



Cobas Amplicor – pracovní manuál

1. COBAS AMPLICOR- stručný popis systému	3
PCR (polymerase chain reaction).....	3
Cobas Amplicor®	3
2. COBAS AMPLICOR Systém – rutinní provoz.....	4
2.1. Denní údržba	4
2.2 Příprava Reagencií.....	4
2.3 Vložení reagenčních kazet do racku	5
2.4 Vložení racků s reagenciemi na pracovní plochu	6
2.5 Uložení A-ringů	6
2.6 Objednávka pracovního listu pro A-ring.....	7
2.7 . Volba způsobu práce.....	8
2.8 Start zpracování	8
2.9 Správa výsledků.....	8
3. COBAS AMPLICOR Systém – promývání, start a stop	9
3.1. Promývání	9
3.1.1 Normální promytí.....	9
3.1.2 Prodloužené promývání.....	9
3.2 Start	10
3.3 Stop	10
4. Vývojový diagram kontroly vložených reagencí.....	11

1. COBAS AMPLICOR- stručný popis systému

PCR (polymerase chain reaction)

PCR technologie je vysoce citlivá a rychlá metoda pro diagnostiku a monitorování infekčních onemocnění.

Metodou PCR je možné v rutinní laboratoři rychle a exponenciálně pomnožit úsek genetického materiálu původců infekčních chorob a následně je specificky prokázat.

Na testování je možné použít testy Cobas Amplicor® PCR.

Cobas Amplicor®

Cobas Amplicor® je první automatický analyzátor, v kterém se automaticky provádí amplifikace a detekce v jednom integrovaném systému.

Spolehlivé a přesné výsledky jsou k dispozici během 4 – 6 hodin.

Připravené vzorky se umístí do přístroje, zvolí se požadovaný test a automatický běh amplifikace a detekce se spustí stisknutím tlačítka.

Kontaminace vzorků je minimalizována uzavřenými reakčními nádobkami, které se používají pro amplifikaci a použitím enzymu AmpErase (uracil-N-glykozyláza). Interní kontrola eliminuje falešně negativní výsledky.

Z jednoho vzorku po amplifikaci lze provést až 6 různých stanovení.

Nabídka testů pro Cobas Amplicor®

COBAS AMPLICOR® HCV
COBAS AMPLICOR® HCV Monitor
COBAS AMPLICOR® HIV-1 Monitor (RNA)
COBAS AMPLICOR® HBV Monitor
COBAS AMPLICOR® CMV Monitor
COBAS AMPLICOR® *C. trachomatis*
COBAS AMPLICOR® *N.gonorrhoeae*
COBAS AMPLICOR® *M.tuberculosis*

COBAS AmpliScreen® HCV
COBAS AmpliScreen® HIV-1

2. COBAS AMPLICOR Systém – rutinní provoz

2.1. Denní údržba

1. Očistit inicializační pozici.
2. Očistit chňapku detekčních kalíšků.
3. Zkontrolovat a doplnit zásobník promývacího pufu.
4. Zkontrolovat a vyprázdnit kontejner na odpad.
5. Promýt analyzátor, „normal“, nebo „extended“. (Provést „extended“ promytí, pokud byl zásobník promývacího pufu v kroku 3 doplněn.)
6. Během promývání kontrolovat stříkačky, hadičky a blok ventilů, zda-li nejsou viditelné změny zbarvení, vzduchové bubliny, úlomky a nebo vytékání.
7. Zkontrolovat pipetovací jehlu, zda-li z ní neodkapává tekutina.
8. Zkontrolovat, zda-li je zapnutá tiskárna a její stav.

2.2 Příprava Reagencií

1. Opakovaně stláčet LOAD, dokud se na displeji nezobrazí L_RCass.
2. Opakovaně stláčet NEXT, dokud se na displeji nezobrazí požadovaný rack.
3. Stisknout PRINT pro tisk přehledu obsahu každého reagenčního racku.
4. Připravit dostatek reagenčních kazet.

Test-specifické reagentie:

- Suspenze cílové specifické sondy (100 kvalitativních testů, 24 specifických kvantitativních stanovení)
 1. Vortexovat suspenzi sondy 1.
 2. Přenést 2.5 ml suspenze sondy 1 do kazety obsahující suspenzi sondy 2.
 3. Nemíchat.
- Ředící reagentie amplikonu: Připravená na použití (24 kvantitativních stanovení)
- Interní kontrola/Suspenze sondy kvantitativní standardy (100 kvalitativních testů, nebo 48 stanovení kvantitativní standardy (QS)).

Generické reagentie:

- Substrát (75 kvalitativních testů, nebo 12 kvantitativních stanovení)
 1. Pipetovat 5 ml substrátu B (SB) do kazety obsahující substrát (SB3).
 2. Důkladně promíchat pipetováním.
- Konjugát (připravený na použití, 100 kvalitativních testů, nebo 16 kvantitativních stanovení)
- Denaturační roztok (připravený na použití, 100 testů).

2.3 Vložení reagenčních kazet do racku

1. Opakovaně stlačet LOAD, dokud se na displeji nezobrazí L_RCass.
2. Stlačte EDIT.
3. Vložte ID č. racku pomocí čtečky čárového kódu , nebo klávesnice. Pokud používáte klávesnici, stlačte ENTER.
4. Pokud jde o nový rack, objeví se zpráva New File. Stlačte ENTER.
5. Stlačte STEP kvůli volbě typu racku. Stlačte ENTER.
6. Vložte pozici kazety na racku pomocí čtečky čárového kódu, nebo klávesnice. Pokud používáte klávesnici, stlačte ENTER.
7. Načtěte ID č. pomocí čtečky čárového kódu z reagenční kazety. Pokud používáte klávesnici, stlačte ENTER.
8. Opakujte kroky 6-7 pro každou kazetu v racku.
9. Stlačte PRINT, pro tisk.
10. Stlačte ESCAPE pro uložení.

2.4 Vložení racků s reagenčními na pracovní plochu

1. Stlačte LOAD dokud se nezobrazí L-RRack.
2. Stlačte EDIT.
3. Stlačte ENTER dokud se nepřesune kurzor do požadované pozice (loc1, loc2, a nebo generics).
4. Vložte ID č. racku pro každou pozici pomocí čtečky čárového kódu, nebo klávesnice. Pokud používáte klávesnici, stlačte ENTER.
5. Opakujte kroky 3-4 pro každý reagenční rack.
6. Stlačte ESCAPE pro uložení..

Vymazat:

1. *Současně stlačte SHIFT a 0, abyste vymazali pole.*
2. *Současně stlačte SHIFT a ←**SPACE** abyste vymazali celý reagenční rack.*

2.5 Uložení A-ringů

1. Vložte A-ring požadované pozice (TCA, TCB, DP1, alebo DP2).
2. Opakovaně stlačte LOAD, dokud se na displeji nezobrazí L-ARing.
3. Stlačte EDIT.
4. Stláčením ENTER zvolte požadovanou pozici.
5. Vložte ID č. A-ringů pomocí čtečky čárového kódu, nebo pomocí klávesnice. Pokud používáte klávesnici, stlačte ENTER.
6. Stlačte PRINT pro tisk.
7. Stlačte ESCAPE pro uložení vstupů.

2.6 Objednávka pracovního listu pro A-ring

1. Opakovaně stlačet LOAD, dokud se na displeji nezobrazí O-Entry.
2. Stlačte EDIT.
3. Vložte ID č. A-ringů pomocí čtečky čárového kódu anebo pomocí klávesnice. Pokud používáte klávesnici, stlačte ENTER.
4. Objeví se zpráva New Order. Stlačte ENTER.
5. Nepovinné: Vložte ID č. profilu.
6. Stlačte ENTER.
7. Nepovinné: Vložte ID č. vzorku pro první zkumavku A-ringů. Stlačte ENTER. (Pokud zpracováváte profil přeskočte kroky 7-9.)
8. Stláčením STEP zvolte typ vzorku: (C) kontrola, (S) vzorek. Stlačte ENTER.
9. A. U kontrol stláčením STEP zvolte typ kontroly (-, +, anebo #). Stlačte ENTER.

- (-) znamená negativní kontrolu
- (+) znamená kvalitativní pozitivní kontrolu a kvantitativní nízko pozitivní kontrolu
- (#) znamená kvantitativní vysoce pozitivní kontrolu

B. Pro kvalitativní vzorky, pro které požadujete reflexní testování, stláčením **STEP** zvolte možnost reflexního testování (*, +, anebo -). Stlačte **ENTER**.

- (*) znamená, že vybraný test je primárním testem.
- (+) znamená, že pokud je primární test pozitivní, vybraný reflexní test se automaticky vykoná.
- (-) znamená, že pokud je primární test negativní, vybraný reflexní test se automaticky vykoná.

Vymazat:

1. *Současně stlačte SHIFT a 0 abyste vymazali pole.*
2. *Současně stlačte SHIFT a SPACE abyste vymazali celý reagenční rack.*

C. Pro kvalitativní vzorek, pro který nepožadujete reflexní testování a pro kvantitativní vzorky stlačte **ENTER**.

1. Stláčením **STEP** zvolte test(y). Stlačte **ENTER**.
2. Stlačte **▶**. Opakujte kroky 6-10 pro každou A-zkumavku.
3. Pro kvantitativní testy (nahlédněte do QS Controls Data Card v kitu):
 - a. Stlačte **▶** dokud se neobjeví QS#.
 - b. Akceptujte, anebo vložte číslo QS kopií pro PCR reakci (QS#) pomocí čárového kódu, anebo pomocí klávesnice.
 - c. Akceptujte, anebo vložte rozpětí slabě (+) pozitivní kontroly (LPCLo, LPCHi).
 - d. Akceptujte, anebo vložte rozpětí vysoce (#) pozitivní kontroly (HPCLo, HPCLi).
4. Stlačte **PRINT** pro tisk.
5. Stlačte **ESCAPE** pro uložení.

2.7. Volba způsobu práce

1. Stlačtejte **SYSTEM** dokud se nezobrazí *SY-Config*.
2. Stlačte **1** System Set Up.
3. Stlačte **EDIT**.
4. Stláčením **STEP** zvolte Basic (-), anebo Parallel (=) způsob.
5. Stlačte **ESCAPE**.

2.8 Start zpracování

1. Zkontrolujte dostatek D-kalíšků.
2. Zkontrolujte, zda-li je dostatek promývacího pufru na celý run a že kontejner na odpad je prázdný.
3. Stlačte **START**.
4. Vyhodnoťte výtisk kontroly vložených reagensů..

2.9 Správa výsledků

Doporučuje se uvolnit výsledky v pravidelných intervalech, anebo po dosažení 500 výsledků.

1. Stlačtejte **RESULT** dokud se neobjeví *R-Treat*.
2. Stlačte **2** Result Management.
3. Stláčením **STEP** vyberte *Purge*.
4. Stlačte současně **SHIFT** a **ENTER**.

3. COBAS AMPLICOR Systém – promývání, start a stop

3.1. Promývání

3.1.1 Normální promytí

1. Stlačte SYSTEM dokud se nezobrazí *SY-Diag*.
2. Stlačení 2 zvolte Device Check.
3. Stlačení 1 zvolte Prime.
4. Stlačení START inicializuje promytí.*
5. Jakmile je promytí ukončené, stlačte ESCAPE . Analyzátor se automaticky ziniculuje.

3.1.2 Prodloužené promývání

1. Vypněte analyzátor.
2. Otevřete kryt TCB.
3. Zapněte analyzátor.
4. Stlačte SYSTEM dokud se nezobrazí *SY-Diag*.
5. Stlačení 2 zvolte Device Check.
6. Stlačení 1 zvolte Prime.
7. Použitím STEP v zvolte Extended.
8. Stlačte ESCAPE a zavřete kryt TCB čím se ziniculuje promývání.*
9. Promývání se ukončí automaticky.

* *V době promývání kontrolujte stříkačky, hadičky a blok ventilů, zda-li nejsou viditelné změny zbarvení, vzduchové bubliny, úlomky, nebo vytékání. Kontrolujte pipetovací jehlu a proplachovací výběžky, zda-li správně protéká pracovní promývací pufr.*

3.2 Start

Stlačte START. Analyzátor provede kontrolu vložených reagensů a prověří následující údaje:

- Reagenční kazety a objemy
- Objem pracovního promývacího pufru v zásobníku
- Objem odpadu v kontejneru na odpad
- Zda-li ID č. A-ringů odpovídá ID č. v požadavku
- Počet D-kalíšků
- Substrátový blank

3.3 Stop

Stlačte STOP , potom zvolte STEP pro výběr z následujících možností. Současně stlačte SHIFT a ENTER , až se zobrazí požadovaná možnost.

Stop Transfer

Během kontroly vložených reagensů – transportní mechanika dokončí úlohu dříve než se zastaví. Nedojde ke ztrátě testů a činnost termocykléru není ovlivněna.

Během běhu – pipetování nového vzorku je zastaveno; transportní mechanika přesto pokračuje, dokud nedokončí už rozpipetovaný test. Činnost termocykléru není ovlivněna.

Abort Transfer

Okamžitě zastaví činnost transportní mechaniky. Všechny rozpracované testy jsou ztraceny. Činnost termocykléru není ovlivněna.

Abort TCA – Je ukončena činnost TCA.

Abort TCB – Je ukončena činnost TCB.

4. Vývojový diagram kontroly vložených reagensů

VÝVOJOVÝ DIAGRAM KONTROLY VLOŽENÝCH REAGENCIÍ

