

Folha de aplicação QIAasymphony[®] RGQ *artus*[®] CT/NG QS-RGQ Kit (tipo de amostra: urina estabilizada em eNaT[™], 400 µl)

Julho 2017

Gestão da versão

Este documento é designado de Folha de aplicação do kit *artus* CT/NG QS-RGQ para urina, versão 1, R3.



Verificar a disponibilidade de novas revisões de rotulagem eletrónica em www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgkitce antes da realização do teste.

Informações gerais

Kit	<i>artus</i> CT/NG QS-RGQ Kit, versão 1, REF 4569365
Material de amostras validado	Urina de indivíduos do sexo feminino e masculino estabilizada em eNaT
Purificação avançada	QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (n.º cat. 937055)
Volume da amostra (incluindo volume excedente)	500 µl
Conjunto de parâmetros de ensaio	<i>artus</i> _CT_NG 400_V1
Conjunto de controlo do ensaio predefinido	Complex400_V4_DSP <i>artus</i> CT_NG
Nome de controlo interno no módulo SP	Complex400_V4_DSP <i>artus</i> CT_NG
Volume de eluição	60 µl
Versão de software necessária	Versão 4.0 ou posterior
Volume de mistura padrão	10 µl
Volume modelo	15 µl
Número de reações	6-96
Tempo de corrida no módulo AS	Para 6 reações: cerca de 8 minutos Para 72 reações: cerca de 35 minutos

Materiais necessários, mas não fornecidos

Colheita da amostra	■	2 ml eNaT tubes (Tubos eNaT de 2 ml) (Copan, n.º cat. 606C, www.copaninnovation.com)
Kit de purificação	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (n.º cat. 937055)
Adaptadores para o QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym) (Suporte de microtubos de eluição QS (adaptador de arrefecimento, EMT, v2, Qsym, n.º cat. 9020730))
	■	Tube Insert 3B (Introdutor de tubos 3B) (Insert, 2,0ml v2, samplecarr. (Introdutor, 2,0 ml v2, transportador de amostra) (24), Qsym, n.º cat. 9242083)
Consumíveis para o QIASymphony SP	■	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 (Pontas com filtro), 1500 µl (n.º cat. 997024)
	■	Filter-Tips (Pontas com filtro), 200 µl (n.º cat. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (Microtubos de eluição CL) (n.º cat. 19588)
	■	Tip disposal bags (Sacos para eliminação de pontas) (n.º cat. 9013395)
	■	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) (Becton Dickinson, n.º cat. 352051) para controlos internos
Adaptadores e suportes de reagentes para o QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (Suporte de reagente 1 QS) (Cooling Adapter (Adaptador de arrefecimento), Reagent Holder 2 (Suporte de reagente 2), Qsym, n.º cat. 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (Suporte de reagente 2 QS) (Cooling Adapter (Adaptador de arrefecimento), Reagent Holder 2 (Suporte de reagente 2), Qsym, n.º cat. 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (Tiras de tubos RG 72 QS) (Cooling Adapter (Adaptador de arrefecimento), RG Strip Tubes 72 (Tiras de tubos RG 72), Qsym, n.º cat. 9018092)

Consumíveis para o
QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps (Tiras de tubos e tampas), 0,1 ml (n.º cat. 981103)
- Tubes, conical (Tubos cónicos), 2 ml, Qsym AS (n.º cat. 997102)
- Tubes, conical (Tubos, cónicos), 5 ml, Qsym AS (n.º cat. 997104)
- Elution Microtubes CL (Microtubos de eluição CL) (n.º cat. 19588)
- Filter-Tips (Pontas com filtro), 1500 µl (n.º cat. 997024)
- Filter-Tips (Pontas com filtro), 200 µl (n.º cat. 990332)
- Filter-Tips (Pontas com filtro), 50 µl (n.º cat. 997120)
- Tip disposal bags (Sacos para eliminação de pontas) (n.º cat. 9013395)

Para preparação de amostras
(eNaT)

- Buffer ATL, GPR (Tampão ATL, GPR) (n.º cat. 939016)

Manuseamento e armazenamento de amostras

Colheita da amostra	2 ml eNaT tubes (Tubos eNaT de 2 ml) (Copan, n.º cat. 606C, www.copaninnovation.com)
Transporte de amostras	Transporte à prova de estilhaços Envio no prazo de 6 horas após a colheita da amostra a 20 °C Envio por correio de acordo com as instruções legais para o transporte de material patogénico*
Preparação da amostra	Previna a formação de espuma nas amostras. As amostras devem ser estabilizadas à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de dar início ao ensaio.
Armazenamento de amostras	A curto prazo (até 7 dias a partir da chegada ao local de teste): 20 °C ou 4 °C em função das condições locais A longo prazo (até 2 semanas): 4°C Armazenamento mais prolongado: -20 °C

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

Procedimento

Preparação do ARN transportador e adição do controlo interno para as amostras

A utilização do kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen em conjunto com o kit *artus* CT/NG QS-RGQ requer a introdução de um controlo interno (CT/NG RG IC) no procedimento de purificação para monitorizar a eficiência da preparação da amostra e ensaios a jusante.

Os controlos internos devem ser adicionados com a mistura ARN transportador (CARRIER)-tampão AVE (AVE) e o volume total da mistura de controlo interno-ARN transportador (CARRIER)-tampão AVE (AVE) mantém-se em 120 µl.

A tabela representa a adição do controlo interno ao isolamento numa proporção de 0,1 µl por 1 µl de volume de eluição. Recomenda-se a preparação de misturas novas para cada ensaio, imediatamente antes de usar.

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

Componente	Volume (µl) (tubos SAR)*	Volume (µl) (tubos BD™)†
ARN transportador de stock (CARRIER)	3	3
Controlo interno‡	9	9
Tampão AVE	108	108
Volume final por amostra (excluindo volume morto)	120	120
Volume total para n amostras	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Microtubos 2,0 ml tipo I, com base em saia (Sarstedt, n.º cat. 72.694, www.sarstedt.com).

† Tubos de base redonda de 14 ml, 17 x 100 mm em poliestireno (Becton Dickinson, n.º cat. 352051).

‡ O cálculo da quantidade de controlo interno baseia-se nos volumes de eluição iniciais (90 µl). O volume morto adicional depende do tipo de tubo de amostra utilizado.

§ 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). Estes volumes são específicos para microtubos 2,0 ml tipo I, com base em saia (Sarstedt, n.º cat. 72.694, www.sarstedt.com).

¶ 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). Estes volumes são específicos para tubos de base redonda de 14 ml, 17 x 100 mm em poliestireno (Becton Dickinson, cat. n.º 352051)

Configuração do QIASymphony SP

Bandeja "Waste" (Resíduos)

Suporte de caixa de unidades 1-4	Caixas de unidades vazias
Suporte de saco de resíduos	Saco de resíduos vazio
Suporte do frasco de resíduos líquidos	Esvaziar e instalar o frasco de resíduos líquidos

Bandeja "Eluate" (Eluato)

Suporte de eluição	(Suporte EMT), usar ranhura 1, posição de arrefecimento
Volume de eluição*	Volume de eluição pré-selecionado: 60 µl Volume de eluição inicial: 90 µl

* O volume de eluição é pré-selecionado para o protocolo. Este é o volume acessível mínimo de eluato no tubo de eluição final. O volume inicial da solução de eluição é necessário para assegurar que o volume real de eluato é igual ao volume pré-selecionado.

Bandeja "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis)

Posição A1 e/ou A2	Carregue 1 cartucho de reagente (RC) para um máximo de 72 amostras ou 2 cartuchos de reagentes (RC) novos para um máximo de 144 amostras
Posição B1	Tampão ATL (ATL), ler o código de barras do frasco premindo o botão "Bottle ID" (ID do frasco) na bandeja "Reagent and Consumables"
Posições do suporte de pontas 1-17	Carregar suportes de pontas com filtro descartáveis suficientes, 200 µl e 1500 µl (ver página 7)
Suporte de caixa de unidades posição 1-4	Carregar caixas de unidades contendo cartuchos de preparação de amostras e mangas de 8 barras (ver página 7)

Bandeja "Sample" (Amostra)

Tipo de amostra	Meio de transporte eNaT
Volume da amostra (incluindo volume excedente)	500 µl
Tubos de amostras (primários)	Tubos eNaT de 2 ml (Copan, n.º cat. 606C, www.copaninnovation.com)*
Tubos de amostras (secundários)	Microtubos 2,0 ml tipo I, com base em saia (Sarstedt, n.º cat. 72.694 , www.sarstedt.com).
Introdutor	Introdutor de tubo 3B (n.º cat. 9242083)

* Retirar os exsudados dos tubos primários antes de os carregar no QIASymphony SP.

Material plástico necessário para 1-4 lotes de amostras

	Um lote, 24 amostras*	Dois lotes, 48 amostras*	Três lotes, 72 amostras*	Quatro lotes, 96 amostras*
Pontas com filtro descartáveis, 200 µl†‡	28	52	74	100
Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl†‡	93	178	263	348
Cartuchos de preparação de amostras§	18	36	54	72
Mangas de 8 barras¶	3	6	9	12

* Utilizar mais do que um tubo de controlo interno por lote e efetuar mais do que uma inventariação, requer pontas com filtro descartáveis adicionais.

† Estão disponíveis suportes de 32 pontas/pontas com filtros

‡ O número de pontas com filtro necessárias inclui pontas com filtro para 1 inventariação por cartucho de reagente.

§ Estão disponíveis 28 cartuchos de preparação de amostras/caixa de unidades.

¶ Estão disponíveis doze mangas de 8 barras/caixa de unidades.

Carregar amostras e controlos

Os 2 controlos (CT/NG Control CT+/NG- e CT/NG Control NG+/CT-) têm de estar localizados no início das amostras na entrada de amostras do QIASymphony. Ao preparar mais de 69 amostras, tem de haver mais 2 controlos (ver exemplo na tabela abaixo). Isto é importante porque uma corrida PCR contém 72 reações (69 amostras + 2 controlos nos módulos de preparação de amostras e 1 NTC no módulo de configuração de ensaio). Ao testar mais de 69 amostras, irá ser pipetada automaticamente uma segunda corrida PCR pelo módulo AS. Para garantir a validade desta corrida, tem de haver 2 controlos nas posições PCR 1 e 2. Por isso, é importante garantir a presença de 2 controlos para a preparação de amostras sempre no início da corrida Rotor-Gene Q. Ao testar mais de 45 amostras, recomendamos que se dividam em 2 lotes no módulo AS e, correspondentemente, em 2 corridas separadas no instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. Para mais informações, consultar as 2 tabelas abaixo. O NTC é processado pelo módulo AS, mas não pelo módulo SP.

Nota: Não recomendamos a alteração manual do número de modelos de replicação NTC. O Rotor-Gene AssayManager irá rejeitar a corrida em caso de alteração do número de modelos de replicação NTC.

Distribuição de amostras e controlos (exemplo para 96 reações)

	SP lote 1 Posições	SP lote 2 Posições	SP lote 3 Posições	SP lote 4 Posições
Controlos CT/NG	1: CT+/NG– 2: NG+/CT–	–	49: CT+/NG– 50: NG+/CT–	–
Amostras	3–24	25–48	51–72	73–96

Depois de cada conjunto de amostras (1–71 e 72–96), o módulo AS irá acrescentar uma amostra NTC (controlo sem modelo).

O fluxo de trabalho recomendado para 96 amostras (incluindo controlos) é mostrado na tabela abaixo. Neste exemplo, irão ser processadas 2 x 46 amostras (+ 2 controlos) em 2 lotes AS e 2 corridas PCR. A primeira corrida PCR, com 46 amostras, 2 controlos e 1 NTC termina enquanto os lotes SP 3 e 4 estiverem a ser processados.

Fluxo de trabalho recomendado para 96 amostras com a corrida integrada

	AS lote 1		AS lote 2	
	SP lote 1 Posições	SP lote 2 Posições	SP lote 3 Posições	SP lote 4 Posições
Controlos CT/NG	1: CT+/NG– 2: NG+/CT–	–	49: CT+/NG– 50: NG+/CT–	–
Amostras	3–24	25–48	51–72	73–96

Configuração do QIASymphony AS

Consumíveis

Durante a configuração, as posições apropriadas para cada consumível no módulo QIASymphony AS são indicadas no ecrã tátil do instrumento.

Consumíveis	Nome no ecrã tátil	Para uso com adaptador/suporte de reagente
Tiras de tubos e tampas, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *Tiras de tubos 0,1	Tiras de tubos RG 72 QS
Tubos, cónicos, 2 ml, Qsym AS (500) [†]	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [§]	Suporte de reagente 1 QS Suporte de reagente 2 QS

Tubo, cônico, 5 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§]	Suporte de reagente 1 QS Suporte de reagente 2 QS
Microtubos de eluição CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Suporte de microtubos de eluição QS

* Indica o material de laboratório que pode ser arrefecido com um adaptador de arrefecimento com código de barras.

[†] Para componentes da mistura padrão, mistura padrão preparada pelo sistema, standards de ensaio e controlos de ensaio.

[‡] Em alternativa, podem ser usados tubos, cónicos, 2 ml, Qsym AS (n.º cat. 997102).

[§] O sufixo "(m)" no ecrã tátil indica que os cálculos de nível do líquido para o respetivo tubo foram otimizados para os reagentes formando um menisco-côncavo.

Adaptadores e suportes de reagentes

Suporte/Suporte de reagentes	Nome	Número necessário*
Suporte de amostras	Suporte de microtubos de eluição QS	1
Suportes de reagentes	Suporte de reagente 1 QS	1
Suportes de ensaio	Tiras de tubos RG 72 QS	1

* Calculado para uma corrida de ensaio com 72 reações.

Pontas com filtro

Carregar a bandeja "Eluate and Reagents" (Eluato e reagentes) com suportes de pontas a começar pelas ranhuras de pontas 1, 2 e 3 e carregar depois a bandeja "Assays" (Ensaio) com suportes de pontas, nomeadamente as ranhuras de pontas 7, 8 e 9.

Consumível	Nome no ecrã tátil	Número mínimo para 24 reações	Número mínimo para 72 reações
Pontas com filtro, 1500 µl (1024)	1500 µl	2	2
Pontas com filtro, 200 µl (1024)	200 µl	6	6
Pontas com filtro, 50 µl (1024)	50 µl	24	72
Sacos de eliminação de pontas	–	1	1

Divisão de mistura padrão (Master)

Apesar de este kit estar otimizado para 2 x 48 reações, são possíveis várias combinações. Dado que os sistemas de pipetagem automatizados têm sempre uma determinada quantidade de volume morto, um tubo de reação de divisão 48 não contém 2 x 24 reações. Ver a tabela abaixo para uma perspetiva geral das combinações possíveis.

Componente(s)	Tubos de mistura padrão (Master)	Corridas PCR	Reações por corrida PCR*	Amostras de doentes	Controlos†
2 x 48 tubos de reação	2	2	49	2 x 46	2 x 3
1 x 48 tubos de reação	1	1	49	1 x 46	1 x 3
1 x 48 tubos de reação	1	2	17	2 x 14	2 x 3

* Calculado como amostras de n pacientes + 2 controlos CT/NG (CT+/NG- e NG+/CT-) + 1 NTC por corrida PCR.

† CT/NG Control CT+/NG-, CT/NG Control NG+/CT-, e NTC (acrescentado pelo módulo de configuração do ensaio).

PCR em tempo real no Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*

O kit *artus* CT/NG QS-RGQ pode ser executado no Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM com análise manual com o software Rotor-Gene Q 2.1 ou superior ou através de análise automática com o Rotor-Gene AssayManager®. As secções que se seguem descrevem as definições e a configuração com 2 pacotes de software diferentes.

Preparar o rotor para a corrida no instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM:

- 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 MDx 5plex HRM com o rotor e o anel bloqueador.

PCR em tempo real com o Rotor-Gene AssayManager

Para a análise automática com o kit *artus* CT/NG QS-RGQ com Rotor-Gene AssayManager, tem de estar instalado no Rotor-Gene AssayManager o plug-in *artus* Basic V1.0.3 (disponível para transferência em www.qiagen.com/shop/automated-solutions/accessories/rotor-gene-assaymanager).

Iniciar o processo de instalação clicando duas vezes no ficheiro *ArtusBasic.Installation.msi* e seguindo as instruções de instalação. Para obter uma descrição detalhada consultar "Installing Plug-ins" (Instalar plug-ins) no Manual do Utilizador da Aplicação Principal do Rotor-Gene AssayManager (*Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual*) fornecido.

* Caso de aplique, instrumento Rotor-Gene Q 5plex HRM com uma data de produção de janeiro de 2010 ou posterior. A data de produção pode ser obtida a partir do número de série na parte de trás do instrumento. O número de série está no formato "mmaannn", em que "mm" indica o mês da produção em dígitos, "aa" indica os dois últimos dígitos do ano de produção e "nnn" indica o identificador exclusivo do instrumento.

Para usar o perfil de ensaio *artus_CTNG_sample400_QS* (abreviado: *CTNG_a*) com o kit *artus CT/NG QS-RGQ*, o ficheiro *AP_artus_CTNG_sample400_QS_V2_0_0.iap* (disponível para descarregar em www.qiagen.com/products/artusctngqsrqakitce) tem de ser importado para o Rotor-Gene AssayManager.

Para importar o perfil de ensaio para o Rotor-Gene AssayManager:

1. Ir para "Configuration Environment" (Ambiente de configuração) e mudar para o separador "Assay Profile" (Perfil do ensaio).
2. Clicar em "Import" (Importar) e seleccionar o ficheiro *AP_artus_CTNG_sample400_QS_V2_0_0.iap* no diálogo do ficheiro aberto.
3. Clicar em "Open" (Abrir) e o perfil 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.

Iniciar uma corrida com o Rotor-Gene AssayManager

Depois de instalar o plug-in e importar o perfil do ensaio, 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 automática dos resultados.

Os ficheiros de resultados QIASymphony AS podem ser descarregados com uma pen USB ou com a consola de gestão do QIASymphony. Se o ficheiro de resultados QIASymphony AS for descarregado com a pen USB, é guardado em formato .zip na pasta x:\Log\results\AS.

Nota: Antes de importar o ficheiro de resultados QIASymphony AS, o ficheiro .zip tem de ser extraído. Se o ficheiro de resultados QIASymphony AS for transferido com a consola de gestão QIASymphony (QMC - QIASymphony Management Console), não é necessário este passo.

Para realizar uma corrida PCR:

1. Iniciar o Rotor-Gene AssayManager.
2. Mudar para o ambiente "Setup" (Configuração) e seleccionar 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". A lista de trabalho é, então, acrescentada à listagem de listas de trabalho disponíveis.
3. A corrida pode ser iniciada a partir da tabela "Available work lists" (Listas de trabalho disponíveis) clicando em "Apply" (Aplicar) na barra de botões na respetiva entrada da lista de trabalho (inserir nomes das listas de trabalho QS importadas).
4. Introduzir um nome experimental.
5. Seleccionar um ciclador e confirmar se o anel bloqueador está colocado.
6. Clicar no botão verde "Start run" (Iniciar corrida).

Concluir e iniciar uma corrida

Para ver o progresso da corrida, mudar para o ecrã correspondente do ciclador. Depois de terminada a corrida, clique em "Finish run" (Concluir corrida) para lançar o ciclador e aprovar a amostra no ambiente "Approval" (Aprovação).

7. Seleccionar o ambiente "Approval" (Aprovação).
8. Clicar em "Apply filter" (Aplicar filtro) (ou seleccionar antecipadamente as próprias opções de filtro).
9. Seleccionar experimentar.
10. Clicar em "Start approval" (Iniciar aprovação).
11. Aprovar os resultados de cada amostra de teste: Utilizar o botão "Accepted" (Aceites) para amostras de teste com cujos resultados analisados pelo Rotor-Gene AssayManager o utilizador concorda. Utilizar o botão "Rejected"

(Rejeitados) 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 num resultado válido, mesmo que o resultado seja rejeitado.

12. Clicar em "Release /report data..." (Lançar/dados do relatório...).

13. Escolher um perfil de relatório e clicar em "OK". O relatório será gerado e armazenado automaticamente.

Nota: O utilizador precisa de direitos de aprovação para aprovar uma corrida.

14. Descarregar o instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM e descartar as tiras de tubos de acordo com os regulamentos de segurança locais.

Interpretação dos resultados com o Rotor-Gene AssayManager

O *artus* CT/NG QS-RGQ AssayProfile para amostras de urina define automaticamente o limiar e contém todas as regras para interpretar automaticamente os resultados do teste. Com base nelas, o software irá avaliar a validade ou a invalidade das amostras e dos controlos. Esta análise automática poderá resultar nos sinalizadores correspondentes que se seguem.

IMPORTANTE: é aplicado um corte de 40 CT ao canal NG, que irá produzir um resultado "INVALID" com um sinalizador de "CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE". A instrução que se segue deve ser seguida cuidadosamente.

- Se NG for considerado inválido com o sinalizador "CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE", e o IC for detetado e for válido, a amostra pode ser tratada como uma **amostra NG-negativa válida**. Não é necessário efetuar qualquer repetição de teste.
- Se NG for considerado inválido com qualquer outro sinalizador, o teste da amostra terá de ser repetido.
- Se CT for considerado inválido com qualquer outro sinalizador, o teste da amostra terá de ser repetido.

Sinalizador	Comportamento	Descrição
ASSAY_INVALID	Inválido	O ensaio é 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. IMPORTANTE: se NG for considerado inválido com este sinalizador, a amostra pode ser tratada como uma amostra NG-negativa válida, desde que o IC seja válido.
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Inválido	O valor C_T detetado é mais baixo do que o corte C_T definido.

Sinalizador	Comportamento	Descrição
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).
FLUORESCENCE_TOO_LOW	Inválido	O sinal de fluorescência é inferior ao corte de fluorescência definido.
IC_INVALID	Inválido	O controlo interno é inválido. O alvo e o controlo interno partilham o mesmo tubo.
IC_NO_SIGNAL	Inválido	Nenhum sinal detetado para o controlo interno. O alvo e o controlo interno partilham o mesmo tubo.
INHIBITION_BY_CT	Inválido	O intervalo máximo definido C_T entre o C_T para o controlo interno dessa amostra e o C_T para o controlo interno do NTC foi excedido.
INHIBITION_BY_FLUORESCENCE	Inválido	A diferença de fluorescência máxima definida entre a fluorescência do controlo interno do NTC e a fluorescência do controlo interno dessa amostra para o último ciclo foi excedida.
LOW_FLUORESCENCE_CHANGE	Aviso	A mudança de fluorescência em percentagem para esta amostra em relação ao tubo de amostra com a mudança de fluorescência maior é inferior ao limite definido.

Nota: Se uma amostra válida for sinalizada com este sinalizador, pede-se ao aprovador que tome especial atenção ao facto descrito por este sinalizador antes de decidir aceitar ou rejeitar o resultado.

Sinalizador	Comportamento	Descrição
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	Desvio durante o processo de normalização. A curva de amplificação é visualizada com uma normalização predefinida; os resultados devem ser verificados manualmente quanto à sua correção.
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.
SPIKE	Aviso	Foi detetado um pico na fluorescência dos dados brutos na curva de amplificação, mas fora da região em que C_T é determinado. Nota: Se uma amostra válida for sinalizada com este sinalizador, pede-se ao aprovador que tome especial atenção ao facto descrito por este sinalizador antes de decidir aceitar ou rejeitar o resultado.
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.

Sinalizador	Comportamento	Descrição
STRONG_NOISE	Inválido	É detetado forte ruído fora da fase de crescimento da curva de amplificação.
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	Inválido	É detetado um forte ruído na fase de crescimento (exponencial) da curva de amplificação.
UNEXPECTED_CT_DETECTED	Inválido	É detetado um valor C _T para um alvo que não tem de ser amplificado.
UPSTREAM	Variável	<p>O estado da amostra foi definido para inválido ou impreciso por um processo a montante (por exemplo, configuração de ensaio QIAAsymphony).</p> <p>Nota: Para sinalizadores “unclear” (Impreciso) de processos a montante, o comportamento do Rotor-Gene AssayManager é definido no ambiente “Configuration”.</p> <p>Para sinalizadores “invalid” 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.

Os resultados do Rotor-Gene AssayManager precisam de aprovação/rejeição por parte de um utilizador com a função de aprovador (“Approver”). Para mais informações sobre o processo de aprovação, consultar o Manual do Utilizador de Basic Plug-in *artus* (*artus Basic Plug-in User Manual*) do Rotor-Gene AssayManager.

PCR em tempo real com o software Rotor-Gene Q 2.1 ou superior

Definições específicas para o kit *artus* CT/NG QS-RGQ

Com o software Rotor-Gene 2.1, as definições específicas são mostradas abaixo.

Volume de reação (µL)	25
Manter	Manter a temperatura: 95 graus Manter tempo: 15 min
Ciclos	45 vezes 95 graus durante 11 s 60 graus durante 20 s 72 graus durante 20 s
Configuração da otimização de ganho automático	60 graus (Amostras: CT: Verde, NG: Laranja; IC: Amarelo)

Para instruções mais detalhadas, consultar a folha de protocolo "Settings to run artus QS-RGQ Kits" (Definições de corrida dos kits artus QS-RGQ) em www.qiagen.com/products/artusctngqsrqkitce.

Interpretação dos resultados com o software Rotor-Gene Q 2.1 ou superior

O kit *artus* CT/NG QS-RGQ pode ser executado no Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM com análise manual com o software Rotor-Gene Q 2.1 ou superior. Esta secção descreve a interpretação de resultados no Rotor Gene Q MDx 5plex HRM. Rever também a informação de estado da amostra dos ficheiros de resultados do QIASymphony SP/AS para análise do fluxo de trabalho desde a amostra ao resultado. Apenas devem ser utilizadas amostras com um estado válido.

Deteção de sinal e conclusões

Sinal no canal Cycling Green	Sinal no canal Cycling Orange ≤40 Cts	Sinal no canal Cycling Orange >40 Cts	Sinal no canal Cycling Yellow	Interpretação
Sim	Não	Não	Sim/Não*	Resultado válido: ADN de CT detetado, ADN de NG não detetado
Sim	Não	Sim	Sim/Não*	Resultado válido: ADN de CT detetado, ADN de NG não detetado
Não	Sim	Não	Sim/Não*	Resultado válido: ADN de CT não detetado, ADN de NG detetado
Sim	Sim	Não	Sim/Não*	Resultado válido: ADNs de CT e NG detetados
Não	Não	Sim	Sim	Resultado válido: nenhum ADN de CT ou NG detetado†
Não	Não	Não	Sim	Resultado válido: nenhum ADN de CT ou NG detetado†
Não	Não	Sim	Não	Resultado inválido: Não pode inferir-se qualquer resultado‡
Não	Não	Não	Não	Resultado inválido: Não pode inferir-se qualquer resultado‡

* Neste caso, é dispensável a deteção de um sinal do canal Cycling Yellow, uma vez que concentrações iniciais elevadas de ADN de CT (sinal positivo no canal Cycling Green e/ou Cycling Orange) podem levar a um sinal de fluorescência reduzido ou ausente do controlo interno no canal Cycling Yellow (concorrência).

† Se o valor C_T para o controlo interno de uma amostra negativa for superior em mais de 5 ciclos ao valor C_T para o controlo interno do controlo sem modelo na corrida ($C_{T IC amostra} - C_{T IC NTC} > 5$), a amostra deve ser tratada como inibida. Não pode inferir-se qualquer resultado.

‡ Podem ser encontradas informações sobre as fontes de erro e respetiva solução no "Troubleshooting guide" (Guia para a resolução de problemas) do Manual do kit *artus CT/NG QS-RGQ* (*artus CT/NG QS-RGQ Kit Handbook*).

Configuração do limiar para a análise PCR

As definições de limiar recomendadas para o ensaio *artus* CT/NG estão indicadas na tabela abaixo.

Definições de limiar recomendadas

Canal de fluorescência	Definição do limiar
Cycling Green	0,07
Cycling Orange	0,10
Cycling Yellow	0,03

Exemplos de reações PCR positivas e negativas

O kit *artus* CT/NG QS-RGQ contém 2 controlos para monitorizar o procedimento de extração e a PCR: o CT/NG Control CT+/NG- e o CT/NG Control NG+/CT-. Estes controlos estão carregados no QIAAsymphony SP/AS e são tratados como outras amostras. O controlo interno (CT/NG RG IC) é acrescentado à amostra durante o processo de extração do ADN e está presente em todas as amostras e NTC.

Os controlos são usados no processo de configuração da PCR e devem produzir resultados específicos na PCR idênticos aos resultados mostrados nas figuras abaixo.

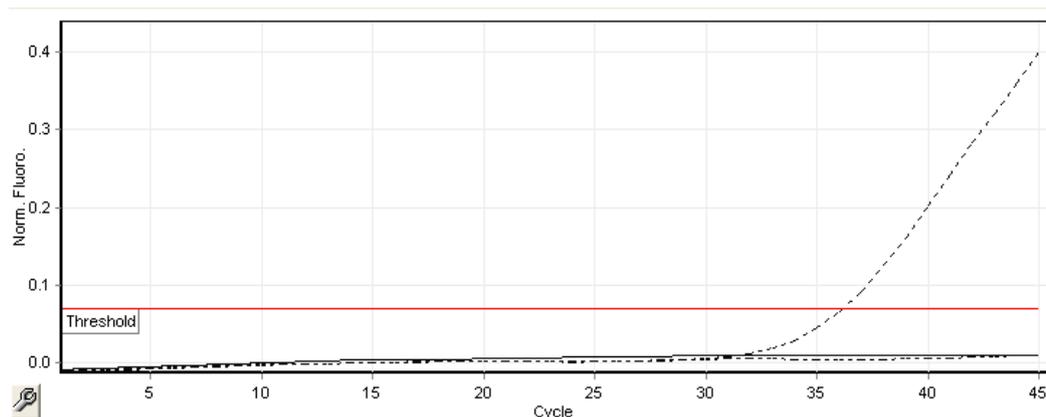


Figura 1. Cycling Green: Controlo positivo CT. Resultados de uma corrida com o CT/NG Control CT+/NG-.

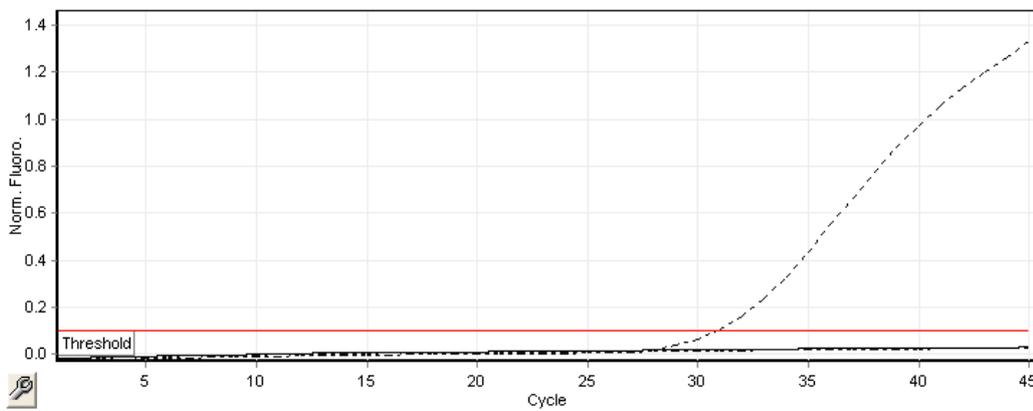


Figura 2. Cycling Orange: Controle positivo NG. Resultados de uma corrida com o CT/NG Control NG+/CT-.

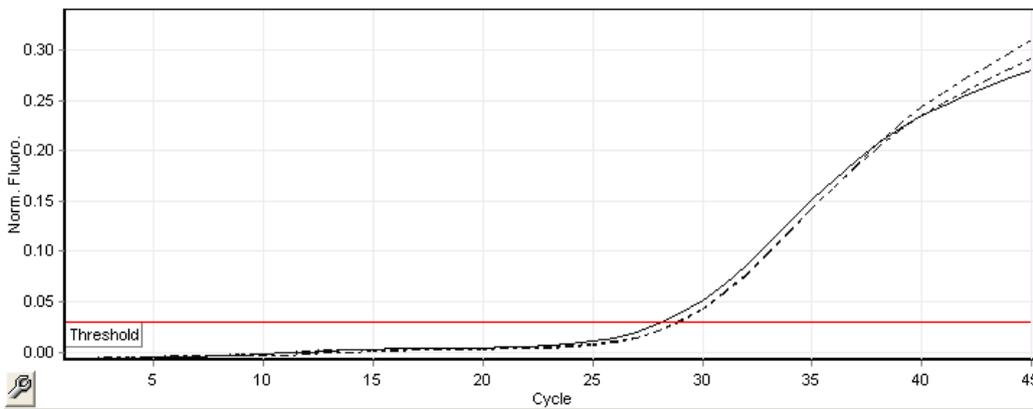


Figura 3. Cycling Yellow: controle interno. Resultados de uma corrida com o CT/NG RG IC.

São mostrados os valores C_T esperados para os controles para uma experiência PCR bem sucedida e válida na tabela que se segue.

Valores C_T esperados

Controlo/amostra	Intervalo C_T (mínimo – máximo)		
	Cycling Green	Cycling Yellow	Cycling Green
Control CT+/NG-	28,99-37,94	$\leq 33,44$	-
Control NG+/CT-	-	$\leq 33,44$	27,22-35,08
NTC	-	$\leq 33,44$	-
Amostra de paciente	Qualquer	Valor $\leq C_T$ do NTC na corrida atual + 5 C_T	Qualquer

Se um dos controlos ou o sinal IC correspondente faltar, a corrida tem de ser classificada como inválida.

Limitações

Foi conduzido um estudo para avaliar o desempenho do kit *artus* CT/NG QS-RGQ com amostras com elevadas concentrações de CT ou NG na presença do outro agente patogénico em números de cópias baixos. Os resultados são mostrados na tabela abaixo.

Desempenho do kit *artus* CT/NG QS-RGQ com várias concentrações de ADN-alvo

Agente patogénico A	Agente patogénico B	Taxa de incidência do agente patogénico B (%)
$1,00 \times 10^6$ cfu/ml <i>N. gonorrhoeae</i>	23 EB/ml <i>C. trachomatis</i>	100
$1,00 \times 10^5$ EB/ml <i>C. trachomatis</i>	58,5 cfu/ml <i>N. gonorrhoeae</i>	100

Nota: Concentrações inferiores de “Agente patogénico B” podem resultar em taxas de incidência inferiores.

Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncias de responsabilidade específicas do produto, consultar o respetivo manual do utilizador ou o manual do kit QIAGEN. 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.

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

Acordo de licença limitada para o kit *artus* CT/NG QS-RGQ

A utilização deste produto significa a aceitação, por parte de qualquer comprador ou utilizador do produto, dos seguintes termos:

1. O produto deverá ser usado unicamente em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e com o presente manual e recorrendo à utilização exclusiva de componentes contidos no kit. Nos termos dos direitos de propriedade intelectual, a QIAGEN não concede nenhuma licença para usar ou incluir os componentes englobados neste kit com qualquer componente não incluído neste kit, salvo conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, no presente manual, e em quaisquer protocolos adicionais disponíveis em www.qiagen.com. Alguns dos referidos protocolos adicionais foram fornecidos por utilizadores QIAGEN para utilizadores QIAGEN. Os referidos protocolos não foram testados de forma exaustiva ou otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não assegura nem garante que os referidos protocolos não infringem os 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 infringem os direitos de terceiros.
3. Este kit e respetivos componentes estão licenciados para uma única utilização e não podem ser reutilizados, reconicionados 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 a, ou facilitar, qualquer dos atos acima proibidos. A QIAGEN pode fazer cumprir as proibições do presente Contrato de Licença Limitada em qualquer tribunal e deverá recuperar todas as custas de tribunal e de investigação em que incorra, incluindo honorários de advogados, em qualquer processo destinado a fazer cumprir o presente Contrato de Licença Limitada ou qualquer um dos seus direitos de propriedade intelectual relativos ao kit e/ou aos seus componentes.

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

A aquisição deste produto permite ao comprador utilizá-lo para o desempenho de serviços de diagnóstico em diagnósticos *in vitro* humanos. Não se garante nenhuma patente geral ou qualquer outro tipo de licença para além deste direito específico de utilização concedido no momento da aquisição.

HB-1517-S02-003 07-2017

© 2017 QIAGEN, todos os direitos reservados.

