

# **artus<sup>®</sup> GBS QS-RGQ Kit - Příručka**



Verze 1

**IVD**

In vitro diagnostika pro kvalitativní stanovení

Pro použití s přístroji QIAasymphony<sup>®</sup> SP/AS a Rotor-Gene<sup>®</sup> Q



**REF**

4576366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden, NĚMECKO

Vyrobeno **IMD** pro QIAGEN

R3 **MAT** 1078211CS



## **QIAGEN Sample and Assay Technologies**

QIAGEN je vedoucím poskytovatelem inovativních technologií přípravy vzorků a analýz, které umožňují izolaci a detekci obsahu jakéhokoli biologického vzorku. Naše pokročilé, vysoce kvalitní produkty a služby vám zajistí spolehlivý výsledek.

### **QIAGEN určuje standardy:**

- v purifikaci DNA, RNA a proteinů
- v analýzách nukleových kyselin a proteinů
- ve výzkumu microRNA a RNAi
- v automatizaci technologií pro přípravu vzorků a jejich analýz

Naším cílem je umožnit vám dosáhnout vynikajících výsledků a technických úspěchů. Více informací naleznete na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Obsah

<b>Zamýšlené použití</b>	<b>4</b>
<b>Souhrn a vysvětlení</b>	<b>4</b>
Informace o patogenu	4
<b>Princip metody</b>	<b>4</b>
<b>Dodávané materiály</b>	<b>5</b>
Obsah sady	5
<b>Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky</b>	<b>5</b>
<b>Varování a bezpečnostní opatření</b>	<b>7</b>
Bezpečnostní informace	7
Všeobecná bezpečnostní opatření	8
<b>Nakládání s reagensy a jejich uchovávání</b>	<b>9</b>
<b>Nakládání se vzorky a jejich uchovávání</b>	<b>9</b>
<b>Postup</b>	<b>11</b>
Kontroly	12
Příprava nosiče RNA (CARRIER) a interní kontrola (GBS Internal Control)	12
Kontrolní sady analýzy a sady parametrů analýzy	14
Protokoly	
■ Izolace DNA a nastavení analýzy na přístroji QIASymphony SP/AS	15
■ PCR na přístroji Rotor-Gene Q	28
<b>Interpretace výsledků</b>	<b>31</b>
Řešení problémů	36
<b>Kontrola jakosti</b>	<b>40</b>
<b>Omezení</b>	<b>40</b>
<b>Charakteristiky chování</b>	<b>40</b>
<b>Literatura</b>	<b>40</b>
<b>Symboly</b>	<b>41</b>
<b>Kontaktní informace</b>	<b>42</b>
<b>Informace o způsobu objednávání</b>	<b>43</b>

## Zamýšlené použití

Souprava *artus* GBS QS-RSQ umožňuje analýzu amplifikace pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) DNA v reálném čase pomocí přístrojů QIA symphony SP/AS a Rotor Gene Q pro kvalitativní detekci streptokoka skupiny B (GBS) kultivovaného v obohacené živné půdě Lim (růst po dobu 18-24 hodin) získaného ze vzorku vaginorektálního výtěru u žen v předporodním období.

Souprava *artus* GBS QS-RCQ má sloužit jako pomůcka v detekci kolonií GBS u žen v předporodním období. Pro provedení testu náchylnosti, který je doporučován u žen alergických na penicilin, jsou nutné izolované kultury.

## Souhrn a vysvětlení

Souprava *artus* GBS QS-RGQ Kit je systém k přímému použití pro detekci DNA streptokoka skupiny B pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) na přístrojích RotorGene Q s přípravou vzorků a nastavení analýzy za použití přístrojů QIASymphony SP/AS.

## Informace o patogenu

Streptokokové skupiny B (GBS), včetně *Streptococcus agalactiae*, jsou gram-pozitivní, beta-hemolytické koky narůstající v řetízkovitém seskupení, které u novorozenců způsobují život ohrožující sepsi a meningitidu, a jsou tak příčinou vysoké míry morbidit a mortalit (1). GBS se vyskytuje přibližně u 25 % těhotných žen a v děloze nebo při vaginálním porodu se bakterie mohou přenést na novorozence. Kvůli prevenci přenosu na novorozence doporučují směrnice center pro prevenci a kontrolu nemocí (CDC) ženám mezi 35. - 37. týdnem těhotenství screening (2). Prokázalo se, že testy amplifikace nukleových kyselin jsou citlivější než tradiční metody testování kultur a mohou pomoci identifikovat větší populaci nastávajících matek, u kterých jsou přítomny GBS (3).

## Princip metody

GBS RG Master A a GBS Master B obsahují reagenty a enzymy pro specifickou amplifikaci cílových úseků genomu GBS a pro přímou detekci specifického amplikonu ve fluorescenčním kanálu Cycling Green přístroje Rotor-Gene Q.

Dále pak souprava *artus* GBS QS-RGQ obsahuje druhý heterologní kontrolní systém, který má určit případná selhání během celého procesu analýzy. Ta jsou odhalena interní kontrolou (IC) ve fluorescenčním kanálu Cycling Red přístroje Rotor-Gene Q.

## Dodávané materiály

Obsah soupravy *artus* GBS QS-RGQ vystačí na provedení 72 testů v jedné až třech sériích po 24 reakcí na přístroji QIASymphony RGQ. Rotor přístroje Rotor Gene Q obsahuje až 72 reakčních zkumavek.

### Obsah sady

<b><i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit</b>			<b>(72)</b>
<b>Katalogové č.</b>			<b>4576366</b>
<b>Počet reakcí</b>			<b>72</b>
Modrá	GBS Master A	<b>MASTER A</b>	3 x 330 µl
Fialová	GBS Master B	<b>MASTER B</b>	3 x 600 µl
Zelená	GBS Internal Control (Interní kontrola GBS)	<b>IC</b>	3 x 540 µl
Červená	GBS Positive Control (Pozitivní kontrola GBS)	<b>CONTROL +</b>	3 x 330 µl
Bílá	GBS Negative Control (Negativní kontrola GBS)	<b>CONTROL -</b>	3 x 330 µl
<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit Handbook ( <i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit – Příručka) (anglický)			1

## Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v příslušných bezpečnostních listech (BL), které lze získat od dodavatele produktu.

### Adaptéry pro QIASymphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, kat. č. 9020730) v kombinaci s QIASymphony SP/AS Transfer Frame

- Vložka pro zkumavky Tube Insert 3B (Insert, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, kat. č. 9242083)

### **Spotřební materiál a reagencie pro QIASymphony SP**

- QIASymphony DSP Virus/Patogen Mini Kit (kat. č. 937036)
- Buffer ATL (4 x 50 ml) (Pufr ATL) (kat. č. 939016)
- Sample Prep Cartridges, 8-well (8jamkové zásobníky na přípravu vzorku) (kat. č. 997002)
- 8-Rod Covers (kryty hrotů (po osmi)) (kat. č. 997004)
- Filter-Tips, 1 500 µl (Špičky s filtrem) (kat. č. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (Špičky s filtrem) (kat. č. 990332)
- Elution Microtubes CL (Eluční mikrozukumavky CL) (EMTR) (kat. č. 19588)
- Tip disposal bags (Odpadní sáčky na špičky) (kat. č. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H, without skirted base (Mikrozukumavky 2,0 ml typu H, bez lemovaného dna) (kat.č. 72.693) nebo Micro tubes 2.0 ml Type I, with skirted base (mikrozukumavky 2,0 ml typu I, s lemovaným dnem) (Sarstedt®, kat.č. 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)) pro manipulaci se vzorky a interní kontrolu.
- Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Zkumavky 14 ml, 17 x 100 mm s polyesterovým kulatým dnem) (Corning®, kat.č. 352051; dřívější dodavatel těchto zkumavek BD™, novým dodavatelem je Corning, Inc.) pro interní kontrolu.

### **Adaptéry a držáky na reagencie pro QIASymphony AS**

- Držák na reagencie 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, kat. č. 9018090)
- Stripy se zkumavkami RG 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, kat. čís. 9018092)

### **Spotřební materiál pro QIASymphony AS**

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (Stripy se zkumavkami a víčky) (kat. čís. 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (Zkumavky, kuželovité) (kat. č. 997102)
- Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (Zkumavky, kuželovité) (kat. č. 997104)
- Filter-Tips, 1500 µl (Špičky s filtrem) (kat. č. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (Špičky s filtrem) (kat. č. 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (Špičky s filtrem) (kat. č. 997120)
- Tip disposal bags (Odpadní sáčky na špičky) (kat. č. 9013395)

## Celkové laboratorní vybavení

- Pipety (nastavitelné)\* sterilní pipetovací špičky s filtrem
- Třepačka vortex\*
- Laboratorní centrifuga\* Benchtop s rotorem pro 2 ml reakční zkumavky

## Vybavení pro přípravu vzorků a nastavení analýzy

- QIASymphony SP (kat.č. 9001297),\* verze softwaru 4.0 nebo vyšší
- QIASymphony AP (kat.č. 9001301),\* verze softwaru 4.0 nebo vyšší

## Vybavení pro PCR

- Přístroj Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM\*<sup>†</sup>
- Rotor-Gene AssayManager<sup>®</sup> verze 1.0 nebo vyšší

## Varování a bezpečnostní opatření

Pro diagnostické použití in vitro

### Bezpečnostní informace

Při práci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní plášť, rukavice na jedno použití a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v odpovídajících bezpečnostních listech (BL). Bezpečnostní listy jsou k dispozici online v pohodlném a kompaktním formátu PDF na stránkách [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), kde můžete nalézt, zobrazit a vytisknout BL pro každou sadu QIAGEN<sup>®</sup> a pro každou komponentu těchto sad.

Pro bezpečnostní informace k soupravě QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit konzultujte prosím Pokyny pro použití QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit (Manuál) (*QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit Instructions for Use (Handbook)*), který je součástí této soupravy. Pro bezpečnostní informace k přístrojům prosím konzultujte Uživatelský manuál QIASymphony SP/AS — Obecný popis (*QIASymphony SP/AS User Manual — General Description*), Uživatelský manuál QIASymphony SP/AS — Provoz QIASymphony SP (*QIASymphony SP/AS User Manual — Operating the QIASymphony SP*), Uživatelský manuál QIASymphony SP/AS — Provoz QIASymphony AS (*QIASymphony SP/AS User Manual — Operating the QIASymphony AS*), Uživatelský manuál QIASymphony Management Console

\* Ujistěte se, že byly přístroje kontrolovány a kalibrovány podle doporučení výrobce.

<sup>†</sup> Pokud je to možné, přístroj Rotor-Gene Q 5plex HRM s datem výroby leden 2010 nebo později. Datum výroby je možné zjistit ze sériového čísla na zadní straně přístroje. Sériové číslo je ve formátu "mmyyynn", kdy "mm" označuje měsíc výroby, "yy" poslední dvojčíslí roku výroby a "nnn" označuje unikátní identifikátor produktu.

(*QIAasympHony Management Console User Manual*), Uživatelský manuál Rotor-Gene AssayManager Core Application (*Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual*), Uživatelský manuál *artus* Basic Plug-in (*artus Basic Plug-in User Manual*),) a uživatelský manuál dodaný s přístrojem Rotor-Gene Q.

Odpad ze vzorků a rozborů likvidujte podle místních bezpečnostních předpisů.

Na komponenty soupravy ....GBS QS-RGQ Kit QIAamp DSP Virus Spin se vztahují následující bezpečnostní věty a bezpečnostní opatření

### GBS Positive Control



Obsahuje: Směs 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3:1). Varování! Může způsobovat alergickou kožní reakci. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv, ochranné brýle nebo obličejový štít.

### Všeobecná bezpečnostní opatření

Vždy dbejte na následující:

- Používejte sterilní pipetovací špičky s filtrem.
- Během manuálních kroků ponechávejte zkumavky pokud možno zavřené a zabraňte kontaminaci.
- Všechny komponenty před zahájením analýzy úplně rozmrazte při pokojové teplotě (15–25 °C).
- Následně komponenty řádně promíchejte (opakovaný náběr pipetou a vypuštění pipety nebo pulzní třepačka) a krátce centrifugujte. Ujistěte se, že reagenční zkumavky neobsahují žádnou pěnu nebo bubliny.
- Nepoužívejte dohromady komponenty souprav jiných šarží.
- Řiďte se všeobecnými bezpečnostními opatřeními. Všechny vzorky pacientů jsou považovány za potenciálně nebezpečné a podle toho by s nimi mělo být zacházeno.
- Ověřte, že jsou potřebné adaptéry předem vychlazeny na 2–8 °C.
- Pracujte rychle a udržujte reagenty PCR před vkládáním na led nebo v chladičím bloku.
- Pracujte plynule od jedné části pracovního procesu ke druhé. Při přenosu mezi přístroji QIAasympHony AS a Rotor-Gene Q nepřekročte dobu 30 minut).
- Ověřte, zda byla provedena údržba a všechny vyměnitelné části (např. kryty hrotů) byly nainstalovány zpátky.
- Ověřte, zda jsou nainstalovány soubory s aplikačním procesem a požadované napájení ze sítě Rotor-Gene AssayManager.



## Nakládání s reagensiemi a jejich uchovávání

Komponenty soupravy *artus* GBS QS-RGQ Kit by se měly uchovávat při teplotě  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Jsou stabilní do data použitelnosti uvedeného na štítku. Zabraňte opakovanému rozmrazení a zmrazení ( $>3\text{ x}$ ), snižuje se tím účinnost analýzy. Všechny reagenty naložené na QIA Symphony AS jsou určeny pouze pro toto použití. Zbylé komponenty nepoužívejte pro další PCR.

## Nakládání se vzorky a jejich uchovávání

Informace o uchovávání a nakládání se vzorky z LIM bujónu najdete v tabulce 1.



Se všemi vzorky se musí zacházet jako s potenciálně infekčním materiálem.

**Tabulka 1. Nakládání se vzorky, jejich uchovávání a příprava na kultivaci v LIM bujónu**

Odběr vzorků	Tampón se vzorkem z vaginorektálního výtěru je do laboratoře přenesen za použití standardního systému pro transport bakteriálních vzorků zahrnujícím nenutritivní transportním médiem (např. Amies nebo Stuart). V laboratoři se tampón z transportního média vyjme a umístí se do vybrané živné půdy Lim (Todd-Hewitt bujón obohacený kolistinem [10 µg/ml] a kyselinou nalidixovou [15 µg/ml]). Naočkovaný Lim bujón se inkubuje po dobu 18 - 24 hodin při teplotě 35 °C ± 2 °C v ve vzdušném prostředí nebo v prostředí s přítomností 5 % CO <sub>2</sub> a poté je za použití soupravy <i>artus</i> GBS QS-RGQ zpracován poměrný zbytek bujónu.
Přenos vzorku	Transport odolný proti otřesům Přeprava během 24 hodin od odběru Poštovní přeprava podle právních nařízení pro transport patogenního materiálu* Vzorky by se měly odesílat vychlazené (2 až 8 °C)
Uchovávání vzorků (včetně času nutného pro přepravu)	2 - 8 °C do 7 dnů -30 až - 10 °C do 30 dnů
Příprava vzorku	Umístěte 350 µl postinkubačního Lim bujónu do mikrozkušavky Sarstedt 2,0 ml a naložte ji na QIAAsymphony SP.

\* Mezinárodní asociace leteckých dopravců (IATA). Předpisy pro nebezpečný materiál.

## Postup

**Tabulka 2. Všeobecné informace**

Sada	<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit, <b>REF</b> 4576366
Materiál vzorku	Kultury z obohaceného Lim bujónu (růst po dobu 18 - 24 hodin při teplotě 35 °C ± 2 °C) z vaginorektálního výtěru vzorků u žen v předporodním období.
Počáteční purifikace	Minisada QIAAsymphony DSP Virus/Patogen Mini Kit (kat. č. 937036)
Objem vzorku (včetně nadbytečného objemu)	350 µl
Sada parametrů	<i>artus</i> _GBS_broth200_V1
Výchozí kontrolní sada	Complex200_V6_DSP_ <i>artus</i> _GBS
Eluční objem	60 µl
Vyžadovaná verze softwaru QIAAsymphony	Verze 4.0 nebo vyšší
Vyžadovaný konfigurační profil QIAAsymphony SP/AS	Výchozí profil 1
Objem master mixu	25 µl
Objem templátu	15 µl
Počet reakcí	24-72* (včetně všech kontrol bude naložen na QIAAsymphony SP a QIAAsymphony AS)
Čas zpracování na QIAAsymphony SP/AS	U 24 reakcí: přibližně 90 minut U 72 reakcí: přibližně 280 až 290 minut
Čas zpracování na přístroji Rotor-Gene Q	Přibližně 120 minut

\* Zajistěte, aby nebyl překročen limit 72 reakcí a 1 stojanu na adaptér Zamezte delšímu času inkubace (>30 minut) mezi dokončením zpracování rozboru a přenosem na přístroj Rotor-Gene.

## Kontroly

### Pozitivní kontrola

GBS Positive Control (pozitivní kontrola) (dodávána se soupravou *artus* GBS QS-RGQ Kit) monitoruje efektivitu přípravy vzorku a navazujícího rozboru. Tato pozitivní kontrola se nakládá na QIASymphony SP před purifikací DNA (viz krok 7, strana 20, kde naleznete další detaily o nakládání pozitivní kontroly).

### Negativní kontrola

GBS Negative Control (negativní kontrola) (dodávána se soupravou *artus* QS-RGQ Kit) se nakládá na QIASymphony před purifikací DNA místo vzorku pacienta a usnadňuje identifikaci kontaminace během přípravy vzorků a/u navazujícího rozboru (viz krok 7, strana 20, kde naleznete další detaily o nakládání negativní kontroly).

## Příprava nosiče RNA (CARRIER) a interní kontrola (GBS Internal Control)

Aby bylo možné monitorovat efektivitu přípravy vzorku a navazující rozbor, vyžaduje použití souprav QIASymphony DSP Virus/Pathogen v kombinaci se soupravou *artus* GBS QS-RGQ zavedení interní kontroly (GBS Internal Control), která sestává ze syntetické plazmidové DNA v tlumicím roztoku, do purifikační procedury.

Interní kontrola (GBS Internal Control), dodávaná se soupravou *artus* GBS QS-RGQ Kit, musí být doplněná směsí nosiče RNA (CARRIER) a pufru AVE (AVE). Celkový objem směsi nosiče RNA u interní kontroly (CARRIER) a pufru AVE (AVE) je 120 µl na jeden vzorek.

Pro přípravu směsi nosiče RNA (CARRIER) a pufru AVE (AVE) přidejte 1 350 µl pufru AVE (AVE), dodávaného se soupravou QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit, a resuspendujte tak lyofilizovaný nosič RNA (CARRIER). Obráťte zkumavku a promíchejte.

Pro kalkulaci interní kontroly (IC) použijte „IC Calculator“ v konzole QIASymphony Management Console (QMC).

Tabulka 3 představuje přidání interní kontroly ke vzorku v poměru 0.1 µl na 1 µl elučního objemu. Doporučujeme připravit pro každý běh čerstvé směsi bezprostředně před použitím.

**Tabulka 3. Příprava nosiče RNA (CARRIER) a interní kontrola (GBS Internal Control)**

Komponenta	n = počet vzorků a kontrol	
	n ≤ 13 Objem (μl) (zkumavky Sarstedt)*	n > 13 Objem (μl) (zkumavky BD™)†
Základní nosič RNA (CARRIER)	(n + 3) x 3	(n + 5) x 3
Interní kontrola (GBS Internal Control)	(n + 3) x 9	(n + 5) x 9
Poufr AVE (AVE)	(n + 3) x 108	(n + 5) x 108
<b>Konečný objem na jeden vzorek (vyjma mrtvého objemu)</b>	<b>120</b>	<b>120</b>
<b>Celkový objem pro n vzorků</b>	<b>(n + 3) x 120</b>	<b>(n + 5) x 120</b>

\* 2 ml mikrozkušavky typu H nebo 2 ml mikrozkušavky typu I (Sarstedt, kat. č. 72.693 a 72.694). Pokud interní kontrolu připravujete jako kompletní roztok ve větší zkumavce, vynásobte celkový objem každého komponentu počtem použitých zkumavek pro interní kontrolu. Nutná je směs pro interní kontrolu odpovídající 3 dalším vzorkům (tj. 360 μl). Celkový objem by neměl přesáhnout 1,92 ml (odpovídající maximu 13 vzorků).

Pokud v 2,0 ml mikrozkušavkách provádíte více než 13 reakcí, připravte reakce ve větší zkumavce a naplňte více zkumavek. Ujistěte se, že je do každé zkumavky přidán požadovaný nadměrný objem 3 dodatečných reakcí.

† Zkušavky 14 ml, 17 x 100 mm s polyesterovým kulatým dnem (Corning, kat.č. 352051; dřívější dodavatel těchto zkumavek BD, novým dodavatelem je Corning, Inc.). Nutná je směs pro interní kontrolu odpovídající 5 dalším vzorkům (tj. 600 μl). Celkový objem by neměl přesáhnout 13,92 ml (odpovídající maximu 111 vzorků).

### Výpočet směsi pomocí „IC Calculator“

1. Otevřete QMC.
2. Vyberte ikonu IC Calculator.
3. Ze seznamu ACS vyberte „Complex200\_V6\_DSP\_artus\_GBS“.
4. Zadejte požadovaný počet vzorků.
5. Vyberte laboratorní nádobí použité pro interní kontrolu.
6. Vyberte eluční objem 60 μl.
7. V nabídce interní kontroly vyberte „Internal Control/Eluate“ a „0.1 μl“.
8. Pro zahájení výpočtu směsi pro interní kontrolu stiskněte „Calculate“.

IC calculator v pravé straně obrazovky zobrazuje různé objemy reagensů, které mají být pro interní kontrolu namíchány, a typy zkumavek, které se mají použít.

## **Kontrolní sady analýzy a sady parametrů analýzy**

Kontrolní sady analýzy jsou kombinací protokolu a dodatečných parametrů, jako např. interní kontroly, pro purifikaci vzorku na QIA Symphony SP. U každého protokolu je předinstalována výchozí kontrolní sada analýzy.

Sady parametrů analýzy jsou kombinací definice analýzy s dodatečnými definovanými parametry, jako např. počtem replikátů a počtem standardů v analýze, pro nastavení analýzy na QIA Symphony AS.

Pro integrované běhy na QIA Symphony SP/AS je sada parametrů analýzy, `artus_GBS_broth200_V1`, přímo spojena s kontrolní sadou analýzy, `Complex200_V6_DSP_artus_GBS`, specifikující související proces purifikace vzorku.

# Protokol: Izolace DNA a nastavení analýzy na přístroji QIASymphony SP/AS

## Důležité body před zahájením

- Ujistěte se, že jste dobře obeznámeni s obsluhou přístrojů QIASymphony SP/AS. Návod k použití je součástí uživatelských příruček dodaných spolu s přístroji a většina aktuálních verzí je k dispozici na adrese [www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx](http://www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx).
- Stáhněte si aplikační balíček ze složky „Protocol Files“ v účtu katalogové stránky u artus GBS QS-RGQ Kit v části „Resources“ ([www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE](http://www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE)).
- Před prvním použitím zásobníku s reagensiemi (RC) zkontrolujte, zda pufrы QSL2 a QSB1 v zásobníku (RC) neobsahují precipitát. V případě potřeby vyjměte vaničky obsahující pufrы QSL2 a QSB1 ze zásobníku s reagensiemi (RC) a inkubujte je po dobu 30 minut při teplotě 37 °C za občasného třepání, aby se precipitát rozpustil. Ujistěte se, že jsou vaničky znovu umístěny do správných pozic. Pokud je zásobník s reagensiemi (RC) již propíchnut, ujistěte se, že jsou vaničky utěsněny pomocí opětovně použitelných uzavíracích proužků a inkubujte celý zásobník s reagensiemi (RC) ve vodní lázni po dobu 30 minut při teplotě 37 °C za občasného třepání.\* Nechte reagentie vychladnout na pokojovou teplotu (15-25 °C).
- Ujistěte se, že pufr ATL (ATL) neobsahuje precipitát. Pokud se precipitát utvořil, tak jej zahřátím pufru na 70 °C a mírným mícháním ve vodní lázni rozpustíte.\* Z povrchu odsajte bubliny a nechte pufr vychladnout na pokojovou teplotu (15-25 °C),
- Snažte se vyhnout třepáním zásobníku s reagensiemi (RC) a lahvičkou s pufrém ATL (ATL). Následkem toho se může utvořit pěna, což může vést k problémům s detekcí hladiny kapaliny.
- Pracujte rychle a před vkládáním udržujte reagentie PCR na ledu nebo v chladicím bloku.
- Objemy reagentií jsou optimalizované na 3 série po 24 reakcích na jednu soupravu a na jeden běh.
- Ujistěte se, že eluáty z přípravy vzorku a všechny komponenty soupravy *artus* GBS QS-RGQ Kit nezůstanou na přístroji déle než je běžná doba nutná pro purifikaci vzorku a nastavení 72 analyzovaných reakcí včetně třicetiminutového transferu z QIASymphony AS na přístroj Rotor-Gene Q.
- Poznámka: Nepoužívejte stojan na eluční mikrozkuřavky Elution Microtubes CL, který byl již použit na jiném přístroji QIASymphony SP. ID stojanu nevěkládejte manuálně.

\* Ujistěte se, že byly přístroje kontrolovány a kalibrovány podle doporučení výrobce.

## Věci, které je nutné udělat před zahájením

- Před každým použitím musí být všechny reagenty soupravy *artus* GBS QS-RGQ zcela rozmrazeny, promíchány (opakovaným náběrem pipetou a vypuštěním pipety nebo krátkým vortexováním) a minimálně 3 sekundy centrifugovány. Zamezte vytvoření bublin nebo pěny v reagentech.
- Připravit všechny potřebné směsi. V případě potřeby připravte směsi obsahující nosič RNA (CARRIER) a interní kontroly bezprostředně před začátkem procesu. Další informace získáte v části „Příprava nosiče RNA (CARRIER) a interní kontrola (GBS Internal Control)“, strana 12.
- Před začátkem integrovaného běhu se ujistěte, že všechny přístroje jsou čisté a vyměnitelné části jsou naloženy (např. kryty hrotů) tak, jak uvádějí pokyny pro údržbu v uživatelských manuálech QIASymphony SP/AS — Obecný popis (*QIASymphony SP/AS User Manual — General Description*), QIASymphony SP/AS — Provoz QIASymphony SP (*QIASymphony SP/AS User Manual — Operating the QIASymphony SP*), QIASymphony SP/AS — Provoz QIASymphony AS (*QIASymphony SP/AS User Manual — Operating the QIASymphony AS*) a QIASymphony Management Console (*QIASymphony Management Console User Manual*), které jste obdrželi. Zajistěte pravidelnou údržbu, aby se minimalizovalo riziko zkřížené kontaminace.
- Ujistěte se, že procesní profil QIASymphony „Default Profile 1“ (Výchozí profil 1) je aktivní. Vybraný profil se zobrazuje v pravém dolním rohu dotykové obrazovky. Profil můžete změnit v menu „Configuration“ (Konfigurace) v záložce „Tools“ (Nástroje), pokud se přihlásíte jako „Supervisor“.

## Postup

### Bakteriální purifikace na přístroji QIASymphony SP

1. **Zavřete všechny zásuvky a víka modulu QIASymphony SP/AS.**
2. **Zapněte přístroj a vyčkejte, dokud se na obrazovce neobjeví okno „Sample Preparation“ (Příprava vzorků) a nedokončí se inicializační proces.**

Vypínač je umístěn v levém spodním rohu přístroje QIASymphony SP.

3. **Přihlaste se do přístroje.**
4. **Připravte v přístroji QIASymphony SP odpadní zásuvku („Waste“).**

- Otevřete odpadní zásuvku „Waste“.
- Vyprázdněte a vložte nádobu na tekutý odpad. Ujistěte se, že jste před vložením nádoby na tekutý odpad do zásuvky odstranili víko.
- Vložte odpadní žlábek na špičky.

**Poznámka:** U centrifugy a provozu QIASymphony Cabinet SP/AS je nutné použít různé žlábků na špičky.



- Vložte stanici na parkování prázdných špiček.
- Vložte prázdné jednotkové schránky (viz Tabulka 4 a Obrázek 1). Ujistěte se, že ve žlábků 4 (nejblíže k vám) je alespoň jedna prázdná jednotková schránka.
- Nainstalujte prázdné odpadní sáčky na použité hroty (pod odpadní zásuvkou při práci s centrifugou nebo v odpadním koši při práci s QIA Symphony Cabinet SP/AS).
- Zavřete odpadní zásuvku („Waste“) a proveďte kontrolu obsahu.

**Tabulka 4. Požadovaný plastový materiál pro 1-3 sady vzorků**

	Jedna sada, 24 vzorků	Dvě sady, 48 vzorků	Tři sady, 72 vzorků
<b>Prázdné jednotkové krabice</b>	2	3	4



**Obrázek 1. Umístění jednotkových schránek (1-4).**

## 5. Naplňte zásuvku „Eluate“.

- Do transportního rámu vložte adaptér (Elution Microtubes Rack QS).
- Otevřete zásuvku „Eluate“.
- Vložte montáž adaptéru a transportní rám do žlábků 1 v zásuvce „Eluate“.
- Na dotykové obrazovce vyberte možnost „Elution Slot 1“.
- Otáčením stojanu odejměte dno mikrozkupek Elution Microtubes CL.
- Ruční čtečkou zkontrolujte čárový kód na mikrozkupech Elution Microtubes CL.
- Do adaptéru na žlábků „Elution Slot 1“ vložte stojan.

- Odstraňte víko stojanu na mikrozkušavky Elution Microtubes CL.
- Uzavřete zásuvku „Eluate“.
- Stiskněte „OK“.
- Počkejte, dokud nebude hotová kontrola.

## 6. Naplňte zásuvku „Reagents and Consumables” (Reagencie a spotřební materiál) (Obrázek 2).

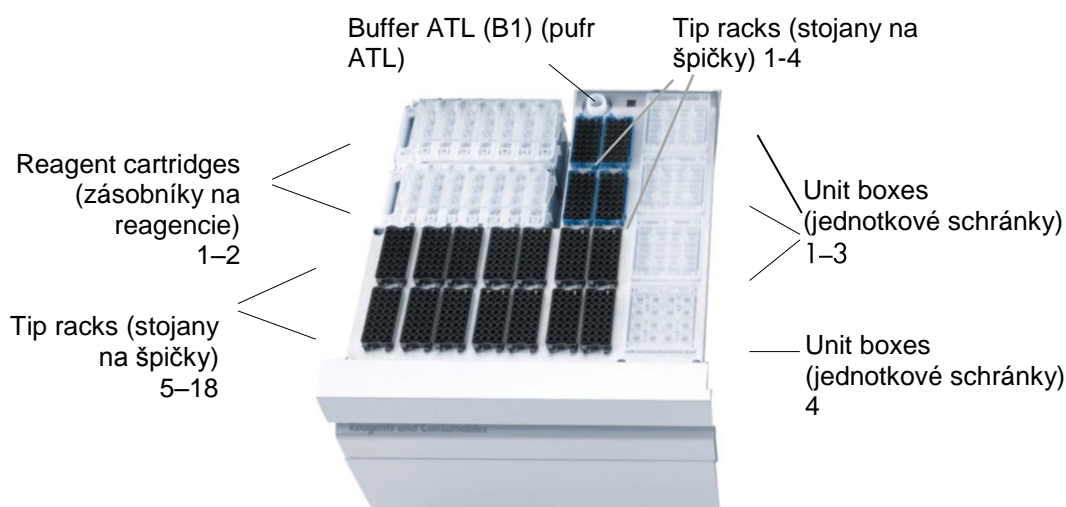
- Otevřete zásuvku „Reagents and Consumables” (Reagencie a spotřební materiál).
- Vezměte zásobník s reagenty (RC) a před jeho prvním použitím zkontrolujte, zda pufrы QSL2 a QSB1 v zásobníku neobsahují precipitát. Pokud pufrы QSL2 a QSB1 obsahují precipitát, řiďte se instrukcemi na straně 15.

**Poznámka:** Pokuste se předejít prudkému třepání zásobníkem s reagenty (RC), hrozí vytvoření pěny, které může vést k problémům s detekcí hladiny tekutiny.

- Vložte zásobník s reagenty (RC) do šedého držáku zásobníku.
- Ujistěte, že jsou magnetické částice plně resuspendovány. Vaničku obsahující magnetické částice před použitím minimálně 3 minuty rázně vortexujte. Žlábek obsahující magnetické částice vložte zpět do zásobníku s reagenty (RC).
- Před vložením zásobníku s reagenty (RC) odstraňte víčko z vaničky obsahující magnetické částice.
- Otevřete zkušavky s enzymy. Víka zkušavek s enzymy umístěte do držáků na víka, které jsou součástí šedého držáku na zásobník s reagenty.

**Poznámka:** Pokud se ve zkušavkách s enzymy nacházejí bubliny, odsajte je z povrchu.

- Stojan s enzymy (ER) připevněte do zásobníku s reagenty (RC).
- Ostré víko (PL) připevněte do zásobníku s reagenty (RC) a jemně jej zatlačte na místo.
- Připravené zásobníky s reagenty (RC) umístěte do pozice RC 1 a/nebo RC 2. Jeden nový zásobník na reagenty (RC) je dostatečný až pro 96 vzorků.
- Stiskněte tlačítko „R+C” na dotykové obrazovce.
- Stiskněte tlačítko „Bottle ID”.
- Stiskněte textové pole a ruční čtečkou naskenujte čárový kód láhve s pufrы ATL (ATL).



**Obrázek 2. Umístění reagencií a spotřebního materiálu na přístroji QIASymphony SP.**

- Otevřete nádobu s pufrem ATL (ATL) a zkontrolujte, zda neobsahuje precipitát. Pokud pufr ATL (ATL) obsahuje precipitát, řiďte se instrukcemi na straně 15.
- Umístěte láhev s pufrem ATL (ATL) do pozice B1, která se nachází vedle žlábků na zásobník s reagenciemi 1 (slot 1).

**Poznámka:** Pokuste se zamezit prudkému třepání, hrozí vznik pěny. To může vést k problémům s detekcí hladiny tekutiny.

- Naplňte dostatečné množství stojanů jednorázovými 200 µl špičkami s filtry v držáku v umístění 1-4 (viz Tabulka 5, strana 20).
- Naplňte dostatečné množství stojanů jednorázovými 1 500 µl špičkami v držáku v umístění 5-18 (viz Tabulka 5, strana 20).
- Ujistěte se, že všechny stojany jsou na svém místě.

**Poznámka:** Doporučujeme plnit více než je požadované množství špiček s filtry všech velikostí, protože je tak k dispozici dostatečné množství špiček s filtry pro řešení automatizovaných chyb.

- Odstraňte víko jednotkových schránek na zásobníky pro přípravu vzorků a jejich dostatečné množství vložte do držáku na jednotkové schránky v umístění 1-3 (viz Tabulka 5, strana 20).
- Odstraňte víko jednotkové schránky na kryty hrotů (po osmi) a jejich dostatečné množství vložte do držáku na jednotkovou schránku v umístění 4 (viz Tabulka 5, strana 20).

**Poznámka:** Plastový spotřební materiál se během přesunu nebo uchování může posunout. Před naložením na přístroj QIASymphony SP zkontrolujte, zda jsou všechny plastové komponenty ve schránce správně seřazeny.

- Stiskněte „OK“ v okně se spotřebním materiálem.
- Zavřete zásuvku „Reagents and Consumables“ (reagencie a spotřební materiál) a proveďte kontrolu obsahu.

**Tabulka 5. Požadovaný plastový materiál pro 1-3 sady vzorků**

	<b>Jedna sada, 24 vzorků*</b>	<b>Dvě sady, 48 vzorků*</b>	<b>Tři sady, 72 vzorků*</b>
Jednorázové špičky s filtrem, 200 µl <sup>†‡</sup>	34 (1 stojan)	60 (2 stojany)	86 (3 stojany)
Jednorázové špičky s filtrem, 1 500 µl <sup>†‡</sup>	123 (4 stojany)	205 (7 stojany)	295 (10 stojany)
<b>Zásobníky pro přípravu vzorků</b>	18	36	54
<b>Kryty hrotů (po osmi)¶</b>	3	6	9

\* Provedení více než jednoho inventurního skenu vyžaduje přídavné filtrační špičky k jednorázovému použití.

† K dispozici je 32 špiček s filtry/stojanů na špičky, 28 zásobníků pro přípravu vzorků/jednotková schránka a 12 krytů hrotu/jednotková schránka.

‡ Počet požadovaných filtračních špiček zahrnuje filtrační špičky pro 1 snímek inventáře na zásobník s reagenty.

## 7. Naplňte zásuvku „Sample“ (vzorek) (nosič na zkumavky) pozitivní a negativní kontrolou.

- Umístěte zkumavku s pozitivní kontrolou (GBS Positive Control) (dodávanou se soupravou *artus* GBS QS-RGQ Kit) do pozice 1 prvního nosiče vzorku (použijte Tube Insert 3B pro 2 ml mikrozkušavky).
- Umístěte zkumavku s negativní kontrolou (GBS Negative Control) (dodávanou se soupravou *artus* GBS QS-RGQ Kit) do pozice 2 prvního nosiče vzorku (použijte Tube Insert 3B pro 2 ml mikrozkušavky).

**Poznámka:** Ujistěte se, že jsou pozitivní a negativní kontroly umístěny správně. Přístroj Rotor-Gene AssayManager neimportuje výsledky, pokud jsou pozitivní a negativní kontroly umístěny v jiné pozici. Nenakládejte u stejných AS sérií kontroly do přídavných nosičů.

**Poznámka:** Umístění vzorků a kontrol na stojanu je možné před začátkem běhu zobrazit. Po vytvoření AS série (krok 11, strana 22) stiskněte na

dotykové obrazovce tlačítko „Assays“ a vyberte příslušný slot. Stisknutím tlačítka „Sample“ zobrazíte typ vzorku v každém umístění („Type“).

## 8. Naplňte zásuvku „Sample“ (vzorek) (nosič na zkumavky) vzorky.

- Připravené vzorky (viz strana 10) v 2 ml mikrozkušavkách naložte do nosiče zkumavek, který již obsahuje kontroly (použijte vložku Tube Insert 3B pro 2 ml mikrozkušavky).
- V případě nutnosti připravte stejným způsobem další nosiče zkumavek. Ve stejné sérii AS nepřidávejte do nosičů zkumavek se vzorky další kontroly (viz krok 11).

**Poznámka:** Pokud je na vzorcích čárový kód, umístěte je v nosiči zkumavek tak, aby kódy byly zcela viditelné.

- Zkontrolujte, zda jsou zkumavky se vzorky a kontrolou správně naloženy a na svém místě.
- Vložte všechny nosiče se vzorky do žlábků zásuvky „Sample“ 1-4. Pokud jsou naloženy správně, rozsvítí se LED dioda oranžově.

**Poznámka:** Nejdříve naložte do slotu 1 nosiče na zkumavky obsahující kontroly a vzorky. V jednom běhu nenakládáte více než 72 vzorků a kontrol.

## 9. Pomocí nastavení „Integrated run“ (Integrovaný běh) na dotykové obrazovce QIA Symphony zadejte požadované informace o každé zpracovávané sadě vzorků.

- Na dotykové obrazovce klikněte na záložku „Integrated Run“ (integrovaný běh).
- Klikněte na „Define Run“ (určit běh).
- Vyberte „SP Batch 1“ (nebo v případě nepřetržitého nakládání příslušné číslo série nosiče vzorků s „Full Process Controls“).
- Stiskněte „Edit samples“.
- Ujistěte se, že vzorky mají přidělené správné laboratorní nádoby. V případě nutnosti opravte určení laboratorního nádobí.
- Stiskněte „ID/Type“.
- Vyberte první umístění a stiskněte „Sample ID“.
- Klikněte na textové pole a vložte GBS Positive Control (pozitivní kontrolu), poté stiskněte „OK“.
- Vyberte první umístění a stiskněte „EC+“.
- Vyberte druhé umístění a stiskněte „Sample ID“.
- Klikněte na textové pole a vložte GBS Negative Control (negativní kontrolu), poté stiskněte „OK“.
- Vyberte druhé umístění a stiskněte „EC–“.

- V případě nutnosti vyřešte potíže s čárovými kódy u vzorku a vložte ID.
- Stiskněte „OK“.

**Poznámka:** Typ vzorku (Sample Type) „EC+“ nebo „EC–“ nepřidělujte jiným zkumavkám než těm s pozitivní a negativní kontrolou, které byly dodány se soupravou *artus* GBS QS-RGQ Kit. Rotor-Gene Assay Manager odmítne běhy s nesprávnými kontrolními vzorci. Pokud dodatečně zpracováváte dříve označené vzorky společně s testovacími vzorky, ujistěte se, že jste k těmto vzorkům přiřadili typ („sample type“).

#### 10. Určete rozbor, který se má udělat.

- Stiskněte příslušné tlačítko „SP Batch“.
- Klikněte na „Define Assays“ (určit rozbor).
- Vyberte vzorky, které budou v rozboru zpracovány.
- Vyberte rozbor „artus\_GBS\_broth200\_V1“ v kategorii „artus QS-RGQ“.
- Stiskněte „OK“.
- Krok 10 opakujte u všech sérií a vzorků, které mají být zpracovány.

#### 11. Určete sérii QIASymphony AS.

- Vyberte všechny série, které mají být zpracovány, v jednom integrovaném běhu na QIASymphony RGQ.
- Klikněte na „Create AS batch“ (vytvořit sérii AS)

**Poznámka:** Všechny série QIASymphony SP přidělené ke stejné sérii QIASymphony AS (integrovaný běh QIASymphony RGQ) se zpracují ve stejném uspořádání procedury.

- Stiskněte tlačítko „OK“ pro zahájení běhu.

#### 12. Do zásuvky „Sample“ naložte směs interní kontroly.

- Předpřipravené zkumavky se směsí interní kontroly (viz strana 12) umístěte do nosiče vzorku (použijte vložku Tube Insert 3B pro 2 ml mikrozkušavky).
- Nosič vzorků vložte do slotu A v zásuvce „Sample“.

**Poznámka:** U určité hladiny tekutiny v nepopsaných 14 ml zkumavkách (viz „Spotřební materiál a reagensie pro QIASymphony SP“) se kvůli průhlednosti tekutiny a zkumavky mohou objevit chyby ve snímku. Abyste tomu předešli, připevněte ke zkumavce nepopsanou značku nebo permanentní fixou označte část zkumavky, která je otočená ke čtečce čárového kódu.

#### 13. Určete umístění interní kontroly.

- Stiskněte tlačítko „Define ICs“ (určit interní kontrolu)
- Vyberte umístění směsi s interní kontrolou.

- Vyberte příslušnou interní kontrolu „Complex200\_V6\_DSP\_artus\_GBS“ ze složky „Required“ (vyžadováno).
- Ujistěte se, že je přidělené správné laboratorní nádobí. Pokud ne, stisknutím „IC Tubes“ opravte určení laboratorního nádobí.
- Stiskněte „OK“.
- Zkontrolujte záložku „R+C“ a ujistěte se, že byly naloženy všechny požadované reagenty a spotřební materiál.

#### 14. Spustíte běh.

- Stisknutím tlačítka „Run“ zahájíte proces.
- Přečtěte si zprávu, která se objeví, a potvrďte ji.
- Doporučujeme, abyste u přístroje čekali, dokud se neprovede detekce hladiny tekutiny ve zkumavkách s interní kontrolou (status nosiče QIASymphony SP se změní na „running“ - probíhá).

**Poznámka:** Během procesu běh nepřerušujte ani nezastavujte (pouze v případě výjimečného stavu) - příslušné vzorky a rozborů by byly označeny jako nejasné („unclear“). Rotor-Gene AssayManager rozborů označené jako nejasné anulují.

**Poznámka:** Do tohoto běhu nebo do nového běhu QIASymphony RGQ je možné nepřetržitě nakládat a přidávat vzorky (dokud nejsou naloženy reagenty).

### Vložení zásuvek QIASymphony AS pro nastavení analýzy

#### 15. Nasaďte prázdný odpadní sáček na špičky a žlábků na špičky.

- Nainstalujte prázdný odpadní sáček na použité hroty pod odpadní zásuvkou při práci s centrifugou nebo do odpadního koše při práci s QIASymphony SP/AS Cabinet.
- U přístroje QIASymphony AS otevřete zásuvku „Eluate and Reagents“ (eluát a reagenty) a zásuvku „Assays“ (rozborů)
- Otevřete ochranný kryt a vložte žlábek na špičky do přístroje.

**Poznámka:** U centrifugy a provozu QIASymphony Cabinet SP/AS je nutné použít různé žlábků na špičky.

- Kryt zavřete, přečtěte zprávu a potvrďte ji.

#### 16. Naložte do zásuvky „Assays“ (rozborů) stojan na rozbor.

- Stiskněte slot 5 „Assay“ (žlutý).
- Naplňte požadované množství zkumavek (4 zkumavky = 1 segment) v předchlazeném chladicím adaptéru Rotor-Gene Strip Tubes 72 QS, jak ukazuje obrázek.

**Poznámka:** Nakládějte kompletní zkumavky. Zkumavky neporušujte.

- Adaptér se zkušavkami naložte na slot 5 zásuvky „Assays“.
- Na obrazovce stiskněte „Rack ID“, vložte uživatelem určené ID stojanu a zmáčkněte „OK“.

**Poznámka:** Je možné použít i automatickou funkci ID.

- Stiskněte „Load“.

#### 17. Naložte zásuvky „Assays“ (rozbory) a „Eluate and Reagents“ (eluát a reagencie) špičkami s filtry.

- Naložte alespoň takový počet špiček s filtry, které ukazuje okno „Assay Setup | Loading Information“.

**Poznámka:** Začněte stojany na špičky nakládat odzadu (blízko u chladičho adaptéru). Ve výjimečných případech hlava pipety na některá místa u ochranného krytu nedosáhne a to může způsobit, že přístroj se automaticky zastaví. Doporučujeme plnit více než je požadované množství špiček s filtry všech velikostí, protože je tak k dispozici dostatečné množství špiček s filtry pro řešení automatizovaných chyb.

#### 18. Naložte zásuvku „Eluate and Reagents“ (eluát a reagencie) reagenciemi.

- Před každým použitím musí být všechny reagencie úplně rozmrazeny, smíchány a po dobu minimálně tří sekund centrifugovány. Zabraňte vzniku bublin nebo pěny v reagenciích (viz postup popsáný v „Důležité body před zahájením“, strana 15).
- Na dotykové obrazovce stiskněte slot 3 „Reagent“ (žlutý).
- Připravte si předchlazený držák na reagencie, jak požaduje obrazovka.
- Na obrazovce vyberte umístění zkušavky, naložte prázdnou zkušavku pro předlohou směs a naplňte dané zkušavky v příslušných umístěních alespoň požadovaným objemem správných reagencií tak, jak ukazuje obrazovka.

**Poznámka:** Rozbor GBS není navržen na méně než 24 reakcí na jeden běh. Pokud je počet reakcí v běhu menší než 24, je nutné do QIASymphony AS vložit celou zkušavku GBS Master a GBS Master B i přesto, že specifický objem nákladu na běh, který QIASymphony AS ukazuje, je menší než objem GBS Master A a GBS Master B ve zkušavkách dodávaných v soupravě.

**Poznámka:** Je možné, že pokud požadovaný objem překročí objem příslušných reagencií, bude nutné v jedné zkušavce zkombinovat stejné typy reagencií (GBS Master A nebo GBS Master B). Každá zkušavka GBS Master A i GBS Master B vystačí na 24 eluátů QIASymphony SP (včetně kontrol).

**Poznámka:** S viskózními reagenciemi může být obtížné manipulovat pomocí manuálních pipet. Zajistěte, abyste přenesli celý objem GBS Master a GBS Master B to příslušných zkušavek.



**Poznámka:** Případně vyberte na obrazovce záložku „List View“ a podle toho připravte reagenční adaptér. „Loading information File“ (informační dokument o nakládání) můžete stáhnout také přes QMC nebo USB port (a vytisknout) poté, co je série QIASymphony AS definována a čeká na zpracování.

- Na obrazovce stiskněte tlačítko „Scan Kit Barcode“ a klikněte na světle modrou linku čárového kódu soupravy.
- Klikněte do textového pole a ruční čtečkou naskenujte čárový kód na horní straně soupravy *artus* GBS QS-RGQ.

**Poznámka:** Pokud se čárový kód soupravy při tomto kroku nenačte, Rotor-Gene AssayManager během importu odmítne dokument s výsledky z QIASymphony AS.

- Naložte připravený reagenční adaptér do slotu 3 zásuvky „Eluate and Reagents“ (eluát a reagencie).
- Stiskněte tlačítko „Load“ (Naložit).
- Obě zásuvky zavřete.
- Pro zahájení zobrazovacího dialogu klikněte na „Scan“.
- Pro zobrazení obsahu všech komponentů QIASymphony AS klikněte na „Scan“.

**Poznámka:** Doporučujeme, abyste u přístroje počkali, dokud nebude zobrazení dokončené.

- Nastavení rozboru začne automaticky po dokončení přípravy vzorku na přístroji QIASymphony SP.

## **19. Zkontrolujte čas konce série na QIASymphony AS, abyste vyjmuli stojan na rozbor.**

- Po skončení zobrazení QIASymphony AS se vypočítaný čas integrovaného běhu zobrazí v okně „Integrated Run Overview“ (přehled o integrovaném běhu). Maximální možná doba od konce běhu na QIASymphony AS do začátku běhu na přístroji Rotor-Gene Q je 30 minut. Zajistěte přenos stojanu s rozbořem na přístroj Rotor-Gene Q do 30 minut od ukončení běhu.

## **Vyjmutí stojanu s rozbořem a přenos dokumentu s výsledky**

### **20. Vyjměte sérii QIASymphony a stojan s rozbořem.**

- Otevřete zásuvky „Assays“ (rozbořy) a „Eluate and Reagents“ (eluáty a reagencie).
- Vyjměte adaptér se zkumavkami a uzavřete je příslušným uzávěrem.
- Stiskněte slot 5 „Assay“ (rozbor).
- Stiskněte tlačítko „Remove“ (vyjmout).

- Vyměňte reagenční adaptér a v souladu s místními bezpečnostními nařízeními reagentie vyhodte.
- Stiskněte slot 3 „Reagent“ (reagentie).
- Stiskněte tlačítko „Remove“ (vyjmout).
- Zavřete zásuvky „Assays“ (rozbory) a „Eluate and Reagents“ (eluáty a reagentie).
- Pro zahájení zobrazovacího dialogu klikněte na „Scan“.
- Pro zobrazení obsahu adaptérů nalevo a napravo (obvykle je vybráno předem) stiskněte „Scan“.
- Pro vyjmutí integrovaného běhu stiskněte tlačítko „Integrated Batch“ (integrovaná série) (zelené).
- Přečtěte si zprávu a potvrďte ji.
- Vytvoří se finální dokument s výsledky z QIASymphony AS, který je možné přenést přes USB nebo přes QMC do určené složky (\log\Results\AS).

**21. Přeneste dokument s výsledky do určené složky. Při přenosu přes USB se řiďte krokem 21a. Při přenosu přes QMC se řiďte krokem 21b.**

**21a. Přenos dokumentu s výsledky přes USB.**

- Vložte USB.
- Vyberte „Tools“ (nástroje).
- Vyberte „File Transfer“ (přenos dokumentu).
- Ve sloupci „Save to USB“ (uložit na USB) vyberte „Result Files“ (dokumenty s výsledky).
- Stiskněte tlačítko „Transfer“ (Přenos).
- Přečtěte si zprávu a potvrďte ji.
- Po úspěšném přenosu stiskněte „OK“ a vyjměte USB.
- Pokračujte k „Protokol: PCR na přístroji Rotor-Gene Q“, strana 28.

**21b. Přenos dokumentu s výsledky přes QMC.**

- Přihlaste se do správného přístroje QIASymphony SP/AS.
- Vyberte ikonu s přenosem dokumentů.
- Zvolte formát „Result file AS“ (dokument s výsledky AS)
- Ze seznamu „Remote Site“ (v pravém sloupci) vyberte dokument s výsledky se správným časovým údajem a ID série.
- Přeneste dokument s výsledky do „Local Site“ (dokument se uloží stezkou definovanou v „Tools“, „Options“, „File Transfer“, pod \log\Results\AS).

**Poznámka:** Jestliže je v integrovaném běhu nakonfigurováno více sad na QIAAsymphony AS, ověřte volnou kapacitu odpadního sáčku na použité špičky a znovu vložte zásuvky QIAAsymphony AS, počínaje krokem 14.

■ Pokračujte k „Protokol: PCR na přístroji Rotor-Gene Q“, strana 28.

**Poznámka:** Doporučujeme označit uzávěry zkumavek, aby se zajistilo správné umístění, a použít chladič transportní rám, aby se zamezilo kontaminaci.

## Protokol: PCR na přístroji Rotor-Gene Q

### Důležité body před zahájením

- Před zahájením protokolu si najděte čas a seznámte se s přístrojem Rotor-Gene Q. Viz uživatelská příručka k přístroji.
- Rotor-Gene AssayManager umožňuje automatickou interpretaci výsledků PCR.
- Souprava *artus* GBS QS-RGQ musí být spuštěna na přístroji Rotor-Gene Q za použití automatizované interpretace výsledků Rotor-Gene AssayManager. Parametry cyklu jsou pro běh uzavřeny.
- Stáhněte si aplikační balíček ze složky „Protocol Files“ v účtu katalogové stránky u *artus* GBS QS-RGQ Kit v části „Resources“ ([www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE](http://www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE)).
- Po instalaci napájení a importu profilu rozboru (viz „Kroky, které udělat před zahájením“ níže) může Rotor-Gene AssayManager použít informace poskytnuté dokumentem s výsledky QIASymphony AS a nastavit běh rozboru amplifikace pomocí polymerázové řetězové reakce ve skutečném čase a následnou automatizovanou interpretaci výsledků.
- Kvůli celkové bezpečnosti systému je nutné v uzavřeném módu aktivovat následující nastavení: „Material number required“ (vyžadováno číslo materiálu), „Valid expiry date required“ (vyžadováno datum expirace) a „Lot number required“ (vyžadováno číslo lotu). (Ve složce „Configuration“ (konfigurace), „Settings“ (nastavení), „Global settings“ (souhrnné nastavení), „Work List“ (pracovní soupis). Pro přístup do „Configuration“ je požadována uživatelská role „Administrator“).

### Kroky, které je nutné udělat před zahájením

- Pro automatickou interpretaci výsledků za použití soupravy *artus* GBS QS-RGQ s Rotor-Gene AssayManager musí být do vaše Rotor-Gene AssayManager nainstalována nejnovější verze napájení *artus* Basic plug-in.  
Instalaci zahájíte dvojitým kliknutím na **ArtusBasic.Installation.msi**.  
Řiďte se pokyny. Detailní popis naleznete v „Installing Plug-ins“ (instalace napájení) (viz uživatelská příručka *Rotor-Gene AssayManager Core Application*).
- Pro použití vzorků LIM bujónu u *artus* GBS QS-RGQ musí být do Rotor-Gene Assay Manager importována složka **AP\_artus\_GBS\_broth200\_QS\_V1\_0\_x.iap**. Pro import profilu rozboru do Rotor-Gene AssayManager vstupte do „Configuration“ a změňte účet „Assay Profile“ Klikněte na „Import“ a v dialogovém okně vyberte **AP\_artus\_GBS\_broth200\_QS\_V1\_0\_x.iap**. Klikněte na „Open“ (otevřít) a profil rozboru se nabídne a přidá do seznamu dostupných profilů.

**Poznámka:** Stejnou verzi profilu nemůžete importovat dvakrát.

## Postup

### 1. Připravte rotor a na přístroji Rotor-Gene Q zahajte běh.

- Na držák rotoru umístěte 72-Well Rotor.
- Naplňte rotor stripy se zkumavkami. Ujistěte se, že začínáte v umístění 1 a že stripy se zkumavkami plníte ve správném směru.
- Všechna nevyužitá umístění naplňte prázdnými stripy se zkumavkami s uzávěry.
- Připevněte těsnicí kroužek.
- Naložte rotor a těsnicí kroužek do přístroje Rotor-Gene Q.
- Pokud data přenášíte na USB přímo z QIASymphony SP/AS, rozbalte s výsledky z QIASymphony AS. Dokumenty s výsledky jsou uloženy pod \log\Results\AS.

**Poznámka:** Na většině počítačů dokumenty rozbalíte kliknutím pravým tlačítkem myši na dokument a poté v menu, které se otevře, kliknete na „Extract“. Aby bylo možné dokumenty importovat do Rotor-Gene AssayManager, musí být rozbalené.

- Spustíte Rotor-Gene AssayManager.
- Přihlaste se do uzavřeného módu.
- Pokud již není předem zvoleno, vyberte prostředí „Setup“.
- Na spodní straně okna importujte dokument s výsledky QIASymphony AS. Zvolte zdroj „QIASymphony“ jako „Import type“ (typ importu).
- V dialogu „Select file“ (vyberte dokument) otevřete příslušný dokument s výsledky QIASymphony AS a klikněte na „Open“ (otevřít).
- Přečtěte si zprávu a potvrďte ji.
- Po úspěšném importu vyberte z řídicího programu odpovídající pracovní soupis a klikněte na „Apply“ (použít).
- Zadejte jméno pokusu.
- V dialogu „Cycler selection“ (výběr cykleru) vyberte, který cykler chcete použít.
- Zkontrolujte upevnění těsnicího kroužku a na obrazovce potvrďte, že je připevněn správně.
- Zavřete víko přístroje Rotor-Gene Q.
- Klikněte na „Start run“ (začít běh).

**Poznámka:** Pokud používáte mnohonásobné běhy, změňte příslušné prostředí cykleru, abyste viděli průběh běhu.

- Po skončení běhu klikněte na „Finish run...” (dokončit běh).
- Uživatelé přihlášení jako Operator: Klikněte na „Release“ (vydat).
- Uživatelé přihlášení jako Approver: Klikněte na „Release and go to approval“ (vydat a přejít ke schválení).

## 2. Vydat a podat zprávu o výsledcích.

- Pokud jste dříve klikli na „Release“ (vydat), vyberte nyní „Approval“ (schválení).
- Stiskněte „Apply filter“ (použít filtr) (nebo předem vyberte vlastní možnosti filtrů).
- Vyberte pokus.
- Stiskněte "Start Approval" (začít schvalování).
- Schvalte výsledky všech vzorků. U vzorků, jejichž výsledky analyzoval Rotor-Gene AssayManager a s nimiž souhlasíte, stiskněte tlačítko „Accepted“ (přijato). Pokud z jakéhokoli důvodu není výsledek zhodnocený Rotor-Gene AssayManager přijatelný, stiskněte tlačítko „Rejected“ (odmítnuto).

**Poznámka:** Výsledek, který Rotor-Gene AssayManager automaticky vyhodnotil jako „Invalid“ (neplatný) již není možné změnit na platný, i přesto, že byl odmítnut.

- Volitelné: Vložte komentáře.
- Klikněte na „Release/report data“ (vydat data/podat zprávu o datech)
- Vyberte profil zprávy a stiskněte „OK“. Zpráva se automaticky vygeneruje a uloží.

**Poznámka:** K vydání rozboru musí mít uživatel schvalovací práva.

- Vyjměte přístroj Rotor-Gene Q a v souladu s místními bezpečnostními nařízeními stripy se zkumavkami vyhodte.

## 3. Provedte údržbu.

- Po skončení všech sérií QIASymphony AS na integrovaném běhu QIASymphony SP/AS proveďte pravidelnou údržbu podle uživatelské příručky QIASymphony SP/AS - Obecný popis (*QIASymphony SP/AS User Manual — General Description*).

**Poznámka:** Údržbu můžete v souladu s místními předpisy nebo prioritami provést kdykoliv před začátkem dalšího integrovaného běhu.

- Preventivní údržbu provádějte denně, týdně a ročně tak, jak ji popisuje uživatelská příručka QIASymphony SP/AS - obecný popis (*QIASymphony SP/AS User Manual — General Description*).

## Interpretace výsledků

Tato část popisuje interpretaci výsledků na přístroji Rotor-Gene Q. Kvůli analýze kompletního zpracování vzorků zkontrolujte také status vzorků v dokumentu s výsledky z QIASymphony SP/AS. Použity mohou být pouze vzorky s platným statutem.

Profil soupravy *artus* GBS QS-RGQ Kit zahrnuje pravidla pro analyzování vzorku a pozitivní/negativní kontrolu. Výsledky zpracovává automaticky.

U každého vzorku a každé kontroly zobrazuje pro každý cíl samostatný výsledek: GBS a interní kontrola. Všechny výsledky jsou nahlášeny jako „signal detected“ (signál zachycen), „no signal“ (signál nezachycen) nebo „INVALID“.

Výsledky pozitivní/negativní kontroly:

- K potvrzení úspěšnosti statutu rozboru a ohlášení výsledků testu musí být všechny cíle pozitivní kontroly („Positive Control“) a negativní kontroly („Negative Control“) platné. Pokud je některý z cílů pozitivní nebo negativní kontroly neplatný, výsledky všech vzorků v běhu se zobrazí jako „INVALID“. Celý rozbor musí proběhnout znovu.
- Pozitivní kontrola musí u výsledků GBS a interní kontroly nahlásit „Signal detected“.
- Negativní kontrola musí u výsledku interní kontroly nahlásit „Signal detected“ a u výsledku specifikovaných cílů nahlásit „No signal“.

Výsledky vzorků:

- Výsledky interpretace výsledků viz Tabulka 6.
- Pokud je cíl zaznamenán, vzorek je považován za pozitivní na GBS.
- U vzorků, ve kterých není zachycen signál GBS, musí být zaznamenán signál interní kontroly. Pokud není u vzorků, ve kterých není zachycen signál GBS, zaznamenán signál interní kontroly nebo je „INVALID“, všechny cíle vzorků se zobrazí jako „INVALID“. Vzorek musí být testován znovu.
- U vzorků, ve kterých je signál GBS zachycen, může být cíl interní kontroly označen jako „No signal“ (signál nezachycen) nebo „INVALID“. V těchto případech budou nahlášeny všechny cíle vzorku. Další testování není nutné.
- **Poznámka:** Očekává se, že u některých vzorků může být interní kontrola PCR kvůli konkurenci v amplifikování GBS potlačena, což v interní kontrole povede k výsledkům „No signal“ nebo „INVALID“.
- U některých vzorků může být výsledek GBS nhlášen jako „INVALID“. V takových případech se doporučuje vzorek znovu testovat.

- Pokud je cíl GBS nahlášen jako „INVALID“ a návěští (Flag) hlásí CT\_ABOVE\_ACCEPTED\_RANGE, nemusí být tento vzorek znovu testován, a pokud je interní kontrola validní, je označen jako „No signal“.

**Tabulka 6. Shrnutí interpretace výsledků**

GBS	Výsledek cíle		Výsledek vzorku	Ve vzorku zjištěny GBS
	Interní kontrola			
Signál detected	Signal detected/ No signal/ INVALID		Platný	Ano
No signal	Signal detected		Platný	Ne
No signal	No signal/INVALID		Neplatný	Chyba, testujte znovu
INVALID*	Signal detected/ No signal/ INVALID		Platný nebo neplatný	Chyba, testujte znovu

\*Pokud je cíl GBS nahlášen jako neplatný a návěští (Flag) hlásí CT\_ABOVE\_ACCEPTED\_RANGE, nemusí být tento vzorek znovu testován, a pokud je interní kontrola validní, je označen jako „No signal“ (signál nezachycen).

Tato automatická analýza může ukázat následující příslušná návěští:

Návěští	Reakce	Popis
ASSAY_INVALID	Neplatný	Rozbor je neplatný, protože minimálně jedna externí kontrola je neplatná.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Neplatný	Zjištěná hodnota $C_T$ je vyšší než definovaná hraniční hodnota $C_T$ (viz výše).
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Neplatný	Zjištěná hodnota $C_T$ je nižší než definovaná hraniční hodnota $C_T$ .
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Neplatný	Amplifikační křivka primárních dat má tvar, který vykazuje odchylku od reakce zjištěné v tomto rozboru. Existuje vysoká pravděpodobnost, že výsledek bude nesprávný nebo bude špatně interpretován.



Návěští	Reakce	Popis
FLAT_BUMP	Neplatný	Amplifikační křivka má rovný tvar, který vykazuje odchylku od reakce zjištěné v tomto rozboru. Existuje vysoká pravděpodobnost, že výsledek bude nesprávný nebo bude špatně interpretován (nesprávné určení hodnoty $C_T$ ).
IC_INVALID	Neplatný	Interní kontrola je neplatná. Cíl a interní kontrola mají stejnou zkumavku.
IC_NO_SIGNAL	Neplatný	Nebyl zachycen signál interní kontroly. Cíl a interní kontrola mají stejnou zkumavku.
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	Neplatný	Amplifikační křivka více než jednou překračuje práh. Není možné určit jednoznačnou $C_T$ hodnotu.
NO_CT_DETECTED	Neplatný	Pro cíl je zaznamenána hodnota $C_T$ .
NORM_FACTOR_ALTERATION	Varování	Kvůli nízkému signálu není možné křivku správně normalizovat.  <b>Poznámka:</b> Pokud je platný vzorek označen tímto návěštím, schvalovatel by měl před přijetím nebo odmítnutím výsledku těmito informacím věnovat speciální pozornost.
OTHER_TARGET_INVALID	Neplatný	Další cíl stejného vzorku je neplatný.
SATURATION	Neplatný	V primárních datech fluorescence silně saturuje před ohybem amplifikační křivky.

Návěští	Reakce	Popis
SATURATION_ IN_PLATEAU	Varování	V primárních datech fluorescence saturuje v rovné části amplifikační křivky.  <b>Poznámka:</b> Pokud je platný vzorek označen tímto návěštím, schvalovatel by měl před přijetím nebo odmítnutím výsledku těmito informacím věnovat speciální pozornost.
SPIKE	Proměnlivý	V primárních datech o fluorescenci je její vrchol zaznamenán v amplifikační křivce, ale mimo oblast, ve které je určena hladina $C_T$ .
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Neplatný	Vrchol je zaznamenán v amplifikační křivce blízko hodnoty $C_T$ .
STEEP_BASELINE	Neplatný	Strmě stoupající základní linie primárních dat o fluorescenci je zaznamenána v amplifikační křivce.
STRONG_BASELINE_DIP	Neplatný	V amplifikační křivce je zaznamenán strmý pokles základní linie primárních dat o fluorescenci.
STRONG_NOISE	Neplatný	V amplifikační křivce je zaznamenán výrazný šum mimo růstovou (exponenciální) fázi.
STRONG_NOISE_ IN_GROWTH_PHASE	Neplatný	V amplifikační křivce je zaznamenán výrazný šum v růstové (exponenciální) fázi.
UNCERTAIN	Neplatný	Výsledky z automatického čtení dat (AUDAS) jsou v rozporu s výsledky hlavní analýzy. Není možné provést jednostranné automatické hodnocení dat.

Návěští	Reakce	Popis
UPSTREAM	Proměnlivý	<p>Status vzorku byl předchozím procesem (např. QIA Symphony Assay Setup) změněn na neplatný nebo nejasný.</p> <p><b>Poznámka:</b> U „unclear” (nejasných) návěští z předchozích procesů je reakce Rotor-Gene Assay Manager definována v prostředí „Configuration“.</p> <p>U „invalid” (nejasných) návěští z předchozích procesů Rotor-Gene Assay Manager tyto vzorky vždy označí jako neplatné.</p>
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	Neplatný	<p>V amplifikační křivce je zaznamenána vlnitá základní linie primárních dat o fluorescenci.</p>

## Řešení problémů

V této kapitole naleznete užitečné informace, které Vám mohou pomoci při řešení případných problémů. Více informací lze získat také na internetové stránce naší technické podpory: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Vědečtí pracovníci z naší technické podpory vždy rádi zodpoví Vaše otázky ohledně údajů a protokolu v této příručce i obecně k technologiím pro přípravu vzorků a jejich analýzy (možnosti navázání kontaktu viz zadní strana nebo [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Komentáře a návrhy

---

#### Obecná manipulace

Chybová zpráva na  
dotykové obrazovce

Pokud se během integrovaného běhu objevila chybová zpráva, konzultujte uživatelskou příručku dodávanou s přístrojem.

#### Precipitáty ve vaničkách s reagensiemi otevřeného zásobníku soupravy QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kit

a) Odpařování pufru

Nadměrné odpařování může vést ke zvýšené koncentraci soli nebo ke snížené koncentraci alkoholu v pufrech. Zlikvidujte zásobník s reagensiemi (RC). Pokud je nepoužíváte při purifikaci, ujistěte se, že jste uzavřeli vaničky s pufrů částečně použitých zásobníků s reagensiemi (RC) pomocí opětovně použitelných uzavíracích proužků.

b) Uchovávání zásobníků  
s reagensiemi (RC)

Skládování zásobníků s reagensiemi (RC) při teplotách nižších než 15 °C může vést k tvorbě precipitátů. V případě potřeby vyjměte vaničky obsahující pufrы QSL2 a QSB1 ze zásobníku s reagensiemi (RC) a inkubujte je po dobu 30 minut ve vodní lázni\* při teplotě 37 °C za občasného třepání, aby se precipitát rozpustil. Ujistěte se, že jsou vaničky znovu umístěny do správných pozic. Pokud je zásobník s reagensiemi (RC) již propíchnut, ujistěte se, že jsou vaničky zapečetěny pomocí opětovně použitelných uzavíracích proužků a inkubujte celý zásobník s reagensiemi (RC) po dobu 30 minut ve vodní lázni\* při teplotě 37 °C za občasného třepání.

\* Ujistěte se, že byly přístroje kontrolovány, udržovány a pravidelně kalibrovány podle doporučení výrobce.

### Nízký výtěžek nukleových kyselin

- |  |  |
|--|--|
| a) Magnetické částice nebyly plně resuspendovány                   | Před začátkem procedury se ujistěte, že jsou magnetické částice plně resuspendovány. Před použitím je minimálně 3 minuty vortexujte.   |
| b) Zmrazené vzorky nebyly po rozmrazení důkladně promíchány        | Rozmrazte zmrazené vzorky pomocí jemného třepání, aby se zajistilo důkladné promíchání.  |
| c) Nebyl přidán nosič RNA (CARRIER)                                | Rekonstituujte nosič RNA (CARRIER) v AVE pufru (AVE) a smíchejte se správným množstvím AVE pufru (AVE), jak je popsáno v kapitole „Příprava nosiče RNA (CARRIER) a interní kontrola (GBS Internal Control), strana 12. Zopakujte purifikační proceduru s novými vzorky.  |
| d) Degradace nukleových kyselin                                    | Vzorky byly nesprávně uchovávány nebo podrobeny příliš mnoha rozmrazovacím/zmrazovacím cyklům. Zopakujte purifikační proceduru s novými vzorky.  |
| e) Neúplná lýza vzorků   | Před použitím zkontrolujte, zda pufrы QSL2 a QSB1 neobsahují precipitát. V případě potřeby vyjměte vaničky obsahující pufrы QSL1 a QSB1 ze zásobníku s reagensy (RC) a inkubujte je po dobu 30 minut při teplotě 37 °C za občasného třepání, aby se precipitát rozpustil. Pokud je zásobník s reagensy (RC) již propíchnut, ujistěte se, že jsou vaničky utěsněny pomocí opakovaně použitelných uzavíracích proužků a inkubujte celý zásobník s reagensy (RC) ve vodní lázni po dobu 30 minut při teplotě 37 °C za občasného třepání.* |
| f) Ucpávání pipetovacích špiček v důsledku nerozpustného materiálu | Ze vzorků nebyl před začátkem QIASymphony purifikační procedury vyjmut nerozpustný materiál. Pro vyjmutí nerozpustného materiálu pro bakteriální aplikace centrifugujte vzorek 1 minutu při 3 000 x g a přeneste supernatant do nové zkumavky na vzorky.   |

\* Ujistěte se, že byly přístroje kontrolovány, udržovány a pravidelně kalibrovány podle doporučení výrobce.

## Komentáře a návrhy

---

### QIASymphony AS detekuje nedostatek Masteru

Nedostatek Masteru je přenesen do zkumavky.

Před použitím smíchejte obsah příslušného GBS Masteru A v jedné zkumavce. Před použitím smíchejte obsah příslušného GBS Masteru B v jedné zkumavce. S viskózními reagensy může být obtížné manipulovat pomocí manuálních pipet. Ujistěte se, že byl do zkumavky převeden celý objem Master.

Pokud se u viskózních reagensů používají manuální pipety, doporučujeme nasátí dodatečného objemu o 5 % (např. nastavte pipety na 840 µl pro objem o 800 µl).

Alternativě lze po pomalém nadávkování tekutiny a ofouknutí u stěny cílové zkumavky vyjmout špičku z tekutiny, uvolnit píst pipety a počkat dalších 10 sekund. Zbytková tekutina vyteče špičkou a lze ji vyfouknout opětovným stisknutím pístu pipety. Použití špiček s filtrem v kvalitě vhodné pro PCR s označením „nízká retence“ může zlepšit výtěžek tekutiny.

### Pozitivní kontrola (GBS Positive Control) cílového GBS nemá signál

a) Chybná konfigurace PCR

Ujistěte se, že bylo nastavení analýzy provedeno správně a že byla použita správná sada parametrů analýzy. Popřípadě PCR zopakujte. Viz „Kontrolní sady analýzy a sady parametrů analýzy“, strana 14.

b) Podmínky uchovávání jednoho nebo více komponentů soupravy neodpovídají pokynům uvedeným v „Nakládání s reagensy a jejich uchovávání“ (strana 9)

Prosím zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagensů (viz štítek soupravy) a popřípadě použijte novou soupravu.

c) Souprava *artus* GBS QS-RGQ je po datu expirace.

Prosím zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagensů (viz štítek soupravy) a popřípadě použijte novou soupravu.

### **Slabý nebo chybějící signál interní kontroly negativního vzorku plazmy podrobeného purifikaci pomocí soupravy QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kit u cílové interní kontroly a současně chybějícího signálu cílového GBS.**

- |  |   |
|--|---|
| a) Podmínky PCR neodpovídají protokolu   | Zkontrolujte podmínky PCR (viz výše) a popřípadě PCR zopakujte s opraveným nastavením.  |
| b) Došlo k inhibici PCR  | Ujistěte se, že používáte validovanou izolační metodu (viz „Protokol: Izolace DNA a nastavení analýzy na přístroji QIA Symphony SP/AS“, strana 15) a držte se přesně pokynů.  |
| c) Během extrakce došlo k úbytku DNA   | <p>Nepřítomnost signálu interní kontroly může znamenat úbytek DNA během extrakce. Ujistěte se, že používáte validovanou izolační metodu (viz „Protokol: Izolace DNA a nastavení analýzy na přístroji QIA Symphony SP/AS“, strana 15) a držte se přesně pokynů.</p> <p>Viz také „Nízký výtěžek nukleových kyselin“ výše.</p> |
| d) Podmínky uchovávání jednoho nebo více komponentů soupravy neodpovídají pokynům uvedeným v „Reagent Storage and Handling“ (strana 9) | Prosím zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagensů (viz štítek soupravy) a popřípadě použijte novou soupravu.   |
| e) Souprava <i>artus</i> GBS QS-RGQ je po datu expirace.   | Prosím zkontrolujte jak podmínky uchovávání, tak i dobu použitelnosti reagensů (viz štítek soupravy) a popřípadě použijte novou soupravu.   |

### **Signály u negativních kontrol v cílovém GBS analytického PCR.**

- |  |   |
|--|---|
| a) Během přípravy PCR došlo ke kontaminaci | <p>Zopakujte PCR v replikátech s novými reagensy.</p> <p>Uzavřete jednotlivé PCR zkumavky pokud možno ihned po vložení zkoumaného vzorku.</p> <p>Ujistěte se, že jsou pracovní plochy a přístroje pravidelně dekontaminovány.</p> |
|--|---|

## Komentáře a návrhy

---

- |  |   |
|--|---|
| b) Během extrakce došlo ke kontaminaci | Zopakujte extrakci a PCR zkoumaných vzorků za užití nových reagensií.<br><br>Ujistěte se, že jsou pracovní plochy a přístroje pravidelně dekontaminovány. |
|--|---|

## Kontrola jakosti

V souladu se systémem managementu jakosti společnosti QIAGEN certifikovaným podle norem ISO byla každá šarže soupravy *artus* GBS QS-RGQ Kit testována podle předem stanovených specifikací, aby byla zaručena konzistentní jakost produktu .

## Omezení

Všechny reagensie se smí používat výhradně pro diagnostiku in vitro.

Souprava *artus* GBS QS-RGQ Kit smí být používána pracovníky laboratoře vyškolenými na používání QIA Symphony SP/AS, přístroje Rotor-Gene Q a Rotor-Gene AssayManager.

Produkt mohou používat pouze pracovníci, kteří jsou speciálně poučeni a vyškoleni v metodice diagnostiky in vitro. Jakékoliv získané diagnostické výsledky se musí interpretovat v kontextu ostatních klinických nebo laboratorních nálezů.

Přesné dodržování protokolu je bezpodmínečně nutné k dosažení optimálních výsledků PCR.

Dbejte na konec doby použitelnosti uvedený na balení a na štítcích jednotlivých komponent. Nepoužívejte komponenty s prošlou trvanlivostí.

V ojedinělých případech mohou mutace ve vysoce konzervovaných oblastech bakteriálního genomu, které jsou pokryty primery a/nebo sondami soupravy, vést k selhání detekce přítomnosti bakterie. Validita a účinnost testu jsou pravidelně kontrolovány.

## Charakteristiky chování

Viz [www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE](http://www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE) , kde jsou uvedeny výkonnostní charakteristiky soupravy *artus* EBV QS-RGQ Kit.

## Literatura

1. Fluegge, K. et al. (2006) Incidence and clinical presentation of invasive neonatal group B streptococcal infections in Germany. *Pediatrics*, **117**, e1139.



2. Centers for Disease Control and Prevention (USA). GBS Prevention in Newborns. <http://www.cdc.gov/groupbstrep/about/prevention.html>
3. Young, B.C., Dodge, L.E., Gupta, M., Rhee, J.S. and Hacker, M.R. (2011) Evaluation of a rapid, real-time intrapartum group B streptococcus assay. Am. J. Obstet. Gynecol. **205**, 372.

## Symboly

Na obalu a štítcích se mohou objevit následující symboly:



<N>

Obsahuje reagentie pro <N> reakcí



Použijte do



Prostředek zdravotnické techniky pro in vitro diagnostiku



Katalogové číslo



Číslo šarže



Číslo materiálu



Díly



Obsahuje



Počet



Mezinárodní číslo obchodní položky GTIN

Rn

R označuje revizi manuálu a n označuje revizní číslo.



Teplotní rozmezí



Výrobce



Další informace viz návod k použití



Upozornění



Master A



Master B



Interní kontrola



Pozitivní kontrola



Negativní kontrola

## Kontaktní informace

S žádostmi o technickou pomoc a další informace se prosím obračejte na naše centrum technické podpory [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support), zavolejte na číslo 00800-22-44-6000, případně kontaktujte jedno z oddělení technických služeb QIAGEN či místní distributory (seznam naleznete na zadní straně nebo na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Informace o způsobu objednávání

Produkt	Obsah	Kat. č.
<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit (72)	Pro 72 reakcí: 2 Mastery, pozitivní kontrola, interní kontrola, negativní kontrola	4572366
<b>QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit</b>		
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit	Pro 192 příprav (200 µl každá): obsahuje 2 zásobníky s reagensiemi a stojany na enzymy a příslušenství	937036
<b>Přístroje QIASymphony SP/AS</b>		
QIASymphony SP	QIASymphony modul pro přípravu vzorků: roční záruka na součástky a servis	9001297
QIASymphony AS	QIASymphony modul pro nastavení analýzy: roční záruka na součástky a servis	9001301
<b>Rotor-Gene Q</b>		
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Real-time PCR cyklér a analyzátor křivek tání s vysokým rozlišením (High Resolution Melt - HRM) s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, karmínový) plus HRM kanál, notebook, software, příslušenství: zahrnuje roční záruku na součástky a servis; nezahrnuje instalaci a školení	9002032
<b>Rotor-Gene AssayManager — pro běžné testování s přístroji Rotor-Gene Q and QIASymphony RGQ</b>		
Rotor-Gene AssayManager	Software pro běžné testování v kombinaci s přístroji Rotor-Gene Q a QIASymphony RGQ; jeden licenční software pro instalaci na jednom počítači	9022737
Rotor-Gene AssayManager (10)	Software pro běžné testování v kombinaci s přístroji Rotor-Gene Q a QIASymphony RGQ; multi-licenční software pro instalaci až na deseti počítačích	9022739

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro sadu QIAGEN nebo příručce uživatele. Manuály k produktům QIAGEN jsou dostupné na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) nebo na požádání u technického servisu QIAGEN nebo lokálního distributora.

Tato stránka byla úmyslně ponechána prázdná



Koupě tohoto produktu opravňuje kupujícího k jeho užití k provedení diagnostických služeb pro humánní in vitro diagnostiku. Není poskytnut žádný obecný patent nebo licence jiná než toto specifické právo užití vycházející z koupě.

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

*artus* GBS QS-RGQ Kit je diagnostická souprava označená značkou CE v souladu s evropskou směrnicí 98/79/ES o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro. Produkt není dostupný ve všech zemích.

#### **Omezený licenční souhlas pro soupravu *artus* GBS QS-RGQ Kit**

Použitím produktu vyjadřuje kupující nebo uživatel tohoto produktu souhlas s následujícími podmínkami:

1. Tento produkt může být používán pouze v souladu s protokoly, které jsou součástí produktu a této příručky a pouze pro použití s komponenty obsaženými v soupravě. QIAGEN neuděluje žádnou licenci podle žádného svého práva k duševnímu majetku na používání přiložených komponent této sady s jakýmkoliv komponenty, které nejsou součástí této soupravy, s výjimkami popsány v protokolech dodávaných s produktem, v této příručce a v dalších protokolech dostupných na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Některé z těchto dalších protokolů byly poskytnuty uživateli společnosti QIAGEN dalším uživatelům QIAGEN. Tyto protokoly nebyly společností QIAGEN podrobně testovány ani optimalizovány. Společnost za ně neručí ani neposkytuje záruky za to, že nebudou porušovat práva třetích stran.
2. Mimo výslovně uvedené licence QIAGEN neposkytuje žádnou záruku, že tato souprava a/nebo její použití neporušuje práva třetích stran.
3. Tato souprava a její komponenty jsou licencovány pro jedno použití a nesmí být znovu použity, obnoveny či znovu prodány.
4. QIAGEN zvláště vylučuje odpovědnost za jakékoliv jiné licence, vyjádřené či implikované, než výslovně uvedené.
5. Kupující a uživatel soupravy souhlasí s tím, že nepodnikne nebo nikomu neumožní podniknout kroky, které by mohly vést nebo usnadnit zakázané úkony uvedené výše. QIAGEN může zákazy tohoto Omezeného licenčního ujednání prosadit u každého soudu a vyžadovat úhradu všech vyšetřovacích a soudních poplatků, vč. poplatků za advokáta, v rámci jakéhokoli postupu k prosazení tohoto Omezeného licenčního ujednání nebo jakýchkoliv jiných práv duševního vlastnictví vztahujících se na tuto soupravu a/nebo její komponenty.

Pro aktualizovanou licenční ustanovení viz [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2015 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

---

**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

