

Février 2018

# Fiche d'application du QIASymphony<sup>®</sup> RGQ

*artus*<sup>®</sup> HSV-1/2 QS-RGQ Kit  
(type d'échantillon : plasma)

R2

IVD

CE

REF

4500363

*artus* HSV-1/2 QS-RGQ Kit, version 1



Vérifier la disponibilité de nouvelles révisions des notices électroniques à l'adresse [www.qiagen.com/products/artushsv-12pcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushsv-12pcrkitce.aspx) avant de procéder à la réalisation des tests.

## Informations générales

Kit	<i>artus</i> HSV-1/2 QS-RGQ Kit, version 1 (référence 4500363)
Type d'échantillon validé	Plasma EDTA humain
Purification initiale	QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (référence 937055)
Volume d'échantillon (dont volume excédentaire)	1 200 µl
Jeu de paramètres d'analyse	<i>artus_HSV_plasma1000QL_V5</i>
Jeu de contrôles d'analyse par défaut	<i>Cellfree1000_V7_DSP_artus_HSV</i>
Volume d'éluion	60 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou supérieure
Volume du mélange principal	30 µl
Volume de matrice	20 µl
Nombre de réactions	4-24
Durée d'exécution sur le module AS	Pour 4 réactions : environ 9 minutes Pour 72 réactions : environ 35 minutes

# Matériel nécessaire, mais non fourni

## Kit de purification

- QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (référence 937055)

## Adaptateurs pour QIAasymphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, référence 9020730)
- Châssis de transfert
- Tube Insert 3B (élément d'insertion de tube 3B) (Insert, 2,0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, référence 9242083)

## Consommables pour l'instrument QIAasymphony SP

- Sample Prep Cartridges, 8-well (référence 997002)
- 8-Rod Covers (référence 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (référence 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (référence 990332)
- Elution Microtubes CL (référence 19588)
- Tip disposal bags (référence 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H ou Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubes Sarstedt®, références 72.693 et 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)) à utiliser avec les échantillons et contrôles internes

## Adaptateurs et supports pour réactif pour QIAasymphony AS

- Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, référence 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, référence 9018092)

## Consommables pour l'instrument QIAasymphony AS

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (référence 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (référence 997102) ou Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubes Sarstedt, référence 72.694.005)
- Éventuellement : Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (référence 997104) ou Tubes with flat base from PP (Sarstedt, référence 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (référence 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (référence 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (référence 997120)
- Tip disposal bags (référence 9013395)

## Stockage et manipulation des échantillons

Prélèvement de l'échantillon	Échantillon sanguin 5–10 ml de sang sur EDTA Mélanger 8x par retournement — pas d'agitation ! Ne pas utiliser d'échantillons héparinés.
Conservation des échantillons	Séparation : Centrifugation de 20 minutes, 800–1 600 x g dans les 24 heures suivant le prélèvement Transférer le plasma isolé dans un tube en polypropylène stérile Une congélation répétée ou une période de conservation des échantillons d'une durée excessive peut nuire à la sensibilité du test.
Transport des échantillons	Transport en récipient incassable Expédition dans les 24 heures Envoi postal conforme à la législation en vigueur en matière de transport d'agents pathogènes* Les échantillons sanguins doivent être expédiés sous forme réfrigérée (2 à 8 °C)
Substances interférentes	L'héparine ( $\geq 10$ UI/ml) peut nuire à la PCR. Ne pas utiliser d'échantillons prélevés dans des tubes contenant de l'héparine comme anticoagulant, ni d'échantillons provenant de patients traités par héparine.
Préparation des échantillons	Éviter la formation de mousse dans ou sur les échantillons Les échantillons doivent être équilibrés à température ambiante (15–25 °C) avant le démarrage du cycle.

\* International Air Transport Association (Association internationale du transport aérien, IATA). Dangerous Goods Regulations (Règlement sur le transport des matières dangereuses).

## Procédure

### Préparation d'ARN entraîneur et addition du contrôle interne aux échantillons

L'emploi du QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit associé au *artus* HSV-1/2 QS-RGQ Kit nécessite l'introduction du contrôle interne (HSV-1/2 RG IC) dans la procédure de purification afin de surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'analyse en aval.

Les contrôles internes doivent être ajoutés au mélange ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE) de manière à ce que le volume total reste de 120 µl.

Le tableau représente l'addition du contrôle interne à la solution d'isolement dans le rapport de 0,1 µl pour 1 µl de volume d'élution. Il est recommandé de préparer les mélanges nécessaires juste avant leur utilisation.

Sinon, l'outil « Calculateur d'IC » dans QIASymphony Management Console peut être utilisé.

Composant	Volume (µl) (tubes Sarstedt)*	Volume (µl) (tubes Corning)†
Solution mère d'ARN entraîneur (CARRIER)	5	5
Contrôle interne‡	9	9
Tampon AVE	106	106
Volume final par échantillon (hors volume mort)	120	120
Volume total pour n échantillons	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\P}$

\* Micro tubes 2.0 ml Type H et Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubes Sarstedt, références 72.693 et 72.694).

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Corning® Inc., réf. 352051 ; Becton Dickinson était le fournisseur précédent de ce tube et Corning Inc. Est désormais le nouveau fournisseur).

‡ On calcule la quantité de contrôle interne à partir des premiers volumes d'élution (90 µl). Le volume mort supplémentaire dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon.

§ Un mélange de contrôle interne correspondant à 3 échantillons supplémentaires (c'est-à-dire 360 µl) est requis. Ne pas remplir plus de 1,92 ml de volume total (ce qui correspond à 13 échantillons maximum). Ces volumes sont spécifiques aux Micro tubes 2.0 ml Type H et Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubes Sarstedt, références 72.693 et 72.694).

¶ Un mélange de contrôle interne correspondant à 5 échantillons supplémentaires (c'est-à-dire 600 µl) est requis. Ne pas remplir plus de 13,92 ml de volume total (ce qui correspond à 111 échantillons maximum). Ces volumes sont spécifiques aux Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom, Corning Inc., réf. 352051 ; Becton Dickinson était le fournisseur précédent de ce tube et Corning Inc. est désormais le nouveau fournisseur.

## Configuration du QIASymphony SP

### Tiroir « Waste » (Déchets)

Support de boîtes d'unité 1-4	Boîtes d'unités vides
Support pour sac poubelle	Sac poubelle
Support pour flacon à déchets liquides	Vider et installer la bouteille à déchets liquides

### Tiroir « Eluate » (Éluat)

Portoir d'éluat	Elution Microtubes CL sur Elution Microtube Rack QS et châssis de transfert Utiliser l'emplacement d'éluat réfrigéré 1
Volume d'éluat*	Volume d'éluat présélectionné : 60 µl Volume d'éluat initial : 90 µl

\* Le volume d'éluat est présélectionné pour le protocole. Il correspond au volume minimum accessible d'éluat dans le tube d'éluat final. Le volume initial de solution d'éluat est nécessaire pour que le volume d'éluat réel soit le même que le volume présélectionné.

### Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

RC, positions 1 et 2	Charger 1 cartouche de réactif (reagent cartridge, RC) pour 48 échantillons maximum ou 2 nouvelles cartouches de réactif (RC) pour 96 échantillons maximum
Support de portoir de cônes, positions 1 à 18	Charger suffisamment de portoirs de cônes à filtre jetables de 200 µl et 1 500 µl (voir « Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1-4 », page 7)
Support de boîtes d'unités, positions 1 à 4	Charger les boîtes d'unités contenant les cartouches de préparation d'échantillons et les 8-Rod Covers (voir « Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1-4 », page 7)

## Tiroir « Sample » (Échantillon)

Type d'échantillon	Plasma EDTA humain
Volume d'échantillon (dont volume excédentaire)	1 200 µl
Tubes d'échantillon	Micro tubes 2.0 ml Type H ou Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubes Sarstedt, références 72.693 et 72.694)
Élément d'insertion	Tube Insert 3B (référence 9242083)

## Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1–4

Composant	Un lot, 24 échantillons*	Deux lots, 48 échantillons*	Trois lots, 72 échantillons*	Quatre lots, 96 échantillons*
Cônes à filtre jetables, 200 µl <sup>†‡</sup>	30	54	78	102
Cônes à filtre jetables, 1 500 µl <sup>†‡</sup>	101	182	271	354
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	21	42	63	84
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* L'utilisation de plusieurs tubes de contrôle interne par lot et la réalisation de plusieurs inventaires nécessitent davantage de cônes munis de filtres jetables.

† Il y a 32 cônes à filtre par portoir de cônes.

‡ Le nombre requis de cônes à filtre correspond à 1 inventaire par cartouche de réactifs.

§ Il y a 28 cartouches de préparation des échantillons par boîte.

¶ Il y a douze manchons pour 8 barreaux/boîte.

## Configuration du QIASymphony AS

### Consommables

Lors de la configuration, les positions appropriées pour chaque consommable sur le module QIASymphony AS sont indiquées sur l'écran tactile de l'appareil.

Consommable	Nom sur l'écran tactile	À utiliser avec un adaptateur/ support pour réactif
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG Strip Tubes 72 QS
Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (500) <sup>††</sup>	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagent holder 1 QS
Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (500) <sup>††</sup>	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt <sup>§</sup>	Reagent holder 1 QS

\* Indique le matériel de laboratoire pouvant être réfrigéré en utilisant un support réfrigérant muni d'un code-barres.

<sup>†</sup> Pour les composants du mélange principal, le mélange principal préparé par le système, les étalons d'analyse et les contrôles d'analyse.

<sup>††</sup> Les tubes Sarstedt décrits dans la section « Matériel nécessaire, mais non fourni », page 3, peuvent également être utilisés.

<sup>§</sup> Le suffixe « (m) » sur l'écran tactile indique que les calculs du niveau de liquide pour le tube respectif ont été optimisés pour les réactifs formant un ménisque concave.

### Adaptateurs et supports pour réactif

Portoir/support pour réactif	Nom	Nombre requis <sup>¶</sup>
Supports pour réactifs	Reagent holder 1 QS	1
Portoirs à échantillons	RG Strip Tubes 72 QS	1

<sup>¶</sup> Calculé pour un cycle d'analyse comprenant 72 réactions.

### Pointes de filtres

Charger les portoirs de cônes en commençant par les emplacements 1, 2 et 3 du tiroir « Eluate and Reagents » (Éluats et réactifs) puis charger les portoirs de cônes dans les emplacement 7, 8 et 9 du tiroir « Assays » (Dosages).

Consommable	Nom sur l'écran tactile	Nombre minimal pour 24 réactions	Nombre minimal pour 72 réactions
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	1 500 µl	4	6
Filter-Tips, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Filter-Tips, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Tip Disposal Bags	–	1	1



## PCR sur Rotor-Gene Q \*

Veillez vous référer à la fiche de protocole spécifique au logiciel *Paramètres pour l'exécution des artus QS-RGQ Kits* (Settings to run artus QS-RGQ Kits) à l'adresse [www.qiagen.com/products/artushsv-12pcrkite.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushsv-12pcrkite.aspx) pour les détails du protocole.

### Réglages spécifiques pour le kit *artus* HSV-1/2 QS-RGQ

Les réglages spécifiques avec le logiciel Rotor-Gene® Q version 2.1 ou supérieure sont présentés ci-dessous.

Reaction Volume (Volume réactionnel) (µl)	50
Hold (Plateau)	Plateau de température : 95 degrés Durée du plateau : 10 minutes
Cycling (Cycle)	45 cycles 95 degrés pendant 15 secondes 65 degrés pendant 30 secondes (Acquire on Green (Acquisition au Green), Orange, Yellow et activer la fonction touchdown pour 10 cycles) 72 degrés pendant 20 secondes
Auto-Gain Optimisation Setup (Configuration de l'optimisation automatique de l'augmentation)	65 degrés (échantillons : Green, Orange ; IC : Yellow)

### Interprétation des résultats

Cette section décrit l'interprétation des résultats obtenus sur le Rotor-Gene Q. Étudier également les informations sur l'état de l'échantillon dans les fichiers de résultats du QIASymphony SP/AS pour une analyse de l'ensemble du flux de travail, de l'échantillon au résultat. Seuls des échantillons présentant un état valide doivent être utilisés.

Le *artus* HSV-1/2 QS-RGQ Kit peut être utilisé sur le Rotor-Gene Q en effectuant une analyse manuelle au moyen du logiciel Rotor-Gene Q 2.1 ou supérieur. Les sections suivantes décrivent l'interprétation des résultats en utilisant le logiciel Rotor-Gene Q 2.1 ou supérieur.

\* Le cas échéant, utiliser un appareil Rotor-Gene Q 5plex HRM avec une date de production de janvier 2010 ou ultérieure. La date de production peut être obtenue à partir du numéro de série à l'arrière de l'instrument. Le numéro de série présente le format « mmaannn », où « mm » désigne le mois de production en chiffres, « aa » les deux derniers chiffres de l'année de production et « nnn » l'identifiant d'instrument unique.

## Détection du signal et conclusions

Signal dans le canal Cycling Green	Signal dans le canal Cycling Orange	Signal dans le canal Cycling Yellow	Résultat	Interprétation
Oui	Non	Oui*	Positif	L'échantillon contient de l'ADN d'HSV-1. Aucun ADN d'HSV-2 n'est détectable.†
Non	Oui	Oui*	Positif	L'échantillon contient de l'ADN d'HSV-2. Aucun ADN d'HSV-1 n'est détectable.†
Oui	Oui	Oui*	Positif	L'échantillon contient de l'ADN d'HSV-1 et d'HSV-2.
Non	Non	Oui	Négatif	Aucun ADN d'HSV-1/2 n'est détectable.†
Non	Non	Non	Non concluant	Aucun résultat ne peut être établi.‡

\* Le signal est superflu, car des concentrations initiales élevées d'ADN d'HSV-1 et/ou d'HSV-2 peuvent entraîner la réduction ou la disparition du signal de fluorescence dans le canal Cycling Yellow (concurrence).

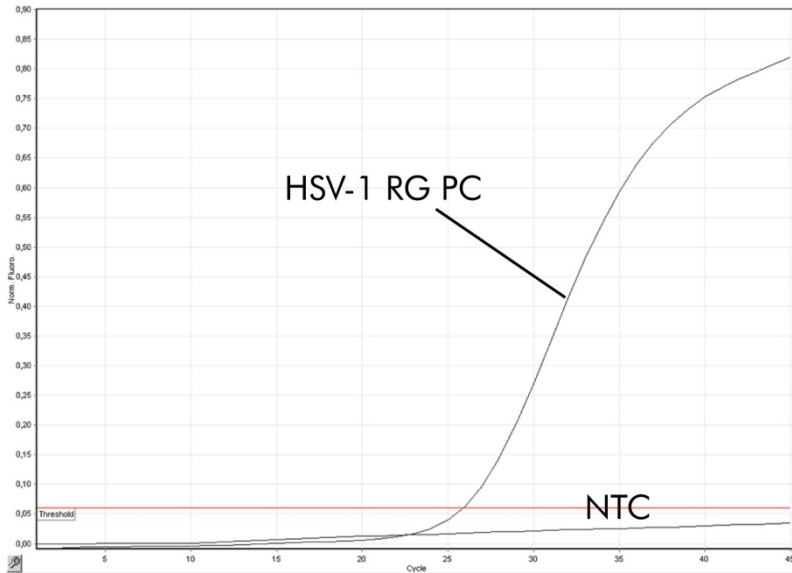
† Si la valeur  $C_T$  pour le contrôle interne d'un échantillon négatif dépasse de plus de 3 cycles la valeur  $C_T$  pour le contrôle interne du contrôle sans matrice dans le cycle ( $C_{T\text{IC Échantillon}} - C_{T\text{IC NTC}} > 3$ ), l'échantillon doit être considéré comme non valide. Aucun résultat ne peut être établi.

‡ Des informations sur les sources d'erreur et leur solution sont disponibles dans la section « Résolution des principaux problèmes rencontrés » du manuel du *artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit* (*artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit Handbook*).

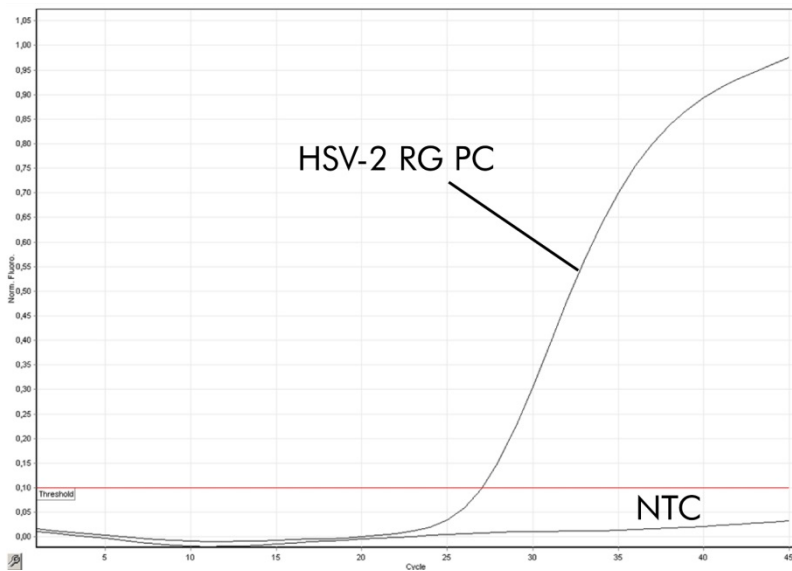
## Configuration du seuil pour l'analyse PCR

Il convient de définir empiriquement les paramètres du seuil optimal pour une combinaison appareil Rotor-Gene Q et *artus QS-RGQ Kit* en testant chaque combinaison différente, étant donné qu'il s'agit là d'une valeur relative dépendant du flux de travail diagnostique global. On peut fixer le seuil à une valeur préliminaire de 0,04 pour l'analyse du premier cycle de PCR, mais il faut réajuster cette valeur par une analyse comparative des cycles suivants du flux de travail. Le seuil doit être réglé manuellement juste au-dessus du signal de fond des contrôles négatifs et des échantillons négatifs. La valeur moyenne du seuil calculée à partir de ces expériences doit fonctionner pour la majorité des cycles suivants, mais l'utilisateur doit néanmoins revoir la valeur de seuil établie à intervalles réguliers. La valeur de seuil se situe généralement dans une plage de 0,03 à 0,05 et doit être arrondie à trois chiffres après la virgule au maximum.

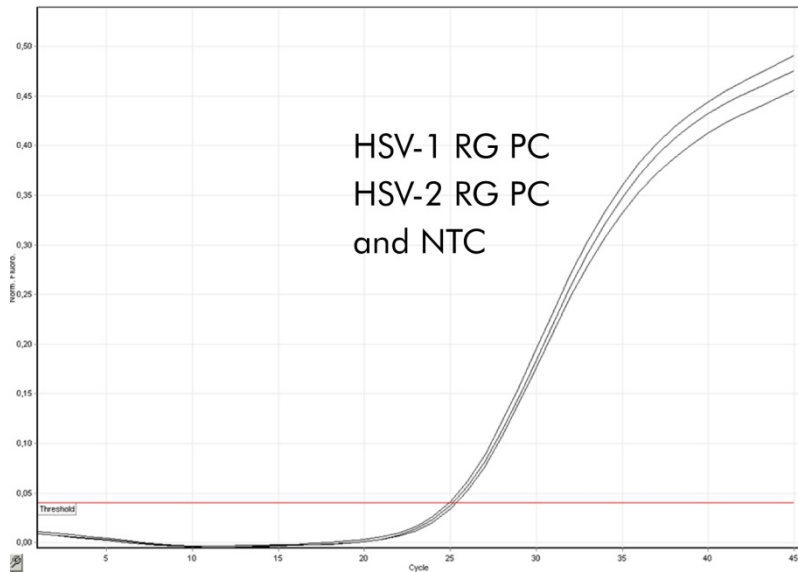
## Exemples de réactions de PCR positives et négatives



**Détection du contrôle positif d'HSV-1 (HSV-1 RG PC) dans le canal de fluorescence Cycling Green.**  
NTC : « No template control » (contrôle négatif).



**Détection du contrôle positif d'HSV-2 (HSV-2 RG PC) dans le canal de fluorescence Cycling Orange.**  
NTC : « No template control » (contrôle négatif).



**Détection du contrôle interne (internal control, IC) dans le canal de fluorescence Cycling Yellow avec amplification simultanée des contrôles positifs (HSV-1 RG PC et HSV-2 RG PC). NTC : « No template control » Contrôle sans matrice.**

### Historique des révisions du document

R2, février 2018	Suppression de la note de bas de page sur la configuration de 216 analyses. Changement pour les nouvelles versions des protocoles QIASymphony. Mise à jour du matériel requis pour configurer au maximum 72 réactions. Ajout d'informations sur l'utilisation de l'outil QMC « Calculateur d'IC ». Mise à jour du nom du matériel de laboratoire Corning (auparavant Becton Dickinson). Ajout de paramètres spécifiques à l'analyse pour Rotor-Gene Q (utilisation de la fonction touchdown, acquisitions). Suppression de la référence à Rotor-Gene AssayManager®.
------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Pour obtenir des informations actualisées et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des kits et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou peuvent être demandés auprès des services techniques QIAGEN ou de votre distributeur local.

Marques déposées : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); Corning® (Corning Inc.) ; Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Les noms déposés, les marques commerciales, etc., cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.  
02/2018 HB-0403-S02-002 © 2012–2018 QIAGEN, tous droits réservés.

