentar.
- Clicar em "Start approval" (Iniciar aprovação).
- Aprovar os resultados de cada amostra de teste. Utilizar o botão "Accepted" (Aceite) para amostras de teste com cujos resultados analisados pelo Rotor-Gene AssayManager o utilizador concorda. Utilizar o botão "Rejected" (Rejeitado) se o resultado da amostra de

teste avaliada pelo Rotor-Gene AssayManager não for aceitável por qualquer motivo.

Nota: Um resultado automaticamente definido para "Invalid" (Inválido) pelo Rotor-Gene AssayManager já não pode ser convertido para um resultado válido, mesmo que o resultado seja rejeitado.

- Opcional: Introduzir comentários.
- Clicar em "Release /report data..." (Libertar/dados do relatório).
- Fechar um perfil de relatório e clicar em "OK". O relatório será gerado e armazenado automaticamente.

Nota: O utilizador precisa de direitos de aprovação para libertar um ensaio.

- Descarregar o instrumento Rotor-Gene Q e descartar as tiras de tubos de acordo com os regulamentos de segurança locais.

3. Efetuar a manutenção.

- Assim que todos os lotes do QIASymphony AS da corrida integrada QIASymphony SP/AS tiverem terminado, efetuar a manutenção regular conforme descrito no Manual do Utilizador do QIASymphony SP/AS – Descrição Geral (*QIASymphony SP/AS User Manual – General Description*).

Nota: Isto pode ser levado a cabo em qualquer altura antes do início da corrida integrada seguinte, de acordo com os regulamentos locais ou prioridades.

- Efetuar a manutenção preventiva diária, semanal e anual tal como descrito no Manual do Utilizador do QIASymphony SP/AS – Descrição Geral (*QIASymphony SP/AS User Manual – General Description*).

Interpretação de resultados

Esta secção descreve a interpretação de resultados no instrumento Rotor-Gene Q. Rever também a informação de estado da amostra dos ficheiros de resultados do QIASymphony SP/AS para análise do procedimento desde a amostra ao resultado. Apenas devem ser utilizadas amostras com um estado válido.

O perfil do ensaio do kit *artus* GBS QS-RGQ contém regras para analisar automaticamente amostras, controlo positivo/negativo e resultados da corrida.

Cada amostra e controlo apresenta um resultado independente para cada alvo: GBS e controlo interno. Cada resultado é relatado como "Signal detected" (Sinal detetado), "No signal" (Sem sinal) ou "INVALID" (INVÁLIDO).

Resultados do controlo positivo/negativo:

- Todos os alvos para o controlo positivo ("Positive Control") e o controlo negativo ("Negative Control") têm de ser válidos para confirmar que o estado do ensaio é de êxito e que os resultados do teste podem ser relatados. Se algum alvo do controlo positivo ou do controlo negativo for inválido, os resultados para todas as amostras no ensaio irão apresentar "INVALID" (INVÁLIDO). É necessário voltar a testar toda a corrida do ensaio.
- O controlo positivo terá de apresentar um resultado "Signal detected" (Sinal detetado) para GBS e controlo interno.
- O controlo negativo terá de apresentar um resultado "Signal detected" (Sinal detetado) para o controlo interno e "No signal" (Sem sinal) para os alvos específicos.

Resultados da amostra:

- Ver Tabela 6 para um resumo de interpretação de resultados.
- Uma amostra é considerada positiva para GBS se o alvo for detetado.
- O sinal do controlo interno tem de ser detetado em amostras em que não seja detetado o sinal GBS. Se o sinal do controlo interno não for detetado ou for "INVALID" (INVÁLIDO) nas amostras em que não seja detetado nenhum sinal GBS, todos os alvos para a amostra serão apresentados como "INVALID" (INVÁLIDO). É necessário voltar a efetuar o teste da amostra.
- O alvo do controlo interno pode ser apresentado como "No signal" (Sem sinal) ou "INVALID" (INVÁLIDO) em amostras em que o sinal GBS seja detetado. Nestes casos são apresentados todos os alvos para a amostra. Não é necessário repetir o teste

- **Nota:** Espera-se que, em algumas amostras GBS positivas, o PCR de controlo interno possa ser inibido devido à concorrência do GBS de amplificação, resultando num “No signal” (Sem sinal) ou “INVALID” (INVÁLIDO) para o controlo interno.
- Em algumas amostras, poderá ser apresentado um resultado com “INVALID” (INVÁLIDO). Nestes casos, recomenda-se que se volte a testar a amostra.
- Se o alvo GBS for apresentado como “INVALID” (INVÁLIDO) e o sinalizador indicar CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE (CT acima da amplitude aceite), esta amostra não precisa de ser novamente testada e é considerada “No signal” (Sem sinal) se o controlo interno for válido.

Tabela 6. Resumo de interpretação de resultados

GBS	Resultado alvo		Estado da amostra	GBS detetado na amostra
	Controlo interno			
Signal detected	Signal detected/ No signal/ INVALID		Válido	Sim
No signal	Signal detected		Válido	Não
No signal	No signal/INVALID		Inválido	Erro, testar novamente a amostra
INVALID*	Signal detected/ No signal/ INVALID		Válido ou inválido	Erro, testar novamente a amostra

*Se um alvo for apresentado como inválido e o sinalizador indicar CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE, esta amostra não precisa de ser novamente testada e é considerada “No signal” (Sem sinal) se o controlo interno for válido.

Esta análise automática poderá resultar nos sinalizadores correspondentes que se seguem.

Sinalizador	Comportamento	Descrição
ASSAY_INVALID	Inválido	Ensaio inválido, porque, pelo menos, um controlo externo é inválido.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Inválido	O valor C_T detetado é mais alto do que o corte C_T definido (ver acima).
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Inválido	O valor C_T detetado é mais baixo do que o corte C_T definido.
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Inválido	A curva de amplificação dos dados brutos demonstra um formato que se desvia do comportamento estabelecido para este ensaio. Há uma elevada probabilidade de resultados errados ou interpretação errada de resultados.
FLAT_BUMP	Inválido	A curva de amplificação apresenta uma forma semelhante a um alto plano, que se desvia do comportamento estabelecido para este ensaio. Há uma elevada probabilidade de resultados errados ou interpretação errada de resultados (determinação errada do valor C_T).
IC_INVALID	Inválido	O controlo interno é inválido. O alvo e o controlo interno partilham o mesmo tubo.

Sinalizador	Comportamento	Descrição
IC_NO_SIGNAL	Inválido	Nenhum sinal detetado para o controlo interno. O alvo e o controlo interno partilham o mesmo tubo.
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	Inválido	A curva de amplificação atravessa o limiar mais do que uma vez. Não é possível determinar um C_T inequívoco.
NO_CT_DETECTED	Inválido	Nenhum C_T detetado para este alvo.
NORM_FACTOR_ALTERATION	Aviso	Curva não normalizada corretamente devido a um sinal reduzido. Nota: Se uma amostra válida for sinalizada com este sinalizador, é solicitado ao aprovador para tomar atenção especial à informação facultada por este sinalizador antes de decidir aceitar ou rejeitar o resultado.
OTHER_TARGET_INVALID	Inválido	Um outro alvo para a mesma amostra é inválido.
SATURATION	Inválido	A fluorescência dos dados brutos está a saturar fortemente antes do ponto de inflexão da curva de amplificação.

Sinalizador	Comportamento	Descrição
SATURATION_IN_PLATEAU	Aviso	<p>A fluorescência dos dados brutos está a saturar na fase de planalto da curva de amplificação.</p> <p>Nota: Se uma amostra válida for sinalizada com este sinalizador, é solicitado ao aprovador para tomar atenção especial à informação facultada por este sinalizador antes de decidir aceitar ou rejeitar o resultado.</p>
SPIKE	Variável	Foi detetado um pico na fluorescência dos dados brutos na curva de amplificação, mas fora da região em que C_T é determinado.
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Inválido	Foi detetado um pico na curva de amplificação próximo de C_T .
STEEP_BASELINE	Inválido	É detetada uma subida acentuada da linha de base para a fluorescência dos dados brutos na curva de amplificação.
STRONG_BASELINE_DIP	Inválido	É detetada uma queda acentuada da linha de base para a fluorescência dos dados brutos na curva de amplificação.
STRONG_NOISE	Inválido	É detetado forte ruído fora da fase de crescimento (exponencial) da curva de amplificação.

Sinalizador	Comportamento	Descrição
STRONG_NOISE_ IN_GROWTH_PHASE	Inválido	É detetado um forte ruído na fase de crescimento (exponencial) da curva de amplificação.
UNCERTAIN	Inválido	Os resultados para a leitura automática de dados (AUDAS) estão a entrar em conflito com os resultados da análise principal. Não é possível uma avaliação da validade dos dados automática não ambígua.
UPSTREAM	Variável	<p>O estado da amostra foi definido para inválido ou impreciso por um processo a montante (por exemplo, configuração de ensaio QIASymphony).</p> <p>Nota: Para sinalizadores “unclear” (Impreciso) de processos a montante, o comportamento do Rotor-Gene AssayManager é definido no ambiente “Configuration” (Configuração).</p> <p>Para sinalizadores “invalid” (Inválido) de processos a montante, o Rotor-Gene AssayManager invalida sempre essas amostras.</p>
WAVY_BASE_ FLUORESCENCE	Inválido	É detetada uma linha de base ondulada para a fluorescência dos dados brutos na curva de amplificação.

Guia de resolução de problemas

Este guia de resolução de problemas pode ser útil para resolver qualquer problema que possa surgir. Para obter mais informações, consulte também a página de perguntas frequentes no nosso Centro de Suporte Técnico: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Os cientistas da Assistência Técnica da QIAGEN estão sempre prontos a responder a qualquer questão que possa ter sobre as informações e protocolos constantes deste manual ou sobre as tecnologias de amostragem e ensaio (para informações de contacto, consulte a contracapa do manual ou visite www.qiagen.com).

Comentários e sugestões

Manuseamento geral

Mensagem de erro visualizada no ecrã tátil

Se for visualizada uma mensagem de erro durante uma corrida integrada, consultar os manuais do utilizador que acompanham os instrumentos.

Precipitado na cavidade de reagente de cartucho aberto do kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen

- a) Evaporação do tampão
- A evaporação excessiva pode levar ao aumento da concentração salina ou à diminuição das concentrações de álcool em tampões. Eliminar o cartucho de reagente (RC). Assegurar que as cavidades do tampão de um cartucho de reagente (RC) parcialmente usado são vedadas com tiras vedantes reutilizáveis quando este não estiver a ser usado para purificação.

Comentários e sugestões

- b) Armazenamento do cartucho de reagente (RC)
- O armazenamento do cartucho de reagente (RC) a temperaturas inferiores a 15 °C pode conduzir à formação de precipitados. Se necessário, remover as cavidades que contêm os tampões QSL2 e QSB1 do cartucho de reagente (RC) e incubar em banho-maria* durante 30 minutos a 37 °C, com agitação ocasional para dissolver o precipitado. Assegurar que as cavidades são novamente colocadas nas posições corretas. Se o cartucho de reagente (RC) já estiver perfurado, assegurar que as cavidades são seladas com tiras vedantes reutilizáveis e proceder à incubação do cartucho de reagente (RC) completo em banho-maria* durante 30 minutos, a 37 °C, com agitação ocasional.

Baixo retorno de ácidos nucleicos

- a) As partículas magnéticas não foram completamente suspensas
- Antes de iniciar o procedimento, assegure-se de que as partículas magnéticas estão completamente ressuspensas. Agitar no vórtex durante, pelo menos, 3 minutos antes de usar.
- b) As amostras congeladas não foram devidamente misturadas após o descongelamento
- Descongelar as amostras congeladas com agitação ligeira para assegurar a correta homogeneização.
- c) ARN transportador (CARRIER) não adicionado
- Reconstituir o ARN transportador (CARRIER) em tampão AVE (AVE) e misturar com um volume adequado de tampão AVE (AVE) conforme se descreve em "Preparação do ARN transportador (CARRIER) e controlo interno (controlo interno de GBS)", página 12. Repetir o procedimento de purificação com novas amostras.

* Assegurar que os instrumentos foram objeto de verificação, manutenção e calibração regulares, de acordo com as recomendações do fabricante.

Comentários e sugestões

- d) Ácidos nucleicos degradados
As amostras foram armazenadas incorretamente ou sujeitas a demasiados ciclos de congelamento/descongelamento. Repetir o procedimento de purificação com novas amostras.
- e) Lise incompleta da amostra
Antes de usar, verificar se os tampões QSL2 e QSB1 não contêm precipitados. Se necessário, remover as cavidades que contêm os tampões QSL2 e QSB1 do cartucho de reagente (RC) e incubar durante 30 minutos, a 37 °C, com agitação ocasional para dissolver o precipitado. Se o cartucho de reagente (RC) já estiver perfurado, assegurar que as cavidades são novamente fechadas com tiras vedantes reutilizáveis e proceder à incubação do cartucho de reagente completo (RC), durante 30 minutos, a 37 °C, com agitação ocasional em banho-maria.*
- f) Entupimento da ponta da pipeta devido a material insolúvel
O material insolúvel não foi removido da amostra antes de iniciar o procedimento de purificação no QIA Symphony. Para remover o material insolúvel para aplicações bacterianas, centrifugar a amostra a 3000 x g durante 1 minuto e transferir o sobrenadante para um novo tubo de amostra.

* Assegurar que os instrumentos foram objeto de verificação, manutenção e calibração regulares, de acordo com as recomendações do fabricante.

O QIAasymphony AS detecta Master insuficiente

Não foi transferida a totalidade do Master para o tubo

Juntar o conteúdo de um número adequado de tubos de GBS Master A num único tubo antes de usar. Juntar o conteúdo de um número adequado de tubos de GBS Master B num único tubo antes de usar. Os reagentes viscosos podem ser difíceis de manusear com pipetas manuais. Assegurar que a totalidade do volume do Master é transferida para o tubo.

Para reagentes viscosos, recomendamos a aspiração de um volume adicional de 5% quando são utilizadas pipetas manuais (por exemplo, ajustar a pipeta para 840 µl para um volume de 800 µl).

Em alternativa, depois de distribuir lentamente o líquido e realizar a deflação na parede do tubo alvo, retirar a ponta do líquido, libertar o êmbolo da pipeta e aguardar mais 10 segundos. Sairá líquido residual da ponta e poderá ser eliminado, premindo o êmbolo da pipeta uma segunda vez. A utilização de pontas com grau de PCR designadas de "low retention" (baixa retenção) podem aperfeiçoar a recuperação de líquido.

Nenhum sinal com controlo positivo (controlo positivo GBS) para o alvo GBS

a) Configuração incorreta da PCR

Assegurar que a configuração do ensaio foi efetuada corretamente e que se utilizou o conjunto de parâmetros correto. Repetir a PCR, se necessário. Consultar "Conjuntos de controlo do ensaio e conjuntos de parâmetros de ensaio", pág 14.

Comentários e sugestões

- | | |
|--|--|
| b) As condições de armazenamento para um ou mais componentes do kit não cumprem as instruções fornecidas em "Armazenamento e manuseamento de reagentes" (página 9) | Verificar as condições de armazenamento e a data de validade (ver etiqueta do kit) dos reagentes e usar um novo kit, caso seja necessário. |
| c) O prazo de validade do kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ expirou | Verificar as condições de armazenamento e a data de validade (ver etiqueta do kit) dos reagentes e usar um novo kit, caso seja necessário. |

Sinal fraco ou ausente do controlo interno de uma amostra negativa sujeita a purificação usando o kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen para o alvo "Controlo interno" e ausência simultânea de um sinal para o GBS alvo

- | | |
|---|---|
| a) As condições da PCR não cumprem os requisitos do protocolo | Verificar as condições da PCR (ver acima) e repetir a PCR com as definições corrigidas, caso seja necessário. |
| b) A PCR foi inibida | Assegurar que se utiliza o método de isolamento validado (consultar "Protocolo: Isolamento do ADN e configuração do ensaio no QIASymphony SP/AS", na página 15) e seguir rigorosamente as instruções. |
| c) ADN foi perdido durante a extração | Um sinal ausente do controlo interno pode indicar perda de ADN durante a extração. Assegurar que se utiliza o método de isolamento validado (consultar "Protocolo: Isolamento do ADN e configuração do ensaio no QIASymphony SP/AS", na página 15) e seguir rigorosamente as instruções.

Consultar também "Baixo retorno de ácidos nucleicos" acima. |

Comentários e sugestões

- | | |
|--|--|
| d) As condições de armazenamento para um ou mais componentes do kit não cumprem as instruções fornecidas em "Armazenamento e manuseamento de reagentes" (página 9) | Verificar as condições de armazenamento e a data de validade (ver etiqueta do kit) dos reagentes e usar um novo kit, caso seja necessário. |
| e) O prazo de validade do kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ expirou | Verificar as condições de armazenamento e a data de validade (ver etiqueta do kit) dos reagentes e usar um novo kit, caso seja necessário. |

Sinais com controlos negativos para o alvo GBS da PCR analítica

- | | |
|--|---|
| a) Contaminação ocorrida durante a preparação da PCR | Repetir a PCR com novos reagentes nos replicados.

Se possível, fechar os tubos de PCR imediatamente depois de adicionar a amostra a ser testada.

Assegurar que o espaço de trabalho e os instrumentos são descontaminados regularmente. |
| b) Contaminação ocorrida durante a extração | Repetir a extração e a PCR da amostra a ser testada usando novos reagentes.

Assegurar que o espaço de trabalho e os instrumentos são descontaminados regularmente. |

Controlo da qualidade

De acordo com o Sistema de Gestão da Qualidade da QIAGEN, certificado pela norma ISO, todos os lotes do kit *artus* GBS QS-RGQ são testados face a especificações predeterminadas para garantir uma qualidade constante do produto.

Limitações

Todos os reagentes podem ser exclusivamente utilizados em diagnóstico in vitro.

O kit *artus* GBS QS-RGQ destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório com formação na utilização do QIA Symphony SP/AS, de instrumentos Rotor-Gene Q e do Rotor-Gene AssayManager.

O produto deve apenas ser utilizado por pessoal com formação específica em procedimentos de diagnóstico in vitro e devidamente instruído para o efeito. Quaisquer resultados de diagnóstico gerados têm de ser interpretados juntamente com outros resultados clínicos ou laboratoriais.

Para resultados de PCR óptimos, é necessário que as instruções do manual do utilizador sejam rigorosamente observadas.

Atenção aos prazos de validade impressos na caixa e nos rótulos de todos os componentes. Não utilizar componentes cujo prazo de validade tenha expirado.

Embora rara, a ocorrência de mutações nas regiões altamente conservadas do genoma bacteriano cobertas pelos iniciadores (primers) e/ou sonda do kit pode resultar em falha na deteção da presença da bactéria. A validade e o desempenho do ensaio são avaliados regularmente.

Características de desempenho

Ver www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE para as características de desempenho do kit *artus* GBS QS-RGQ.

Referências

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 (EUA). 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.

Símbolos

Os símbolos que se seguem podem aparecer na embalagem e no rótulo:



<N>

Contém reagentes suficientes para <N> reações



Prazo de validade



Dispositivo médico para diagnóstico in vitro



Número de catálogo



Número do lote



Número do material



Componentes



Contém



Número



Número do item de comércio mundial

Rn

R diz respeito à revisão do manual e n é o número de revisão



Limites de temperatura



Fabricante



Consultar as instruções de utilização



Atenção



Master A

MASTER B	Master B
IC	Controlo interno
CONTROL +	Controlo positivo
CONTROL -	Controlo negativo

Informações de contacto

Para obter assistência técnica e mais informações, consultar o nosso Centro de Suporte Técnico em www.qiagen.com/Support, ligar para 00800-22-44-6000 ou contactar um dos Departamentos da Assistência Técnica ou distribuidores locais da QIAGEN (consultar a contracapa do manual ou visitar www.qiagen.com).

Informações para encomenda

Produto	Índice	N.º de cat.
<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit (72)	Para 72 reações: 2 Masters, Positive Control, Internal control, Negative Control	4572366
Kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen		
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit	Para 192 preparações (200 µl cada): inclui 2 cartuchos de reagentes e suportes e acessórios de enzimas	937036
Instrumentos QIASymphony SP/AS		
QIASymphony SP	Módulo de prep. de amostras QIASymphony: inclui 1 ano de garantia em componentes e mão-de-obra	9001297
QIASymphony AS	Módulo de configuração de ensaio QIASymphony: inclui 1 ano de garantia em componentes e mão-de-obra	9001301
Rotor-Gene Q		
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Ciclador de PCR em tempo real e analisador de alta resolução de melting com 5 canais (verde, amarelo, laranja, vermelho, carmim) mais canal HRM, computador portátil, software, acessórios: inclui 1 ano de garantia em componentes e mão-de-obra, instalação e formação não incluídas	9002032
Rotor-Gene AssayManager — para testes de rotina com instrumentos Rotor-Gene Q e QIASymphony RGQ		
Rotor-Gene AssayManager	Software para testes de rotina em conjunto com os instrumentos Rotor-Gene Q e QIASymphony RGQ; software com uma licença para instalação num computador	9022737

Produto	Índice	N.º de cat.
Rotor-Gene AssayManager (10)	Software para testes de rotina em conjunto com os instrumentos Rotor-Gene Q e QIA Symphony RGQ; software com várias licenças para instalação em até 10 computadores	9022739

Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncia de responsabilidades específicas do produto, consultar o manual do utilizador ou o manual de instruções do kit QIAGEN respetivo. Os manuais do kit QIAGEN e do utilizador estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser pedidos à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

A aquisição deste produto permite ao comprador o seu uso para efetuar serviços de diagnóstico em processos de diagnóstico humano in vitro. Não é aqui concedida patente geral ou outra licença de qualquer tipo além deste direito de utilização específico a partir da compra.

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

O *artus* GBS QS-RGQ é um kit de diagnóstico com a marcação CE, de acordo com a Diretiva Europeia 98/79/CE para Diagnóstico In Vitro. Não disponível em todos os países.

Acordo de licença limitada para o kit *artus* GBS QS-RGQ

A utilização deste produto significa o acordo por parte de qualquer comprador ou utilizador do produto segundo os seguintes termos:

1. O produto só pode ser usado em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e este manual e apenas com os componentes contidos no kit. A QIAGEN não concede qualquer licença ao abrigo da sua propriedade intelectual para usar ou incorporar os componentes incluídos neste kit com qualquer componente não incluído neste kit, exceto conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, este manual e quaisquer protocolos adicionais disponíveis em www.qiagen.com. Alguns destes protocolos adicionais foram fornecidos por utilizadores QIAGEN para utilizadores QIAGEN. Estes protocolos não foram devidamente testados nem otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não garante nem fornece qualquer garantia de que os mesmos não infringam direitos de terceiros.
2. À exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este kit e/ou a sua utilização ou utilizações não infringam os direitos de terceiros.
3. Este kit e os seus componentes estão licenciados para uma única utilização e não podem ser reutilizados, renovados ou objeto de revenda.
4. A QIAGEN recusa especificamente qualquer outra licença, expressa ou implícita, à exceção das expressamente declaradas.
5. O comprador e utilizador do kit concorda em não tomar nem permitir que qualquer outro tome medidas que possam conduzir ou facilitar qualquer dos atos acima proibidos. A QIAGEN pode fazer cumprir as proibições deste Acordo de Licença Limitada em qualquer Tribunal e irá recuperar todos os seus custos legais e de investigação, incluindo honorários de advogados, em qualquer processo destinado a fazer cumprir este Acordo de Licença Limitada ou qualquer dos seus direitos de propriedade intelectual relativos ao kit e/ou seus componentes.

Para obter os termos de licença atualizados, visite www.qiagen.com.

© 2015 QIAGEN, todos os direitos reservados.

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

