

Février 2022

# Manuel d'utilisation du Rotor-Gene<sup>®</sup> Q MDx CE



IVD

CE

REF

9002022, 9002032, 9002042



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

R1

# Contenu

1	Introduction .....	8
1.1	À propos de ce manuel d'utilisation .....	8
1.2	Informations générales .....	9
1.2.1	Assistance technique .....	9
1.2.2	Déclaration de principe .....	9
1.2.3	Gestion des versions .....	10
1.3	Utilisation prévue du Rotor-Gene Q MDx .....	10
1.3.1	Configuration requise pour le Rotor-Gene Q MDx .....	10
1.4	Matériel nécessaire .....	11
1.5	Matériel nécessaire, mais non fourni .....	11
2	Informations de sécurité .....	12
2.1	Utilisation appropriée .....	13
2.2	Sécurité électrique .....	15
2.3	Sécurité biologique .....	16
2.4	Sécurité chimique .....	18
2.5	Mise au rebut des déchets .....	19
2.6	Dangers mécaniques .....	19
2.7	Sécurité de maintenance .....	21
2.8	Symboles figurant sur le Rotor-Gene Q MDx .....	22
3	Description générale .....	23
3.1	Principe du Rotor-Gene Q MDx .....	23
3.1.1	Performances thermiques .....	23
3.1.2	Système optique .....	24
3.1.3	Canaux disponibles .....	25
3.2	Fonctionnalités externes du Rotor-Gene Q MDx .....	26
3.2.1	Événements sur le capot .....	26
3.2.2	Poignée du capot .....	26
3.2.3	Chambre du rotor .....	26
3.2.4	Voyants d'état de l'instrument .....	26

3.3	Fonctionnalités internes du Rotor-Gene Q MDx.....	27
3.3.1	Moyeu du rotor .....	27
3.3.2	Lentille optique .....	27
4	Procédures d'installation .....	28
4.1	Livraison et installation du système .....	28
4.1.1	Déballage du Rotor-Gene Q MDx.....	28
4.1.2	Installation du matériel .....	29
4.1.3	Installation du logiciel .....	30
4.1.4	Version du logiciel.....	33
4.1.5	Logiciels supplémentaires sur des ordinateurs connectés aux instruments Rotor-Gene Q MDx.....	33
4.2	Exigences propres au site d'installation .....	40
4.3	Connexion d'alimentation CA .....	41
4.3.1	Alimentation requise .....	41
4.3.2	Exigences de mise à la terre .....	41
4.3.3	Installation du cordon d'alimentation CA .....	41
4.4	Configuration de sécurité pour Windows.....	42
4.5	Configuration requise pour la station de travail .....	44
4.6	Déballage et installation du Rotor-Gene Q MDx .....	44
4.6.1	Mise à jour logicielle .....	45
4.7	Accessoires.....	45
4.8	Remballage et expédition du Rotor-Gene Q MDx .....	46
4.9	Pour commencer.....	46
4.9.1	Mise sous tension du Rotor-Gene Q MDx et de la station de travail .....	46
5	Procédures d'utilisation.....	47
5.1	Utilisation du logiciel Rotor-Gene Q MDx .....	47
5.1.1	Assistant de démarrage rapide .....	47
5.1.2	Assistant avancé.....	51
5.2	Utilisation du matériel Rotor-Gene Q MDx .....	69
5.2.1	Types de rotors.....	69
5.2.2	Préparation de la réaction .....	72

5.2.3	Installation du Rotor-Disc.....	75
6	Interface utilisateur d'analyse .....	79
6.1	Espace de travail.....	79
6.2	Barre d'outils.....	79
6.3	Affichage des données brutes des canaux .....	79
6.4	Activation des échantillons.....	80
6.5	Menu Fichier .....	82
6.5.1	Nouveau .....	82
6.5.2	Ouvrir et Enregistrer.....	83
6.5.3	Rapports.....	85
6.5.4	Configuration.....	85
6.6	Analyse.....	86
6.6.1	Analyse.....	86
6.6.2	Quantification .....	87
6.6.3	Deux courbes étalons .....	100
6.6.4	Quantification relative delta delta C <sub>T</sub> .....	104
6.6.5	Analyse de courbe de fusion.....	107
6.6.6	Quantification comparative.....	110
6.6.7	Discrimination allélique .....	112
6.6.8	Analyse du graphique de dispersion.....	114
6.6.9	Analyse en point final .....	115
6.6.10	Analyse de concentration .....	122
6.6.11	Analyse de fusion haute résolution.....	125
6.7	Cycle d'exécution .....	126
6.7.1	Démarrer le cycle .....	126
6.7.2	Interrompre le cycle .....	126
6.7.3	Arrêter le cycle.....	127
6.8	Menu Afficher .....	127
6.8.1	Paramètres du cycle d'exécution.....	127
6.8.2	Graphique de température .....	130
6.8.3	Progression du profil.....	131

6.8.4	Modifier les échantillons .....	132
6.8.5	Options d'affichage.....	138
6.9	Protection de l'accès au logiciel Rotor-Gene Q.....	139
6.9.1	Configuration pour Windows 7.....	140
6.9.2	Configuration pour Windows 10.....	145
6.9.3	Utilisation d'un même ordinateur par plusieurs utilisateurs .....	148
6.9.4	Pistes d'audit.....	148
6.9.5	Signatures des cycles d'exécution.....	150
6.9.6	Verrouillage d'échantillon .....	151
6.9.7	Modèles verrouillés.....	153
6.10	Menu Gain .....	153
6.11	Menu Fenêtre .....	154
6.12	Fonction Aide.....	154
6.12.1	Envoyer un e-mail au support technique.....	155
7	Fonctions supplémentaires.....	159
7.1	Modèles d'analyse.....	159
7.2	Ouverture d'un deuxième cycle d'exécution .....	159
7.3	Options de mise à l'échelle.....	159
7.4	Exportation de graphiques.....	160
7.5	Icône de clé à molette .....	163
7.6	Options de la zone sélectionnée.....	164
8	Maintenance.....	165
8.1	Nettoyage de la surface du Rotor-Gene Q MDx .....	165
8.2	Décontamination de la surface du Rotor-Gene Q MDx .....	166
8.3	Réparation de Rotor-Gene Q.....	166
9	Vérification de la température optique.....	167
9.1	Principe de la vérification de la température optique.....	167
9.2	Composants du Rotor-Disc OTV Kit .....	167
9.3	Effectuer une vérification de la température optique .....	168
10	Analyse de fusion haute résolution .....	171
10.1	Instruments.....	172

10.2	Analyse chimique .....	173
10.3	Exemple de génotypage de SNP .....	173
10.4	Exemple d'analyse de méthylation .....	175
10.5	Recommandations pour une analyse de HRM réussie .....	176
10.6	Préparation des échantillons .....	178
10.7	Configuration du logiciel .....	178
10.8	Analyse des données de real-time PCR .....	184
10.9	Analyse des données de HRM.....	185
11	Dépannage.....	190
11.1	Archives consignées.....	191
11.2	Erreurs matérielles et logicielles .....	191
11.2.1	Dépannage de la HRM .....	191
11.3	Messages d'erreur et d'avertissement.....	192
11.3.1	Erreurs générales de l'instrument .....	192
11.3.2	Messages du logiciel Rotor-Gene Q.....	195
12	Glossaire .....	200
13	Caractéristiques techniques.....	201
13.1	Conditions ambiantes – Conditions de fonctionnement .....	201
13.2	Conditions de transport .....	201
13.3	Conditions de conservation.....	201
13.4	Données mécaniques et caractéristiques matérielles .....	201
13.5	Caractéristiques (matérielles et logicielles) .....	202
13.5.1	Caractéristiques thermiques .....	202
13.5.2	Caractéristiques optiques.....	202
14	Annexe A – Mentions légales .....	203
14.1	Déclaration FCC.....	203
14.2	Conformité à la norme CEI EN 61326 .....	204
14.3	Déclaration de conformité.....	205
14.4	Déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE).....	206
14.5	Clause de responsabilité.....	207
14.6	Contrat de licence du logiciel.....	208

---

15	Annexe B – Techniques mathématiques .....	211
	15.1 Quantification .....	211
	15.1.1 Intervalles de confiance pour les concentrations calculées.....	211
	15.1.2 Intervalles de confiance pour les valeurs de CT .....	212
16	Informations de commande .....	213
	16.1 Produits, accessoires et consommables Rotor-Gene Q MDx.....	213
17	Historique des révisions du document.....	216

---

# 1 Introduction

Merci d'avoir choisi le Rotor-Gene Q MDx. Nous sommes persuadés qu'il fera partie intégrante de votre laboratoire.

Avant d'utiliser le Rotor-Gene Q MDx, il est impératif de lire attentivement ce manuel et de porter une attention particulière aux informations de sécurité. Pour garantir un fonctionnement de l'instrument en toute sécurité et le maintenir en bon état de marche, il est impératif de suivre les consignes et les informations de sécurité fournies dans le manuel.

Notez que le Rotor-Gene Q MDx peut présenter diverses configurations. Pour plus de détails, notamment les informations de commande, consultez la section 1.6.

## 1.1 À propos de ce manuel d'utilisation

Ce manuel d'utilisation, composé des sections suivantes, fournit des informations sur le Rotor-Gene Q MDx :

- Introduction
- Informations de sécurité
- Description générale
- Procédures d'installation
- Procédures d'utilisation
- Maintenance
- Dépannage
- Caractéristiques techniques
- Annexes

Les annexes contiennent les informations suivantes :

- Annexe A – Mentions légales
- Annexe B – Techniques mathématiques



## 1.2 Informations générales

### 1.2.1 Assistance technique

Chez QIAGEN®, nous sommes fiers de la qualité et de la disponibilité de notre assistance technique. Nos Services techniques sont constitués de scientifiques expérimentés et dotés d'une vaste expertise pratique et théorique en biologie moléculaire et dans l'utilisation des produits QIAGEN. Pour toute question ou si vous avez la moindre difficulté concernant le Rotor-Gene Q MDx ou les produits QIAGEN en général, n'hésitez pas à nous contacter.

Les clients de QIAGEN représentent une importante source d'informations sur les utilisations avancées ou spécialisées de nos produits. Ces informations sont utiles à d'autres scientifiques et aux chercheurs de QIAGEN. Par conséquent, nous vous encourageons à nous contacter pour toute suggestion concernant les performances des produits ou de nouvelles applications et techniques.

Pour bénéficier d'une assistance technique, contactez les services techniques QIAGEN.

Pour des informations actualisées sur le Rotor-Gene Q MDx, consultez le site <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>.

Site Internet : [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com)

Rassemblez les informations suivantes avant de contacter les services techniques QIAGEN :

- Numéro de série, type et version du Rotor-Gene Q MDx
- Code d'erreur (le cas échéant)
- Date et heure à laquelle l'erreur s'est produite pour la première fois
- Fréquence de l'erreur (c.-à-d. erreur occasionnelle ou permanente)
- Copie des fichiers journaux

### 1.2.2 Déclaration de principe

La politique de QIAGEN est d'améliorer ses produits à mesure que de nouvelles techniques et de nouveaux composants deviennent disponibles. QIAGEN se réserve le droit de modifier les caractéristiques à tout moment. Afin de produire une documentation utile et appropriée, vos commentaires concernant ce manuel d'utilisation sont toujours les bienvenus. Veuillez prendre contact avec les services techniques QIAGEN.

### 1.2.3 Gestion des versions

Le présent document est le *Manuel d'utilisation du Rotor-Gene Q MDx*, révision R1, destiné aux instruments Rotor-Gene Q MDx qui utilisent le logiciel Rotor-Gene Q version 2.3.x (où x est  $\geq 0$ ).

## 1.3 Utilisation prévue du Rotor-Gene Q MDx

L'instrument Rotor-Gene Q MDx est conçu pour le thermocyclage en temps réel, la détection et/ou la quantification par amplification en chaîne par polymérase (Polymerase chain reaction, PCR) dans des applications cliniques.

Le Rotor-Gene Q MDx ne doit être utilisé qu'avec les kits QIAGEN prévus pour les instruments Rotor-Gene Q et dans les applications décrites dans les manuels des kits QIAGEN correspondants.

Si l'instrument Rotor-Gene Q MDx est utilisé avec des kits autres que les kits QIAGEN, il incombe à l'utilisateur de valider les performances d'une telle combinaison de produits, quelle que soit l'application concernée.

L'instrument Rotor-Gene Q MDx est destiné au diagnostic in vitro.

L'instrument Rotor-Gene Q MDx est destiné à des utilisateurs professionnels, tels que les techniciens et les médecins formés aux techniques de biologie moléculaire et au maniement de l'instrument Rotor-Gene Q MDx.

### 1.3.1 Configuration requise pour le Rotor-Gene Q MDx

Le tableau ci-dessous résume le niveau général de compétence et d'expertise nécessaire au transport, à l'installation, à l'utilisation, à la maintenance et à l'entretien du Rotor-Gene Q MDx.

Tâche	Personnel	Formation et expérience
Livraison	Aucune exigence particulière	Aucune exigence particulière
Installation	Techniciens de laboratoire ou équivalents	Personnel convenablement formé et expérimenté, habitué à l'utilisation d'ordinateurs et à l'automatisation en général
Utilisation courante (exécution des protocoles)	Techniciens de laboratoire ou équivalents	Utilisateurs professionnels, par exemple techniciens ou médecins, formés aux techniques de biologie moléculaire
Maintenance courante	Techniciens de laboratoire ou équivalents	Utilisateurs professionnels, par exemple techniciens ou médecins, formés aux techniques de biologie moléculaire
Entretien et maintenance annuelle	Spécialistes de l'entretien sur site QIAGEN uniquement	Régulièrement formés, certifiés et autorisés par QIAGEN

## 1.4 Matériel nécessaire

Remarque : utilisez exclusivement les accessoires fournis par QIAGEN.

- Rotor-Gene Q MDx 5Plex (n° de réf. 9002020)
- Rotor-Gene Q MDx 5Plex HRM (n° de réf. 9002030)
- Rotor-Gene Q MDx 6Plex (n° de réf. 9002040)
- Laptop (n° de réf. 9026760)
- 72-Well Rotor (n° de réf. 9018903)
- Locking Ring 72-Well Rotor (n° de réf. 9018904)
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (n° de réf. 9018901)
- Rotor Holder (n° de réf. 9018908)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250) (n° de réf. 981103)
- Rotor Gene Q SW (n° de réf. 9023241)

## 1.5 Matériel nécessaire, mais non fourni


- Lunettes de sécurité
- Gants
- Blouse de laboratoire


Pour pouvoir utiliser le Rotor-Gene Q MDx, un kit de PCR est nécessaire, mais doit être acheté séparément. Pour connaître les kits disponibles, allez sur [QIAGEN.com](https://www.qiagen.com).

## 2 Informations de sécurité

Avant d'utiliser le Rotor-Gene Q MDx, il est impératif de lire attentivement ce manuel et de porter une attention particulière aux informations de sécurité. Pour garantir un fonctionnement de l'instrument en toute sécurité et le maintenir en bon état de marche, il est impératif de suivre les consignes et les informations de sécurité fournies dans le manuel.

Les types d'informations de sécurité suivants apparaissent tout au long du *Manuel d'utilisation du Rotor-Gene Q MDx*.


<b>AVERTISSEMENT</b> 	Le terme <b>AVERTISSEMENT</b> signale des situations risquant d'entraîner des <b>dommages corporels</b> dont vous, ou d'autres, pourriez être victimes.  Les détails concernant ces circonstances sont donnés dans un encadré identique à celui-ci.
---	---

<b>ATTENTION</b> 	Le terme <b>ATTENTION</b> signale des situations risquant d'entraîner des <b>détériorations d'un instrument</b> ou de tout autre équipement.  Les détails concernant ces circonstances sont donnés dans un encadré identique à celui-ci.
---	--


Les conseils dispensés dans ce manuel ont pour but de venir compléter les exigences de sécurité habituelles en vigueur dans le pays de l'utilisateur, et non de s'y substituer.


Notez qu'il peut être nécessaire de consulter la réglementation locale avant de signaler tout incident grave survenant en lien avec le produit au fabricant et/ou son représentant agréé et à l'organisme de régulation du pays de l'utilisateur et/ou du patient.


## 2.1 Utilisation appropriée

<b>AVERTISSEMENT</b> 	<b>Risque de dommages corporels et matériels</b> L'utilisation inappropriée du Rotor-Gene Q MDx peut provoquer des dommages corporels ou une détérioration de l'instrument.  Le Rotor-Gene Q MDx doit être utilisé exclusivement par un personnel qualifié ayant été convenablement formé.  L'entretien du Rotor-Gene Q MDx doit être effectué exclusivement par un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN.
---	--


Procédez à la maintenance comme décrit dans la section 8. QIAGEN facture les réparations dues à une maintenance incorrecte.


<b>AVERTISSEMENT</b> 	<b>Risque de dommages corporels et matériels</b> Le Rotor-Gene Q MDx est trop lourd pour être soulevé par une seule personne. Afin d'éviter tout dommage corporel et toute détérioration de l'instrument, ne soulevez pas l'instrument seul.  Contactez les services techniques QIAGEN pour déplacer l'instrument.
---	---


<b>AVERTISSEMENT</b> 	<b>Risque de dommages corporels et matériels</b> N'essayez pas de déplacer le Rotor-Gene Q MDx en cours de fonctionnement.
---	---


<b>ATTENTION</b> 	<b>Détérioration de l'instrument</b> Évitez de renverser de l'eau ou des produits chimiques sur le Rotor-Gene Q MDx. La détérioration due à la projection d'eau ou de produits chimiques annulera la garantie.
---	---


Remarque : en cas d'urgence, mettez le Rotor-Gene Q MDx hors tension à l'aide de l'interrupteur d'alimentation situé à l'arrière et débranchez le cordon d'alimentation de la prise secteur.


<b>ATTENTION</b> 	<b>Risque de dommages corporels et matériels</b> Ne tentez pas d'ouvrir le capot pendant le fonctionnement ou la phase de centrifugation du Rotor-Gene Q MDx. Si vous forcez le verrou du capot pour atteindre l'intérieur de l'instrument, vous risquez de toucher des éléments brûlants, sous tension ou se déplaçant à vitesse élevée, vous pourriez vous blesser et endommager l'instrument.
---	---

<b>ATTENTION</b> 	<b>Risque de dommages corporels et matériels</b> Si vous devez impérativement arrêter une expérience rapidement, mettez l'instrument hors tension puis ouvrez le capot. Laissez la chambre refroidir avant d'accéder à l'intérieur. Autrement, vous risquez de vous blesser en touchant des éléments brûlants.
--	---

<b>ATTENTION</b> 	<b>Risque de dommages corporels et matériels</b> Si l'équipement est utilisé d'une manière non spécifiée par le fabricant, la protection qu'il est censé offrir peut s'en trouver compromise.
---	--

<b>ATTENTION</b> 	<b>Risque de dommages corporels et matériels</b> Tout papier libre oublié sous le Rotor-Gene Q MDx gêne le refroidissement de l'instrument. Il est recommandé de laisser l'espace situé sous l'instrument libre et dégagé.
---	---


<p><b>ATTENTION</b></p> 	<p><b>Détérioration de l'instrument</b></p> <p>Utilisez toujours une bague de verrouillage sur le rotor. Cela empêche les bouchons de se détacher des tubes en cours d'expérience. Si les bouchons se détachent en cours d'expérience, ils peuvent endommager la chambre.</p>
---	---

<p><b>ATTENTION</b></p> 	<p><b>Risque de dommages matériels</b></p> <p>Inspectez l'instrument à l'œil nu et assurez-vous avant chaque cycle que le rotor n'est pas abîmé ou déformé.</p>
---	---

Si vous touchez le Rotor-Gene Q MDx en cours d'expérience, alors que vous êtes chargé d'électricité statique, le Rotor-Gene Q MDx peut, dans les cas extrêmes, se réinitialiser. Cependant, le logiciel redémarrera le Rotor-Gene Q MDx et poursuivra l'expérience.

## 2.2 Sécurité électrique

Avant tout entretien, débranchez le cordon d'alimentation de la prise secteur.

<p><b>AVERTISSE- MENT</b></p> 	<p><b>Danger électrique</b></p> <p>Toute interruption du conducteur de protection (conducteur de terre/de masse) à l'intérieur ou à l'extérieur de l'instrument ou toute déconnexion de la borne du conducteur de protection est susceptible de rendre l'instrument dangereux.</p> <p>Toute interruption intentionnelle est interdite.</p> <p><b>Tensions mortelles à l'intérieur de l'instrument</b></p> <p>Lorsque l'instrument est raccordé à l'alimentation électrique, les bornes peuvent être sous tension et l'ouverture de capots ou le retrait d'éléments risque d'exposer des éléments sous tension.</p>
---	--


Afin que le Rotor-Gene Q MDx fonctionne de manière satisfaisante et en toute sécurité, respectez les conseils suivants :

- Le cordon d'alimentation doit être branché à une prise électrique disposant d'un conducteur de protection (terre/masse).
- Ne modifiez ni ne remplacez aucun des composants internes de l'instrument.
- Ne faites pas fonctionner l'instrument en ayant retiré des capots ou des composants.
- Si un liquide s'est répandu à l'intérieur de l'instrument, mettez celui-ci hors tension, débranchez-le de la prise secteur et contactez les services techniques QIAGEN.

Si l'instrument présente un danger électrique, empêchez le reste du personnel de s'en servir et contactez les services techniques QIAGEN.

L'instrument peut présenter un danger électrique dans les cas suivants :

- L'instrument ou le cordon d'alimentation semble endommagé.
- Il a été stocké dans des conditions défavorables pendant une longue période.
- Il a été soumis à des tensions importantes durant le transport.

<b>AVERTISSE- MENT</b> 	<b>Danger électrique</b> L'instrument dispose d'une étiquette de conformité électrique qui indique la tension et la fréquence de l'alimentation électrique, ainsi que les calibres des fusibles. L'instrument ne doit être utilisé que dans ces conditions.
---	--


## 2.3 Sécurité biologique

Les échantillons et les réactifs contenant des matières provenant de sources biologiques doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Utilisez des procédures de laboratoire sûres, comme décrites dans des publications telles que *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, HHS (<https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>).

### Échantillons

Les échantillons peuvent contenir des agents infectieux. Il est impératif de connaître le risque que ces agents représentent pour la santé et d'utiliser, de stocker et de mettre au rebut ce type d'échantillons conformément aux règles de sécurité en vigueur.




<p><b>AVERTISSE- MENT</b></p> 	<p><b>Échantillons contenant des agents infectieux</b></p> <p>Certains échantillons utilisés avec cet instrument peuvent contenir des agents infectieux. Manipulez ces échantillons avec la plus grande précaution et conformément aux règles de sécurité exigées.</p> <p>Portez toujours des lunettes de protection, 2 paires de gants et une blouse de laboratoire.</p> <p>La personne responsable (p. ex. le directeur du laboratoire) doit prendre les précautions nécessaires pour s'assurer que l'environnement de travail est sûr, que les opérateurs de l'instrument sont convenablement formés et qu'ils ne sont pas exposés à des niveaux dangereux d'agents infectieux selon les définitions des fiches de données de sécurité (FDS) ou des documents de l'OSHA*, de l'ACGIH† ou du COSHH‡ applicables.</p> <p>L'évacuation des vapeurs et la mise au rebut des déchets doivent être effectuées conformément à toutes les réglementations et législations nationales, régionales et locales relatives à la santé et à la sécurité.</p>
---	---

\* OSHA : Occupational Safety and Health Administration (Administration pour la santé et la sécurité du travail) (États-Unis d'Amérique).

† ACGIH : American Conference of Government Industrial Hygienists (Conférence américaine des hygiénistes industriels gouvernementaux) (États-Unis d'Amérique).

‡ COSHH : Control of Substances Hazardous to Health (Contrôle des substances dangereuses pour la santé) (Royaume-Uni).

## 2.4 Sécurité chimique

<p><b>AVERTISSE- MENT</b></p> 	<p><b>Produits chimiques dangereux</b></p> <p>Certains produits chimiques utilisés avec cet instrument peuvent être dangereux ou le devenir après l'exécution du cycle du protocole. Portez toujours des lunettes de protection, des gants et une blouse de laboratoire. La personne responsable (p. ex. le directeur de laboratoire) doit prendre les précautions nécessaires afin de garantir que le lieu de travail environnant est sûr et que les opérateurs de l'instrument ne sont pas exposés à des niveaux dangereux de substances toxiques (chimiques ou biologiques) selon les définitions des fiches de données de sécurité (FDS) ou des documents de l'OSHA*, de l'ACGIH† ou du COSHH‡ applicables.</p> <p>L'évacuation des vapeurs et la mise au rebut des déchets doivent être effectuées conformément à toutes les réglementations et législations nationales, régionales et locales relatives à la santé et à la sécurité.</p>
---	--

\* OSHA : Occupational Safety and Health Administration (Administration pour la santé et la sécurité du travail) (États-Unis d'Amérique).

† ACGIH : American Conference of Government Industrial Hygienists (Conférence américaine des hygiénistes industriels gouvernementaux) (États-Unis d'Amérique).

‡ COSHH : Control of Substances Hazardous to Health (Contrôle des substances dangereuses pour la santé) (Royaume-Uni).

## Vapeurs toxiques

Si des solvants ou des substances toxiques volatil(e)s sont utilisé(e)s, vous devez disposer d'un système de ventilation de laboratoire efficace pour évacuer les vapeurs qui peuvent être générées.


## 2.5 Mise au rebut des déchets


Un matériel de laboratoire usagé peut contenir des produits chimiques dangereux. Ces déchets doivent être convenablement collectés et mis au rebut conformément aux règles de sécurité locales.


Pour en savoir plus sur la mise au rebut du Rotor-Gene Q MDx, consultez la section « Déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE) », page 206.


## 2.6 Dangers mécaniques


Le capot du Rotor-Gene Q MDx doit rester fermé pendant le fonctionnement de l'instrument.


<b>AVERTISSE- MENT</b> 	<b>Pièces mobiles</b> Pour éviter tout contact avec des pièces mobiles pendant le fonctionnement du Rotor-Gene Q MDx, l'instrument doit être utilisé avec le capot fermé.
---	--

<b>AVERTISSE- MENT</b> 	<b>Risque de dommages corporels et matériels</b> Ouvrez et fermez le capot du Rotor-Gene Q MDx avec précaution pour éviter de vous pincer les doigts ou de coincer vos vêtements.
---	--


<b>AVERTISSE- MENT</b> 	<b>Détérioration de l'instrument</b> Vérifiez que le rotor et la bague de verrouillage sont correctement installés. Si le rotor ou la bague de verrouillage présente des signes de détérioration mécanique ou de corrosion, cessez d'utiliser le Rotor-Gene Q MDx et contactez les services techniques QIAGEN.
---	---


<p><b>AVERTISSE- MENT</b></p> 	<p><b>Détérioration de l'instrument</b></p> <p>Si le Rotor-Gene Q MDx est démarré immédiatement après avoir été livré dans une zone climatique froide, certaines pièces mécaniques peuvent se gripper.</p> <p>Laissez l'instrument revenir à température ambiante pendant au moins une heure avant de le mettre sous tension.</p>
---	---

<p><b>AVERTISSE- MENT</b></p> 	<p><b>Détérioration de l'instrument</b></p> <p>En cas de panne due à une coupure de courant, retirez le cordon d'alimentation et attendez 10 minutes avant d'essayer d'ouvrir le capot manuellement.</p>
---	--

<p><b>AVERTISSE- MENT</b></p> 	<p><b>Risque de surchauffe</b></p> <p>Afin de garantir une bonne ventilation, laissez un dégagement d'au moins 10 cm sur les côtés et à l'arrière du Rotor-Gene Q MDx.</p> <p>Les fentes et les ouvertures qui garantissent la ventilation du Rotor-Gene Q MDx ne doivent pas être obstruées.</p>
---	---


Danger lié à la chaleur


<p><b>AVERTISSE- MENT</b></p> 	<p><b>Surface brûlante</b></p> <p>La chambre du Rotor-Gene Q MDx peut atteindre des températures supérieures à 120 °C. Évitez de toucher ce composant lorsqu'il est chaud.</p>
---	--


<p><b>AVERTISSE- MENT</b></p> 	<p><b>Surface brûlante</b></p> <p>Lorsqu'un cycle est interrompu, le Rotor-Gene Q MDx ne revient pas complètement à température ambiante. La prudence est de mise avant de manipuler le rotor ou un tube contenu dans l'instrument.</p>
---	---


## 2.7 Sécurité de maintenance

Procédez à la maintenance comme décrit dans la section 8. QIAGEN facture les réparations dues à une maintenance incorrecte.

<b>AVERTISSE- MENT/ ATTENTION</b> 	<b>Risque de dommages corporels et matériels</b> Effectuez uniquement la maintenance spécifiquement décrite dans le présent manuel d'utilisation.
--	--











<b>AVERTISSE- MENT</b> 	<b>Risque d'incendie</b> Lorsque vous nettoyez le Rotor-Gene Q MDx avec un désinfectant à base d'alcool, laissez le capot ouvert pour permettre la dispersion des vapeurs inflammables.
--	--

<b>AVERTISSE- MENT/ ATTENTION</b> 	<b>Risque de décharge électrique</b> Ne démontez pas l'instrument Rotor-Gene Q MDx.
--	--

<b>ATTENTION</b> 	<b>Détérioration du boîtier de l'instrument</b> Ne nettoyez jamais le boîtier de l'instrument avec de l'alcool ou des solutions à base d'alcool. L'alcool abîmera le boîtier. Pour nettoyer le boîtier, utilisez simplement de l'eau distillée.
---	--

## 2.8 Symboles figurant sur le Rotor-Gene Q MDx

Les symboles suivants peuvent figurer dans le manuel d'utilisation ou sur l'emballage et les étiquettes :

Symbole	Emplacement	Description
	À proximité de la chambre à échantillons, visible une fois le capot ouvert	Danger lié à la chaleur — La température de la chambre peut atteindre 120 °C
	Arrière de l'instrument	Consultez le mode d'emploi
	Plaque signalétique à l'arrière de l'instrument	Marquage CE pour la conformité européenne
	Plaque signalétique à l'arrière de l'instrument	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Plaque signalétique à l'arrière de l'instrument	Marquage CSA pour le Canada et les États-Unis
	Plaque signalétique sur le panneau droit	Fabricant légal.
	Plaque signalétique sur le panneau droit	Signalétique DEEE sur la mise au rebut des équipements électriques et électroniques en Europe et dans le reste du monde.
	Plaque signalétique sur le panneau droit	Marquage FCC de la Commission fédérale des communications des États-Unis (United States Federal Communications Commission, USFCC)
	Plaque signalétique sur le panneau droit	Marquage RCM (anciennement marquage C-Tick) pour l'Australie (identifiant du fournisseur N17965)
	Plaque signalétique sur le panneau droit	Marquage RoHS pour la Chine (restriction de l'utilisation de certaines substances dangereuses dans les équipements électriques et électroniques)

## 3 Description générale

Le Rotor-Gene Q MDx est un instrument innovant qui permet une real-time PCR de grande précision, il est parfaitement adapté aux applications de diagnostic in vitro avec les kits QIAGEN de diagnostic in vitro.

Puissant et convivial, le logiciel offre aux utilisateurs débutants une grande simplicité et fournit une plate-forme d'expérience ouverte aux plus chevronnés.

### 3.1 Principe du Rotor-Gene Q MDx

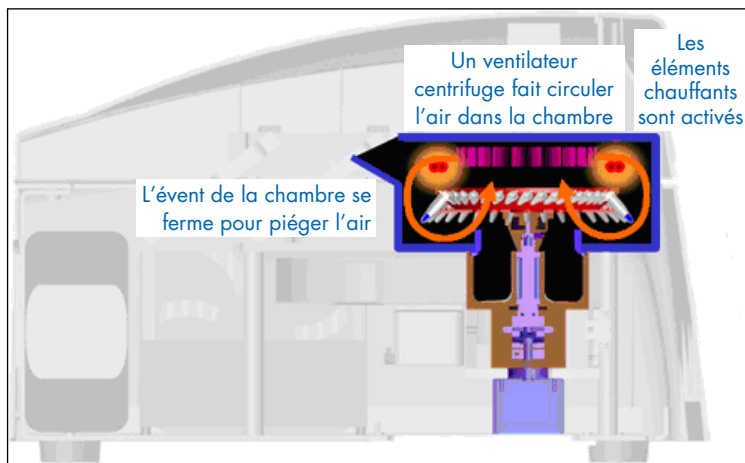
#### 3.1.1 Performances thermiques

Le Rotor-Gene Q MDx dispose d'une conception élaborée de chauffage et refroidissement qui permet d'obtenir des conditions de réaction optimales. Le format circulaire unique assure une uniformité thermique et optique optimale entre les échantillons, ce qui est primordial pour la précision et la fiabilité des analyses.

Les échantillons sont centrifugés en continu à 400 tr/min au cours d'un cycle. La centrifugation empêche toute condensation et élimine les bulles d'air, mais ne permet pas d'obtenir un culot d'ADN. En outre, il n'est pas nécessaire d'isoler les échantillons par centrifugation avant un cycle.

Les échantillons sont chauffés puis refroidis dans une étuve à air chaud à faible masse. Un composant en nickel-chrome situé dans le capot assure le chauffage. La chambre est refroidie en évacuant l'air par le haut pendant que l'air ambiant pénètre par la base.

Chauffage



## Refroidissement

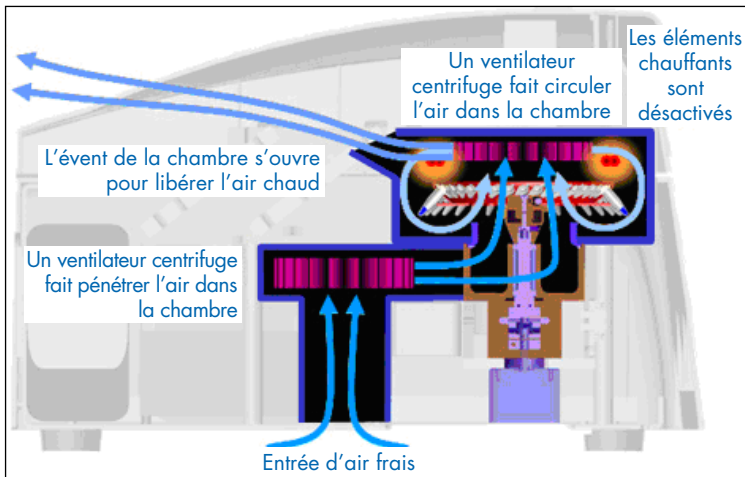


Illustration du système de chauffage et de refroidissement.

### 3.1.2 Système optique

Grâce à une configuration pouvant aller jusqu'à 6 sources d'excitation et 6 filtres de détection associés à une trajectoire optique fixe et courte, le Rotor Gene Q MDx peut être utilisé pour des réactions multiplex, cela garantit une variabilité minimale de la fluorescence entre les échantillons et rend inutile l'étalonnage ou la compensation.

Les échantillons sont excités par le fond de la chambre par une diode électroluminescente (DEL). L'énergie est transmise à travers les parois fines à la base du tube. La fluorescence émise traverse les filtres à émissions sur le côté de la chambre puis est collectée par un photomultiplicateur. La trajectoire optique fixe assure une excitation constante pour chaque échantillon, il n'est donc pas nécessaire d'utiliser un colorant de référence interne passif tel que le ROX™.



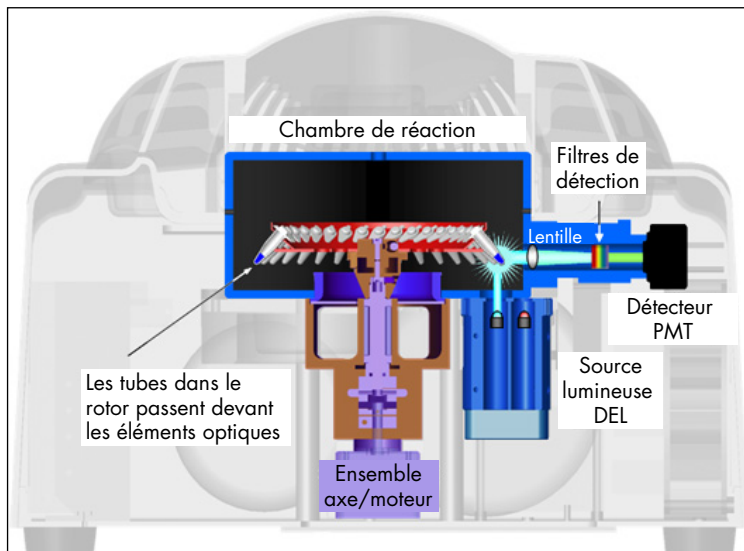


Illustration du système optique.

### 3.1.3 Canaux disponibles

Canal	Excitation (nm)	Détection (nm)	Exemples de fluorophores détectés
Blue	365 ± 20	460 ± 20	Marina Blue®, Edans Bothell Blue, Alexa Fluor® 350, AMCA-X, ATTO 390
Green	470 ± 10	510 ± 5	FAM®, SYBR® Green I, Fluorescein, EvaGreen®, Alexa Fluor 488
Yellow	530 ± 5	557 ± 5	JOETM, VIC®, HEXTM, TET™, CAL Fluor® Gold 540, Yakima Yellow®
Orange	585 ± 5	610 ± 5	ROX, CAL Fluor Red 610, Cy®3.5, Texas Red®, Alexa Fluor 568
Red	625 ± 10	660 ± 10	Cy5, Quasar® 670, LightCycler® Red640, Alexa Fluor 633
Crimson	680 ± 5	712 passe-haut	Quasar 705, LightCycler Red705, Alexa Fluor 680
Fusion haute résolution (HRM)	460 ± 20	510 ± 5	SYBR Green I, SYTO®9, LC Green®, LC Green Plus+, EvaGreen

Remarque : les kits QIAGEN à utiliser avec les instruments Rotor-Gene Q MDx sont optimisés grâce à certaines combinaisons de colorants. Reportez-vous aux manuels du kit concerné pour obtenir davantage d'informations.

## 3.2 Fonctionnalités externes du Rotor-Gene Q MDx



- |                           |                                  |
|---------------------------|----------------------------------|
| 1 Événements sur le capot | 3 Chambre du rotor               |
| 2 Poignée du capot        | 4 Voyants d'état de l'instrument |

### 3.2.1 Événements sur le capot

Des événements se trouvent à l'arrière du capot du Rotor-Gene Q, ils permettent à l'instrument d'évacuer la chaleur de la chambre en cours de fonctionnement. Si vous obstruez ces événements ou n'assurez pas un dégagement suffisant autour, les performances de l'instrument peuvent s'en trouver compromises.

### 3.2.2 Poignée du capot

Cette poignée permet de faire glisser le capot de l'instrument vers l'arrière. Elle n'est pas conçue pour supporter le poids de l'instrument et ne doit pas être utilisée pour le soulever.

### 3.2.3 Chambre du rotor

La chambre du rotor est le logement dans lequel les rotors sont chargés et soumis aux paliers programmés de chauffage et de cycle.

### 3.2.4 Voyants d'état de l'instrument

Il y a deux voyants d'état sur le Rotor-Gene Q. Le voyant de veille indique que l'instrument n'est pas en cours d'utilisation. Le voyant de fonctionnement clignote lorsque le Rotor-Gene Q est en cours d'utilisation.

### 3.3 Fonctionnalités internes du Rotor-Gene Q MDx



Vue de l'intérieure de la chambre du Rotor-Gene Q

- 1 Moyeu du rotor      2 Lentille optique

#### 3.3.1 Moyeu du rotor

Le moyeu du rotor maintient le rotor en place dans l'instrument.

#### 3.3.2 Lentille optique

La lentille optique permet de focaliser la lumière des diodes d'excitation sur les tubes.

## 4 Procédures d'installation

### 4.1 Livraison et installation du système

Pendant l'installation, il convient qu'une personne connaissant l'équipement et l'ordinateur du laboratoire soit présente.

Les éléments suivants sont fournis :

- Instrument Rotor-Gene Q MDx
- *Manuel d'utilisation du Rotor-Gene Q MDx*
- Station de travail
- Logiciel Rotor-Gene Q MDx (installé par un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN lors de la configuration initiale)

#### 4.1.1 Déballage du Rotor-Gene Q MDx

Le Rotor-Gene Q MDx vous est fourni avec tous les composants nécessaires à l'installation et à l'utilisation de l'instrument. Le carton contient également une liste de tous les composants fournis.

Remarque : consultez cette liste pour vous assurer d'avoir tous les composants.

Remarque : vérifiez avant l'installation que l'instrument et les accessoires fournis n'ont pas été endommagés pendant le transport.

Le carton des accessoires se trouve au-dessus de la garniture en mousse. Le carton des accessoires contient :

- Guide d'installation (en anglais, traductions disponibles sur les supports amovibles accompagnant les manuels)
- Support amovible (logiciel)
- Support amovible (manuels)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (démonté pour un transport en toute sécurité)
- 36-Well Rotor (ce rotor est de couleur rouge)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Les éléments suivants sont emballés de part et d'autre de la garniture en mousse :

- Câble USB et câble série RS-232
- Cordons d'alimentation internationaux
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1 000)

Une fois que vous avez sorti tous les composants du carton, ôtez la garniture en mousse qui se trouve au-dessus du Rotor-Gene Q MDx. Sortez délicatement le Rotor-Gene Q MDx du carton et retirez son emballage en plastique. Ouvrez le capot en le faisant glisser vers l'arrière pour accéder à la chambre de réaction.


Les éléments suivants sont déjà installés dans le Rotor-Gene Q MDx :

- 72-Well Rotor (ce rotor est de couleur bleue)
- 72-Well Rotor Locking Ring

Selon votre commande, vous trouverez aussi un ordinateur portable dans le carton.

#### 4.1.2 Installation du matériel

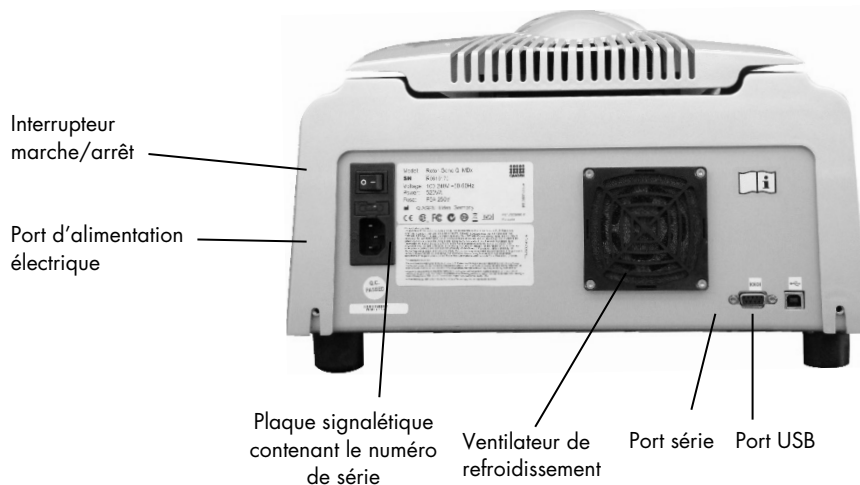
Une fois le Rotor-Gene Q MDx déballé, procédez à l'installation comme décrit ci-après.

<b>ATTENTION</b> 	<b>Détérioration de l'instrument</b> Si le Rotor-Gene Q MDx est démarré immédiatement après avoir été livré dans une zone climatique froide, certaines pièces mécaniques peuvent se gripper. Laissez l'instrument revenir à température ambiante pendant au moins une heure avant de le mettre sous tension.
---	---

Procédez comme suit :

1. Placez le Rotor-Gene Q MDx sur une surface de niveau.
2. Veillez à laisser suffisamment d'espace derrière l'instrument pour pouvoir ouvrir le capot à fond.
3. Assurez-vous de pouvoir atteindre facilement l'interrupteur marche/arrêt à l'arrière de l'instrument.
4. N'obstruez pas l'arrière de l'instrument. Assurez-vous de pouvoir débrancher facilement le cordon d'alimentation, si nécessaire, afin de déconnecter l'instrument du secteur.

5. Branchez le câble USB ou le câble série RS-232 fourni à un port de communication USB à l'arrière de l'ordinateur.
6. Branchez le câble USB ou le câble série RS-232 à l'arrière du Rotor-Gene Q MDx.
7. Raccordez ensuite le Rotor-Gene Q MDx à l'alimentation électrique. Connectez une extrémité du cordon d'alimentation CA à la prise située à l'arrière du Rotor-Gene Q MDx et l'autre extrémité à la prise secteur CA.

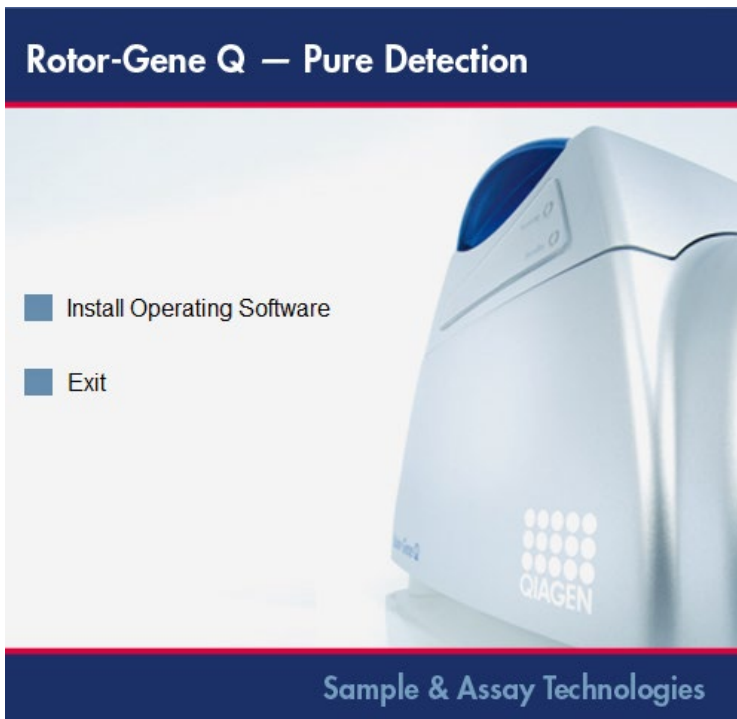


Remarque : utilisez uniquement le câble USB et le câble série fournis pour raccorder le Rotor-Gene Q MDx à l'ordinateur. N'utilisez aucun autre câble.

#### 4.1.3 Installation du logiciel

1. Pour installer le logiciel Rotor-Gene Q, téléchargez-le sur [QIAGEN.com](http://QIAGEN.com) et transférez-le sur l'ordinateur à l'aide d'un support amovible dépourvu de virus ou insérez dans l'ordinateur le support amovible (logiciel) fourni avec l'instrument.
2. Si l'installation du logiciel démarre automatiquement, sélectionnez Install Operating Software (Installer le logiciel d'exploitation) dans la fenêtre qui apparaît, ou localisez le dossier du logiciel RGQ sur le support amovible.

Remarque : consultez le *Guide d'installation du Rotor-Gene Q* fourni avec l'instrument pour une installation facilitée et pour être guidé à travers les étapes suivantes de l'installation du logiciel.



3. Une fois le logiciel installé, une icône est créée automatiquement sur le bureau.
4. Mettez le Rotor-Gene Q MDx sous tension en basculant l'interrupteur marche/arrêt situé à l'arrière gauche en position « I ». Un voyant bleu « Standby » (Veille) à l'avant du Rotor-Gene Q MDx indique que l'instrument est prêt à l'emploi.

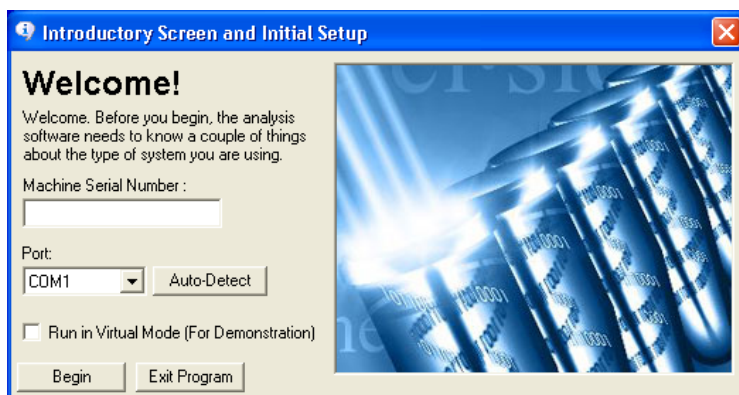
Remarque : la première fois que vous démarrez l'instrument connecté à un ordinateur, le système d'exploitation de l'ordinateur reconnaît le Rotor-Gene Q MDx et un certain nombre de messages apparaissent. Consultez le *Guide d'installation du Rotor-Gene Q* fourni avec l'instrument (support amovible et version papier) pour obtenir de l'aide.



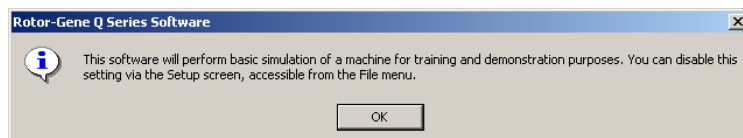
5. Double-cliquez sur l'icône du bureau Rotor-Gene Q Series Software (Logiciel Rotor-Gene Q) pour lancer le logiciel.



6. Une fenêtre Welcome (Bienvenue) apparaît au premier démarrage du logiciel, mais plus avec les mises à niveau suivantes.



- Machine Serial Number (Numéro de série de la machine) : Saisissez le numéro de série (7 chiffres) qui se trouve à l'arrière du Rotor-Gene Q MDx.
- Port : Choisissez USB ou câble série. Sélectionnez le port de communication qui convient ou cliquez sur le bouton Auto-Detect (Détection automatique).
- Auto-Detect (Détection automatique) : Lorsque vous choisissez cette option, le port USB ou série correspondant est détecté automatiquement et apparaît dans la liste déroulante Port.
- Run in Virtual Mode (for demonstration) (Exécuter en mode virtuel [Démonstration]) : Cochez cette case pour installer le logiciel Rotor-Gene Q sur un ordinateur qui n'est pas connecté à un Rotor-Gene Q MDx. Dans ce cas, le logiciel est parfaitement fonctionnel et peut simuler des cycles d'exécution. Remarque : si vous cochez cette case alors qu'un Rotor-Gene Q MDx est connecté à l'ordinateur, le message suivant apparaît avant le démarrage du cycle : You are about to run in Virtual mode (Vous allez lancer un cycle en mode virtuel). Pour lancer un vrai cycle, vous devez modifier la configuration dans la fenêtre Setup (Configuration) (voir la section 6.5.4).
- Begin (Commencer) : Une fois toutes les informations saisies, cliquez sur Begin (Commencer). Attendez la fin de l'initialisation, qui peut prendre quelques secondes. Si vous avez opté pour le mode virtuel, le message suivant apparaît :

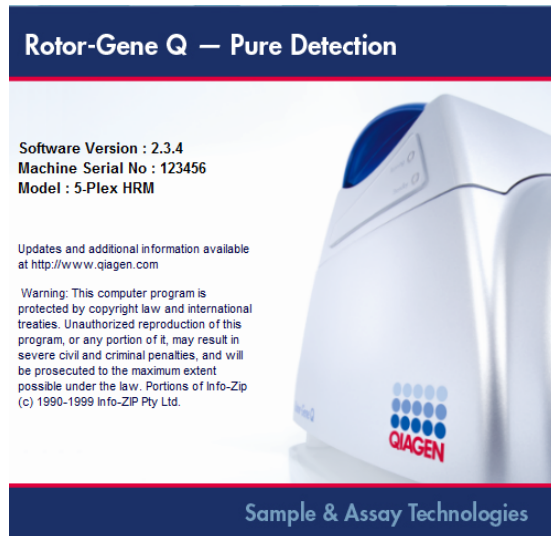


- Si la case Run in Virtual Mode (Exécuter en mode virtuel) est décochée, le logiciel démarre et s'ouvre automatiquement.
- Exit Program (Quitter le programme) : Cliquez sur ce bouton pour quitter le programme.



#### 4.1.4 Version du logiciel

Pour connaître le numéro de version, cliquez sur Help (Aide) puis sur About This Software... (À propos du logiciel...).



Cette fenêtre affiche des informations d'ordre général sur le logiciel, notamment la version du logiciel et le numéro de série de l'instrument.

Le logiciel peut être librement copié en vue d'une utilisation au sein d'un établissement qui possède un Rotor-Gene Q MDx. Mais il ne peut être copié et distribué à des tiers extérieurs à l'établissement.

#### 4.1.5 Logiciels supplémentaires sur des ordinateurs connectés aux instruments Rotor-Gene Q MDx

Le logiciel Rotor-Gene Q gère des processus prioritaires pendant le cycle de PCR et le processus d'acquisition de données. Vous devez donc vous assurer qu'aucun autre processus n'utilise des ressources système importantes, ce qui ralentirait le logiciel Rotor-Gene Q. Il importe tout particulièrement de faire attention aux éléments ci-dessous.

Il est recommandé aux administrateurs système de tenir compte de l'impact qu'une modification du système pourrait avoir sur les ressources avant de la mettre en œuvre.

## Logiciel antivirus

QIAGEN est conscient de la menace que constituent les virus pour tout ordinateur échangeant des données avec d'autres ordinateurs. Le logiciel Rotor-Gene AssayManager version 1.0 ou 2.1 est conçu pour être installé principalement dans des environnements où existent des stratégies locales pour réduire cette menace. Cependant, QIAGEN recommande d'utiliser malgré tout un logiciel antivirus.

Le choix et l'installation d'un outil de détection des virus approprié incombent à l'utilisateur. Néanmoins, QIAGEN a validé la compatibilité du logiciel Rotor-Gene Q sur l'ordinateur portable QIAGEN avec les deux logiciels antivirus suivants :

- Microsoft Defender version du client 4.18.2005.5

Consultez la page produit sur QIAGEN.com pour connaître les dernières versions de logiciels antivirus qui ont été validées avec les logiciels Rotor-Gene Q et Rotor-Gene AssayManager version 1.0 ou 2.1.

Quand vous choisissez un antivirus, vérifiez qu'il peut être configuré de façon à exclure des analyses le chemin d'accès du dossier de la base de données. Sinon, des erreurs de connexion à la base de données risquent de se produire. Puisque Rotor-Gene AssayManager versions 1.0 et 2.1 crée de nouvelles archives de base de données de façon dynamique, vous devez exclure le chemin d'accès du dossier et pas seulement des fichiers individuels. Nous ne recommandons pas l'utilisation de logiciels antivirus qui ne permettent d'exclure que des fichiers individuels, comme McAfee Antivirus Plus V16.0.5. Si l'ordinateur est utilisé dans un environnement sans accès réseau, vérifiez également que le logiciel antivirus prend en charge les mises à jour hors ligne.

Afin d'obtenir des résultats homogènes après l'installation d'un logiciel antivirus, les administrateurs système doivent veiller aux points suivants :

- Comme indiqué plus haut, le chemin d'accès du dossier de la base de données de Rotor-Gene AssayManager 1.0 et 2.1 (C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10\_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA) doit être exclu des analyses des fichiers.
- Les mises à jour de la base de données de virus ne sont pas effectuées lorsque Rotor-Gene AssayManager 1.0 ou 2.1 est en cours d'utilisation.
- Vérifiez que les analyses partielles ou complètes du disque dur sont désactivées pendant l'acquisition de données de real-time PCR. Sinon, les performances de l'instrument peuvent en être affectées.

Consultez le manuel du logiciel antivirus utilisé pour plus d'informations sur sa configuration.

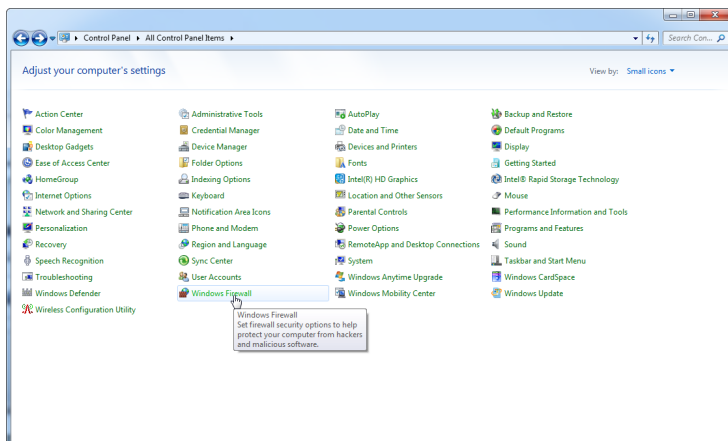
## Pare-feu et réseaux

Le logiciel Rotor-Gene Q peut être exécuté sur des ordinateurs sans accès réseau ou dans un environnement en réseau si un serveur de base de données distant est utilisé. Pour une utilisation en réseau, le pare-feu sur l'ordinateur portable fourni par QIAGEN est configuré de façon à bloquer le trafic entrant sur tous les ports, à l'exception de ceux qui sont nécessaires pour établir une connexion réseau.

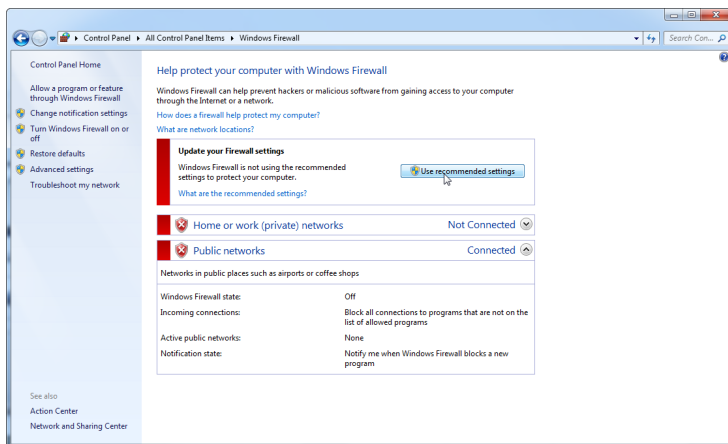
Notez que le blocage des connexions entrantes n'a aucune incidence sur les réponses aux requêtes de l'utilisateur. Les connexions sortantes sont autorisées, car elles peuvent être requises pour la récupération des mises à jour.

Si votre configuration est différente, QIAGEN recommande de configurer le pare-feu comme décrit précédemment. Pour ce faire, un administrateur système doit se connecter et procéder comme suit :

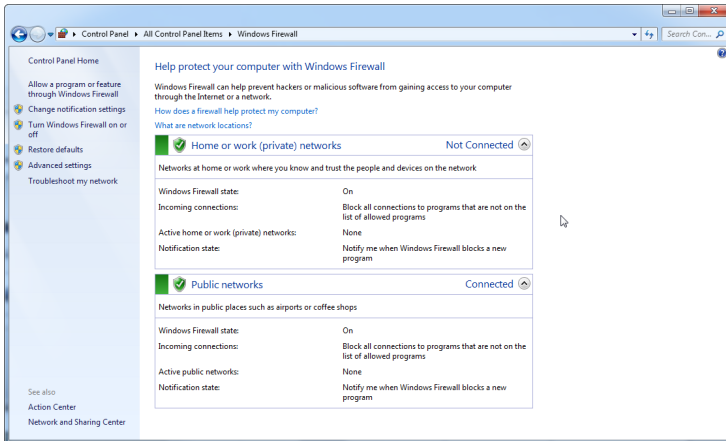
1. Ouvrez le Control Panel (Panneau de configuration) puis sélectionnez Windows Firewall (Pare-feu Windows).



2. Sélectionnez Use recommended settings (Utiliser les paramètres recommandés).

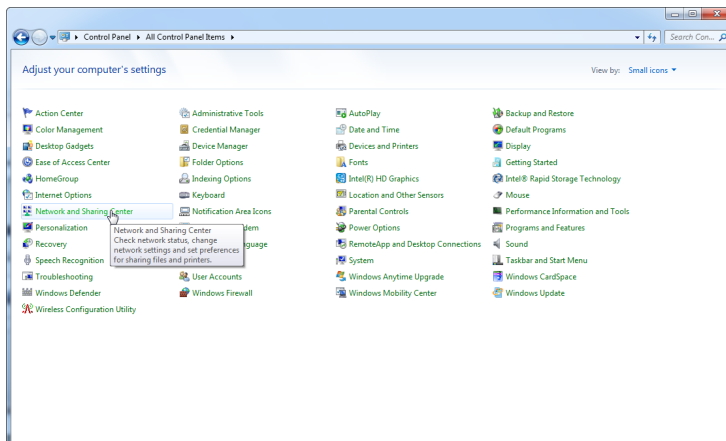


### 3. Vérifiez que les paramètres suivants sont activés :

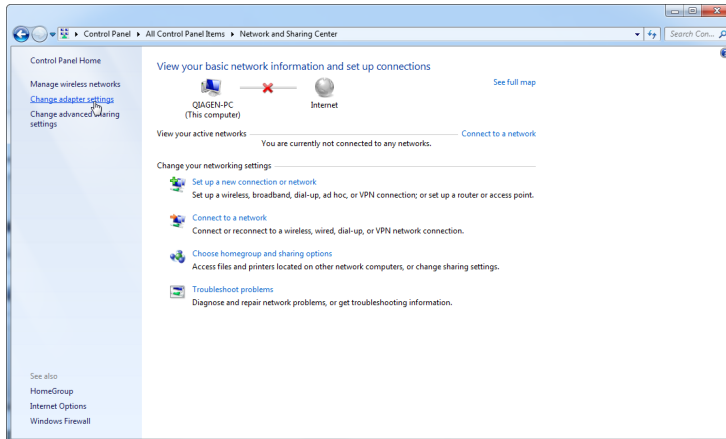


Pour des raisons de sécurité et de fiabilité, l'accès au réseau doit se faire par connexion câblée et non par Wi-Fi. La carte Wi-Fi intégrée aux ordinateurs portables fournis par QIAGEN est désactivée. Si votre configuration est différente, un administrateur système doit désactiver manuellement la carte Wi-Fi en procédant comme suit :

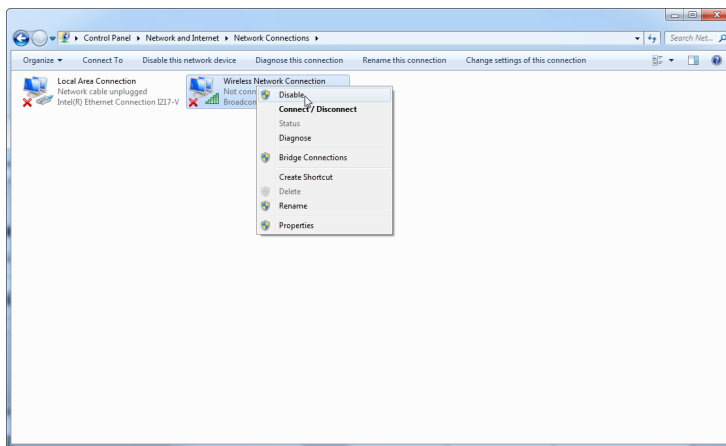
1. Ouvrez le Control Panel (Panneau de configuration) puis sélectionnez Network and Sharing Center (Centre Réseau et partage).



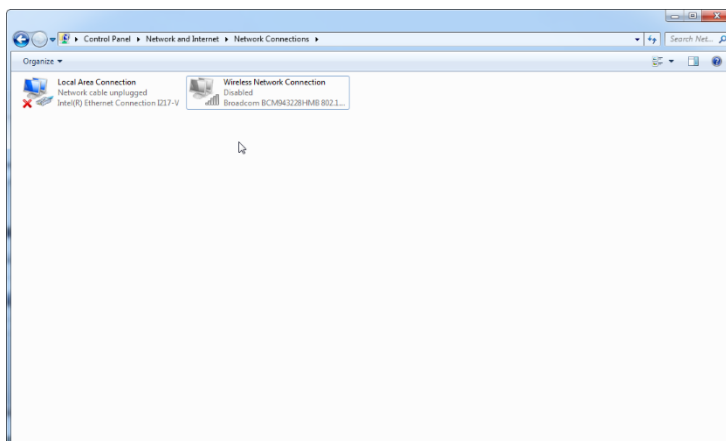
2. Sélectionnez Change adapter settings (Modifier les paramètres de la carte).



3. Passez le curseur de la souris sur Wireless Network Connection (Connexion réseau sans fil), faites un clic droit puis sélectionnez Disable (Désactiver) dans le menu contextuel.



4. Vérifiez que la connexion réseau sans fil est bien désactivée.



## Outils système

De nombreux outils système peuvent utiliser d'importantes ressources système même en l'absence d'intervention des utilisateurs. Voici quelques exemples types de ces outils :

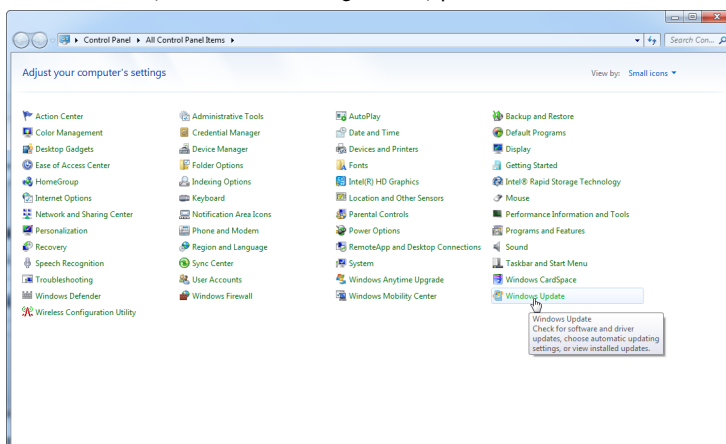
- L'indexation des fichiers, qui est effectuée comme tâche en arrière-plan par de nombreuses applications Office actuelles
- La défragmentation du disque, qui emploie aussi souvent une tâche en arrière-plan
- Tout logiciel recherchant des mises à jour sur Internet
- Les outils de gestion et de surveillance à distance

Notez que, compte tenu de la nature dynamique de l'univers informatique, cette liste ne peut être exhaustive et des outils inconnus au moment de la rédaction de ce manuel peuvent devenir disponibles. Il est important que les administrateurs système veillent à ce que de tels outils ne soient pas actifs pendant un cycle de PCR.

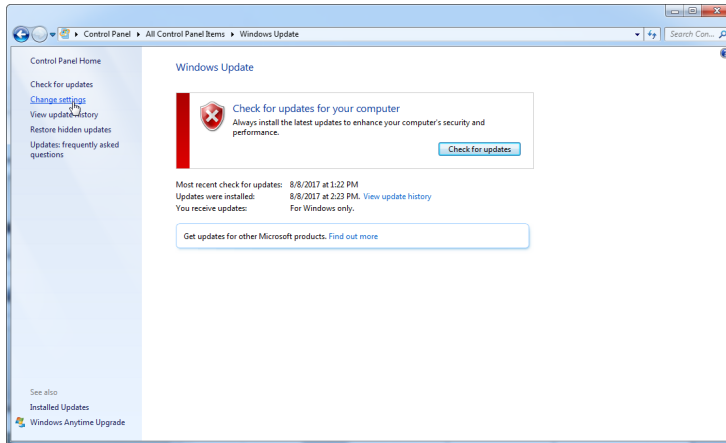
## Mises à jour du système d'exploitation

Les ordinateurs portables fournis par QIAGEN sont configurés de sorte que les mises à jour automatiques du système d'exploitation soient désactivées. Si votre configuration est différente, un administrateur système doit désactiver les mises à jour automatiques du système d'exploitation en procédant comme suit :

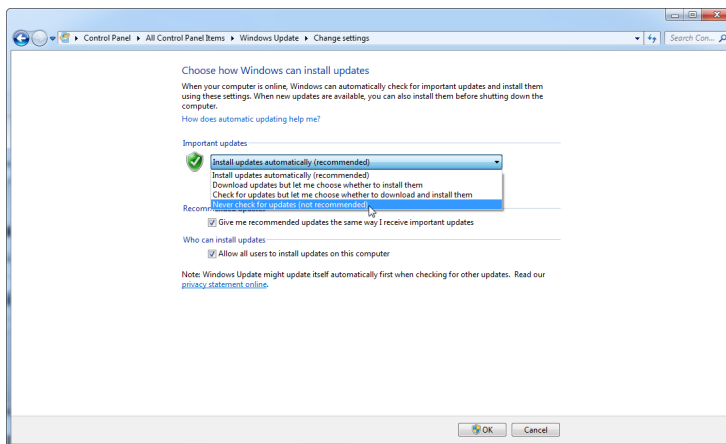
1. Ouvrez le Control Panel (Panneau de configuration) puis sélectionnez Windows Update.



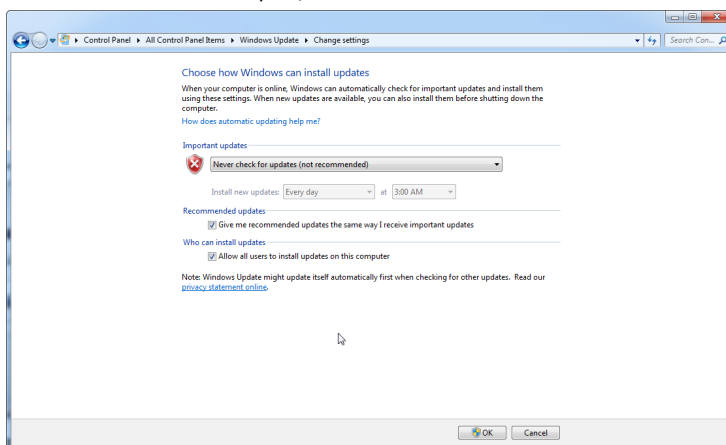
2. Sélectionnez Change settings (Modifier les paramètres).



3. Sélectionnez Never check for updates (Ne jamais rechercher de mises à jour).



4. Vérifiez sous Important updates (Mises à jour importantes) que l'option Never check for updates (Ne jamais rechercher de mises à jour) est bien active.



Si des mises à jour sont requises en raison de vulnérabilités nouvellement identifiées, QIAGEN offre la possibilité d'installer un ensemble spécifique de correctifs de sécurité Windows validés, en ligne (si une connexion Internet est disponible sur l'ordinateur portable QIAGEN) ou via un package hors connexion préparé sur un ordinateur distinct connecté à Internet.

Consultez la page produit sur QIAGEN.com pour plus d'informations.


## 4.2 Exigences propres au site d'installation

Les instruments Rotor-Gene Q MDx ne doivent pas être exposés à la lumière directe du soleil et doivent être éloignés des sources de chaleur, des sources de vibration et des interférences électriques. Reportez-vous à l'annexe A pour voir les conditions de fonctionnement (température et humidité). Le site d'installation doit être exempt de courants d'air, d'humidité et de poussière en excès, et ne pas être soumis à de fortes variations de température.


Reportez-vous à l'annexe A pour connaître le poids et les dimensions des instruments Rotor-Gene Q MDx. Veillez à ce que la paillasse soit sèche, propre et dotée d'un espace supplémentaire pour les accessoires. Pour plus d'informations sur les spécifications requises de la paillasse, contactez les services techniques QIAGEN.

Remarque : il est extrêmement important que l'instrument Rotor-Gene Q MDx repose sur une surface stable, de niveau et dépourvue de vibrations. Reportez-vous aux conditions de fonctionnement, en annexe A.

L'instrument Rotor-Gene Q MDx doit se trouver à environ 1,5 m d'une prise secteur CA correctement mise à la terre (masse).

<p><b>AVERTISSE- MENT</b></p> 	<p><b>Atmosphère explosive</b> L'instrument Rotor-Gene Q MDx n'est pas conçu pour une utilisation dans une atmosphère explosive.</p>
---	--



<b>AVERTISSEMENT</b> 	<b>Risque de surchauffe</b> Afin de garantir une bonne ventilation, laissez un dégagement d'au moins 10 cm à l'arrière de l'instrument Rotor-Gene Q MDx.  Les fentes et les ouvertures qui garantissent la ventilation de l'instrument Rotor-Gene Q MDx ne doivent pas être obstruées.
---	---

## 4.3 Connexion d'alimentation CA

### 4.3.1 Alimentation requise

Le Rotor-Gene Q MDx fonctionne à :

- 100–240 V CA à 50–60 Hz, 520 VA (maximum)

Assurez-vous que la tension nominale du Rotor-Gene Q MDx est compatible avec la tension alternative disponible sur le site d'installation. Les variations de tension de l'alimentation secteur ne doivent pas excéder 10 % des tensions d'alimentation nominales.

### 4.3.2 Exigences de mise à la terre

Afin de protéger le personnel d'exploitation, QIAGEN recommande de mettre correctement le Rotor-Gene Q MDx à la terre (masse). L'instrument est équipé d'un cordon d'alimentation CA à 3 conducteurs qui relie l'instrument à la terre lorsqu'il est connecté à une prise secteur CA adaptée. Pour préserver cette caractéristique de protection, ne faites pas fonctionner l'instrument sur une prise secteur CA dépourvue de connexion de terre (masse).

### 4.3.3 Installation du cordon d'alimentation CA

Connectez une extrémité du cordon d'alimentation CA à la prise située à l'arrière de l'instrument Rotor-Gene Q MDx et l'autre extrémité à la prise secteur CA.

## 4.4 Configuration de sécurité pour Windows

Les ordinateurs portables fournis par QIAGEN à utiliser avec votre instrument Rotor-Gene Q MDx peuvent disposer d'une version préinstallée de Microsoft Windows 7 ou 10, et sont configurés avec un compte d'utilisateur Windows standard (sans droits d'administration) et un compte d'administrateur. Pour l'utilisation courante du système, vous devez utiliser le compte standard, car les logiciels Rotor-Gene Q et Rotor-Gene AssayManager version 1.0 ou 2.1 sont conçus pour être exécutés sans droits d'administration. Le compte d'administrateur – celui qui a l'arrière-plan rouge – ne doit être utilisé que pour installer les logiciels Rotor-Gene Q ou Rotor-Gene AssayManager version 1.0 ou 2.1 et des logiciels supplémentaires sur des ordinateurs connectés aux instruments Rotor-Gene Q MDx (voir la section « Logiciel antivirus »). L'utilisation du compte d'administrateur est indiquée par un arrière-plan rouge. Veillez à toujours vous connecter en tant qu'utilisateur standard pour une utilisation courante.

Q1a#g3n!A6 est le mot de passe par défaut du compte d'administrateur. Veuillez modifier ce mot de passe après votre première connexion. Assurez-vous que le mot de passe est sécurisé et faites en sorte de ne pas le perdre. Aucun mot de passe n'est configuré pour le compte d'opérateur.

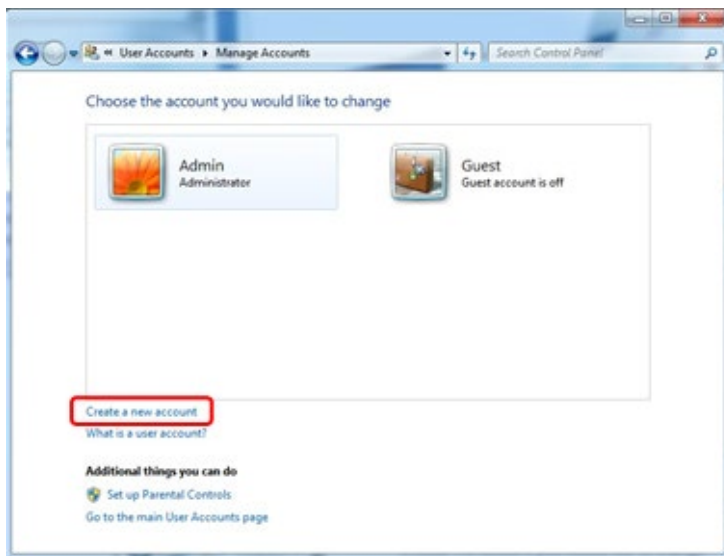
Si vous perdez le mot de passe administrateur de l'ordinateur portable, il est recommandé de contacter Microsoft pour obtenir de l'aide.

Si votre configuration est différente et qu'elle est dépourvue de compte sans droits d'administration, les administrateurs système doivent configurer un compte d'utilisateur Windows standard supplémentaire afin de bloquer l'accès aux zones critiques du système, comme Program Files, le répertoire Windows (p. ex. l'accès à la fonctionnalité d'installation ou de désinstallation, notamment des applications et des composants du système d'exploitation, les paramètres de date et heure, les mises à jour Windows, le pare-feu, les droits et rôles des utilisateurs et l'activation antivirus) ou encore les paramètres liés aux performances comme le mode d'économie d'énergie.

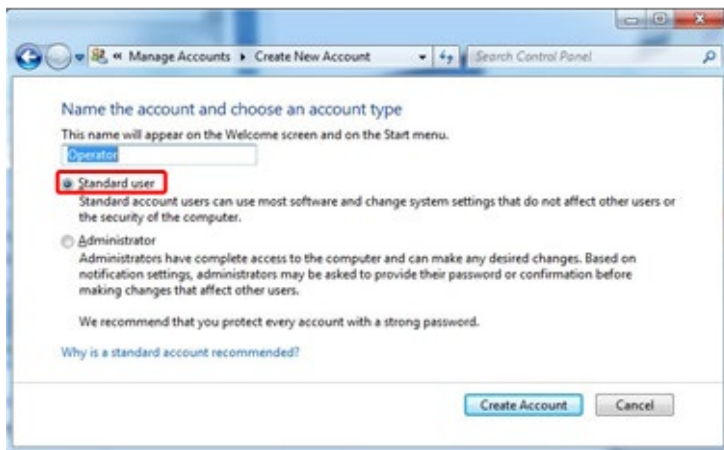
Pour créer un compte d'utilisateur standard dans Windows 7, suivez les étapes indiquées dans la section « Création d'un nouveau compte d'utilisateur » :

Ouvrez le panneau de configuration de Windows via le menu Start (Démarrer) puis sélectionnez User Accounts (Comptes d'utilisateurs) > Manage Accounts (Gérer les comptes).

1. Choisissez Create a new account (Créer un nouveau compte).



2. Nommez le compte puis sélectionnez Standard User (Utilisateur standard) comme type de compte.



3. Cliquez sur Create Account (Créer un compte).

## 4.5 Configuration requise pour la station de travail

L'ordinateur portable, qui peut être fourni avec le Rotor-Gene Q MDx, présente la configuration requise pour le logiciel Rotor-Gene Q, détaillée dans le tableau ci-dessous.

### Configuration requise pour le système de la station de travail

Description	Configuration minimale requise
Système d'exploitation	Microsoft® Windows® 10 Professionnel (64 bits) ; Microsoft Windows 7 Professionnel (32 bits ou 64 bits)* (Service Pack 1)
Processeur	Intel® Core™ 2 Duo 1,66 GHz ou plus
Mémoire principale	Minimum 1 Go de RAM
Espace disque	Lecteur de disque dur minimum 10 Go
Carte graphique	Adaptateur et écran avec au moins 1 200 x 800 pixels
Ports	Port série RS-232 ou port USB
Dispositif de pointage	Pavé tactile, souris ou équivalent si nécessaire
Bluetooth	Doit être désactivé
Visionneuse PDF ou similaire	Doit être installée ; ne fait pas partie du package d'installation du logiciel
Options d'alimentation	Ne jamais mettre les disques durs en veille, en veille prolongée ou hors tension

\* Microsoft Windows 10 ou Windows 7 Professionnel est requis pour pouvoir exécuter le logiciel Rotor-Gene Q avec les fonctionnalités de sécurité (voir la section 6.9). Les fonctionnalités de sécurité ne sont pas disponibles si vous utilisez l'édition familiale de Windows 10 ou Windows 7.

† Lorsque vous utilisez le logiciel Rotor-Gene AssayManager® version 1.0 ou 2.1, la configuration minimale requise pour le PC est différente : processeur Intel Core i3-380M, 4 Go de RAM en mémoire principale, 250 Go d'espace disque, port USB requis.

## 4.6 Déballage et installation du Rotor-Gene Q MDx

Le Rotor-Gene Q MDx vous est fourni avec tous les composants nécessaires à l'installation et à l'utilisation de l'instrument. Le carton contient également une liste de tous les composants fournis.

Remarque : consultez cette liste pour vous assurer d'avoir tous les composants.

Remarque : vérifiez avant l'installation que l'instrument et les accessoires fournis n'ont pas été endommagés pendant le transport.

Le carton des accessoires se trouve au-dessus de la garniture en mousse. Le carton des accessoires contient :

- Guide d'installation (en anglais, traductions disponibles sur les supports amovibles accompagnant les manuels)
- Support amovible (logiciel)
- Support amovible (manuels)

- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (démonté pour un transport en toute sécurité)
- 36-Well Rotor (ce rotor est de couleur rouge)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Les éléments suivants sont emballés de part et d'autre de la garniture en mousse :

- Câble USB et câble série RS-232
- Cordons d'alimentation internationaux
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

Une fois que vous avez sorti tous les composants du carton, ôtez la garniture en mousse qui se trouve au-dessus du Rotor-Gene Q MDx. Sortez délicatement le Rotor-Gene Q MDx du carton et retirez son emballage en plastique. Ouvrez le capot en le faisant glisser vers l'arrière pour accéder à la chambre de réaction.

Les éléments suivants sont déjà installés dans le Rotor-Gene Q MDx :

- 72-Well Rotor (ce rotor est de couleur bleue)
- 72-Well Rotor Locking Ring

Selon votre commande, vous trouverez aussi un ordinateur portable dans le carton.

#### 4.6.1 Mise à jour logicielle

Des mises à jour logicielles sont disponibles sur le site Internet de QIAGEN sur <https://www.qiagen.com/products/instruments-and-automation/pcr-instruments/rotor-gene-q-mdx/>, vous pouvez également y accéder à partir du menu Help (Aide) du logiciel. Pour télécharger le logiciel, il est nécessaire de s'inscrire en ligne.

## 4.7 Accessoires

Les Rotor-Discs et leurs accessoires peuvent être commandés séparément pour une utilisation avec le Rotor-Gene Q MDx. Pour plus de détails, consultez la section 16.

---

## 4.8 Remballage et expédition du Rotor-Gene Q MDx

Lorsque vous remballiez le Rotor-Gene Q MDx pour expédition, vous devez utiliser l'emballage d'origine. Si vous n'avez plus l'emballage d'origine, contactez les services techniques QIAGEN. Assurez-vous que l'instrument a été correctement préparé (voir la section Maintenance) avant l'emballage et qu'il ne présente aucun risque biologique ou chimique.


## 4.9 Pour commencer


### 4.9.1 Mise sous tension du Rotor-Gene Q MDx et de la station de travail

Assurez-vous que le Rotor-Gene Q est connecté à l'ordinateur portable par USB ou RS-232 puis assurez-vous que l'ordinateur portable et le Rotor-Gene Q sont branchés et sous tension.

## 5 Procédures d'utilisation

Avant d'aller plus loin, nous vous recommandons de vous familiariser avec les caractéristiques de l'instrument en vous reportant à la section 3.

<b>ATTENTION</b> 	<b>Détérioration de l'instrument</b> Utilisez exclusivement des Flow Cells et des consommables QIAGEN avec le Rotor-Gene Q MDx. Les détériorations dues à l'utilisation d'autres types de Flow Cells ou de consommables annulent la garantie.
---	--

<b>ATTENTION</b> 	<b>Risque de dommages matériels</b> Ne déplacez pas la paillasse et ne faites subir aucune vibration au Rotor-Gene Q MDx en cours de fonctionnement pour ne pas perturber les mesures optiques sensibles.
---	--

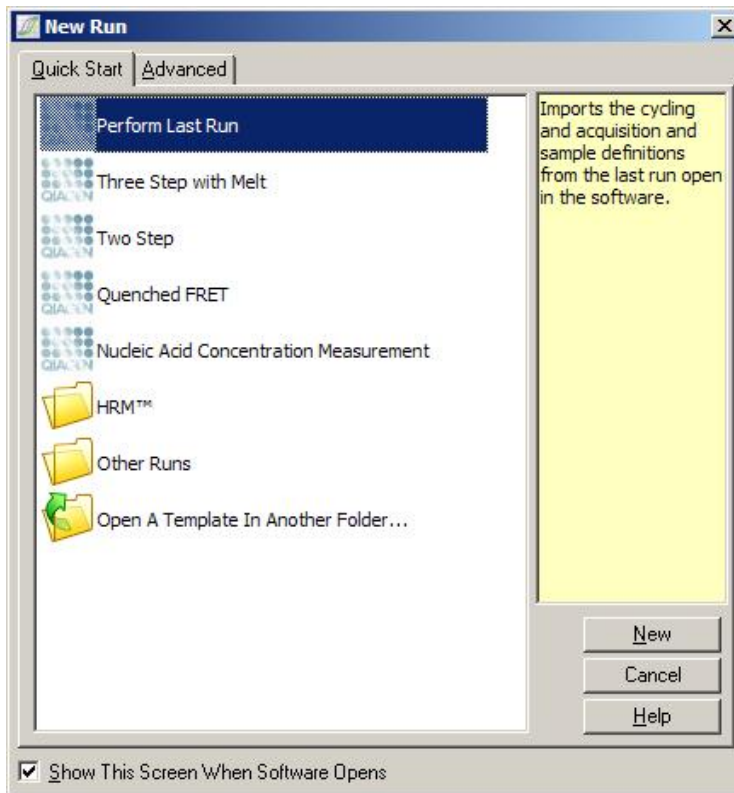
### 5.1 Utilisation du logiciel Rotor-Gene Q MDx

Vous pouvez configurer de nouveaux cycles d'exécution à l'aide de l'assistant de démarrage rapide ou de l'assistant avancé, qui apparaissent une fois le logiciel démarré. L'assistant de démarrage rapide est conçu pour permettre à l'utilisateur de lancer un cycle d'exécution le plus vite possible. L'assistant avancé offre davantage d'options, comme la configuration de l'optimisation du gain et des paramètres de volume. Pour vous aider, les assistants contiennent un certain nombre de modèles avec des conditions de cycle et des canaux d'acquisition par défaut. Pour changer de type d'assistant, sélectionnez l'onglet correspondant en haut de la fenêtre New Run (Nouveau cycle).

#### 5.1.1 Assistant de démarrage rapide

L'assistant de démarrage rapide permet à l'utilisateur de lancer un cycle d'exécution le plus vite possible. L'utilisateur peut faire son choix parmi un ensemble de modèles couramment utilisés et saisir un minimum de paramètres avant de commencer. Dans l'assistant de démarrage rapide, le volume réactionnel est de 25 µl. Pour d'autres volumes réactionnels, utilisez l'assistant avancé (voir la section 5.1.2).

Avant tout, sélectionnez le modèle de votre choix pour le cycle d'exécution en double-cliquant dessus dans la liste de la fenêtre New Run (Nouveau cycle).



- |   |  |
|---|--|
| Perform Last Run<br>(Exécuter le dernier cycle) :   | Perform Last Run (Exécuter le dernier cycle) permet d'utiliser le cycle, l'acquisition et les définitions des échantillons du dernier cycle d'exécution ouvert dans le logiciel.       |
| Three Step with Melt (Trois paliers avec fusion) :  | Il s'agit d'un profil de cycle à trois paliers et d'une courbe de fusion avec acquisition de données sur le canal vert.  |
| Two Step (Deux paliers) :   | Il s'agit d'un profil de cycle à deux paliers avec acquisition de données sur les canaux vert, jaune, orange et rouge.   |
| Quenched FRET (FRET quenché) :  | Il s'agit d'un profil de cycle à trois paliers et d'une courbe de fusion. Contrairement au profil Trois paliers avec fusion, l'acquisition se fait à la fin du palier de renaturation. |
| Nucleic Acid Concentration Measurement (Mesure de la concentration d'acides nucléiques) : | Il s'agit d'un modèle par défaut destiné à mesurer la concentration d'acides nucléiques à l'aide de colorants intercalants.  |
| HRM :   | Ce dossier contient les profils de fusion haute résolution (High Resolution Melt, HRM).  |
| Other Runs (Autres cycles) :  | Ce dossier contient des profils supplémentaires.   |

Les profils de cycle et d'acquisition pour tous les modèles peuvent être modifiés à l'aide de l'assistant.



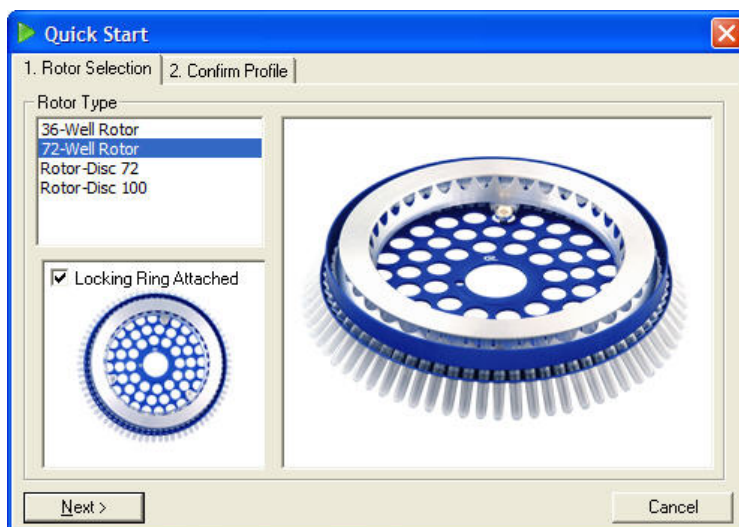
Remarque : vous pouvez ajouter des modèles que vous avez définis à la liste des modèles de l'assistant de démarrage rapide en copiant ou en enregistrant les fichiers \*.ret dans C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates. Une fois qu'un fichier est copié sur ce chemin d'accès, le modèle apparaît sous forme d'icône dans la liste. Si vous souhaitez personnaliser les icônes de vos modèles, créez une image \*.ico portant le même nom de fichier que le modèle.

Vous pouvez créer des sous-dossiers pour des modèles liés à un groupe. Cela permet de classer les modèles, cela peut se révéler pratique si, par exemple, plusieurs utilisateurs utilisent le même instrument.

### Sélection du rotor

Dans la fenêtre suivante, sélectionnez le type de rotor dans la liste.

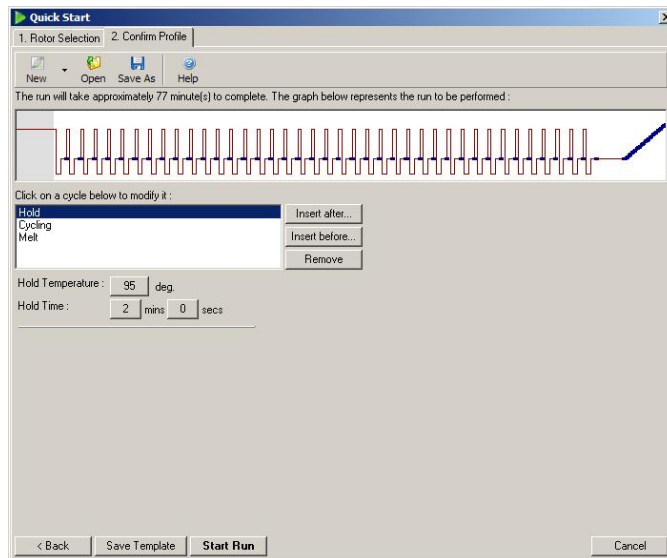
Cochez la case Locking Ring Attached (Bague de verrouillage posée) puis cliquez sur Next (Suivant).



### Confirmation du profil

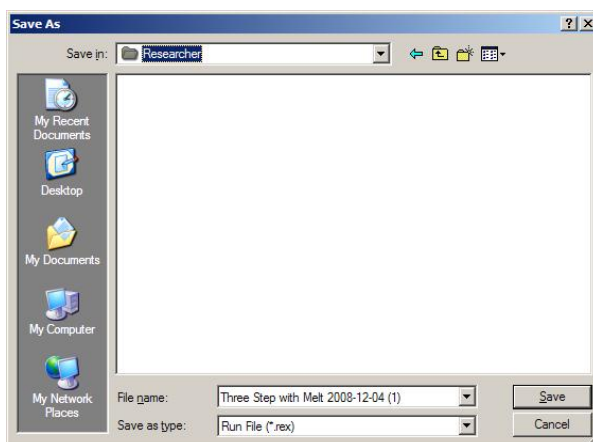
Les conditions de cycle et les canaux d'acquisition du modèle choisi sont importés. Ces éléments peuvent être modifiés dans la fenêtre Edit Profile (Modifier le profil) (voir la section « Modifier le profil »).

Pour lancer un cycle d'exécution, cliquez sur le bouton Start Run (Démarrer le cycle). Il est également possible d'enregistrer le modèle avant de démarrer le cycle en cliquant sur Save Template (Enregistrer le modèle).



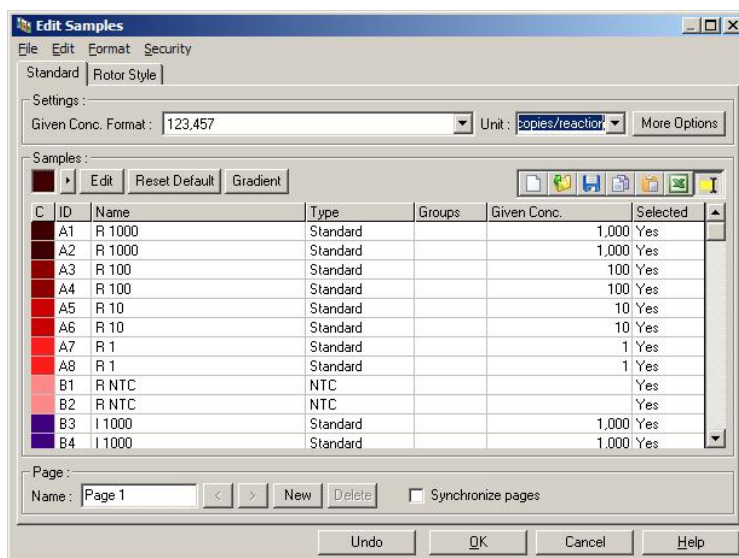
### Enregistrement du cycle d'exécution

Une fois que vous avez cliqué sur le bouton Start Run (Démarrer le cycle), la fenêtre Save As (Enregistrer sous) apparaît. Le cycle d'exécution peut être enregistré sur l'emplacement choisi par l'utilisateur. Un nom de fichier est attribué au cycle d'exécution, il comprend le modèle utilisé et la date du cycle. Un numéro de série (1, 2, etc.) est aussi intégré au nom de fichier, cela permet de nommer de façon automatique de nombreux cycles d'exécution qui utilisent le même modèle le même jour.



## Configuration des échantillons

Une fois le cycle d'exécution démarré, la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons) permet de définir et de décrire les échantillons.

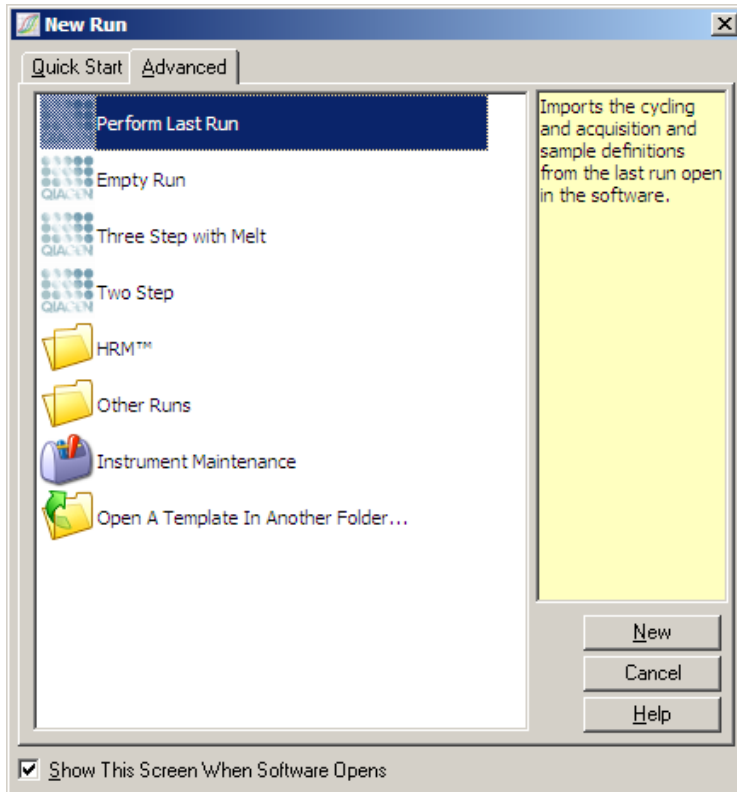


La fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons) apparaît après le début du cycle d'exécution, ainsi l'utilisateur a le temps de saisir les noms des échantillons. Si les noms des échantillons sont saisis très rapidement en cours de cycle (p. ex. avec un lecteur de code-barres), cela peut entraîner le transfert de lettres dans les noms des échantillons. Mieux vaut donc éviter l'utilisation d'un lecteur de code-barres et, le cas échéant, saisir les noms des échantillons une fois le cycle terminé. Pour plus d'informations sur la configuration des définitions des échantillons dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons), consultez la section 6.8.4.

### 5.1.2 Assistant avancé

L'assistant avancé propose des options qui ne sont pas disponibles dans l'assistant de démarrage rapide, comme la configuration de l'optimisation du gain.

Pour utiliser l'assistant avancé, sélectionnez un modèle en double-cliquant sur son nom dans la liste sous l'onglet Advanced (Avancé) de la fenêtre New Run (Nouveau cycle).



Les options de modèle présentées dans cette fenêtre sont similaires à celles présentées lorsque vous utilisez l'assistant de démarrage rapide (section 5.1.1).

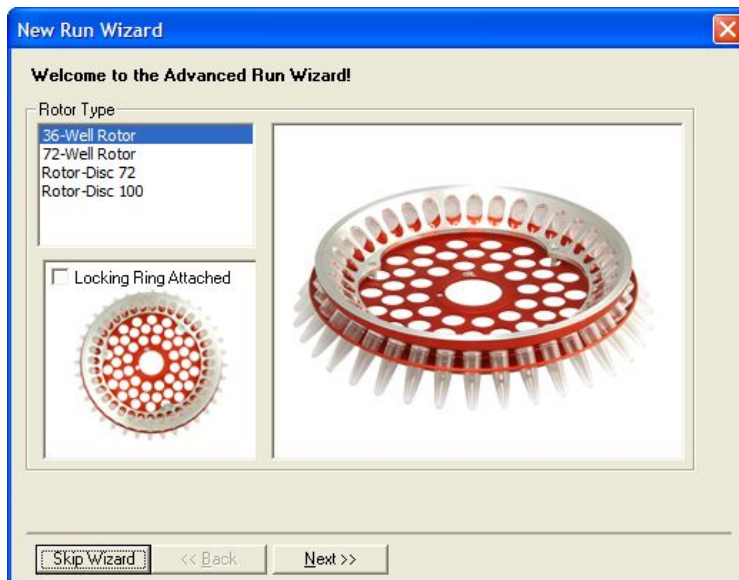
Perform Last Run (Exécuter le dernier cycle) :	Perform Last Run (Exécuter le dernier cycle) permet d'importer le cycle, l'acquisition et les définitions des échantillons du dernier cycle d'exécution ouvert dans le logiciel.
Empty Run (Cycle vide) :	Il s'agit d'un cycle d'exécution vide qui permet à l'utilisateur de définir tous les paramètres du profil.
Three Step with Melt (Trois paliers avec fusion) :	Il s'agit d'un profil de cycle à deux paliers avec acquisition de données sur le canal vert uniquement, pour accélérer le cycle.
HRM :	Ce dossier contient 2 profils de fusion haute résolution.
Other Runs (Autres cycles) :	Ce dossier contient des profils supplémentaires.
Instrument Maintenance (Maintenance de l'instrument) :	Contient le modèle utilisé pendant la vérification de la température optique (Optical Temperature Verification, OTV). Pour plus d'informations, consultez la section 9. Ce modèle est verrouillé afin de garantir que le profil fonctionnera toujours correctement.

Remarque : vous pouvez ajouter des modèles que vous avez définis à la liste des modèles en copiant ou en enregistrant les fichiers \*.ret dans C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\. Une fois qu'un fichier est copié sur ce chemin d'accès, le modèle apparaît sous forme d'icône dans la liste.

## Assistant Nouveau cycle – Fenêtre 1

Dans la fenêtre suivante, sélectionnez le type de rotor dans la liste.

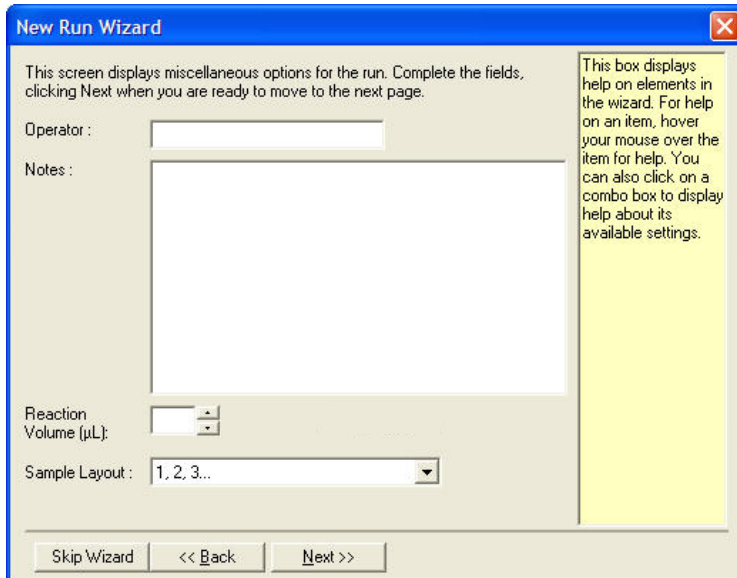
Cochez la case Locking Ring Attached (Bague de verrouillage posée) puis cliquez sur Next (Suivant) pour poursuivre.



## Assistant Nouveau cycle – Fenêtre 2

Dans la fenêtre suivante, vous pouvez saisir le nom de l'utilisateur et des remarques sur le cycle d'exécution. Vous devez aussi saisir le volume réactionnel.

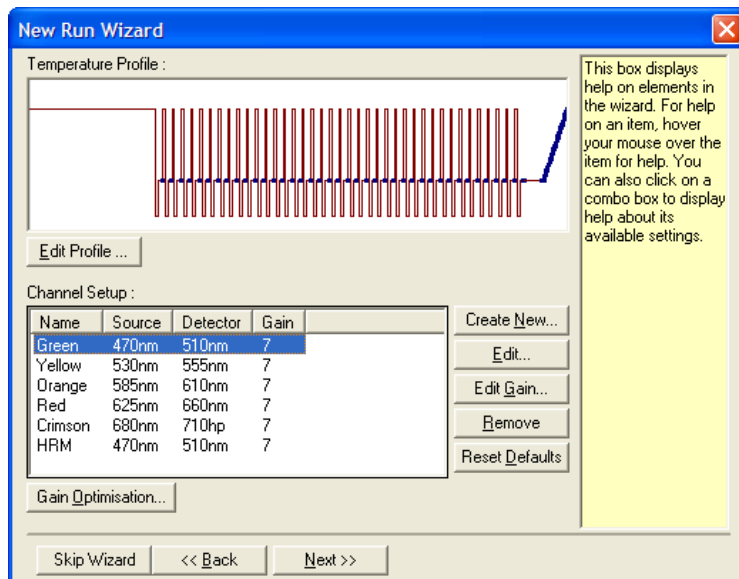
Si vous avez sélectionné le 72-Well Rotor dans la fenêtre 1, trois options Sample Layout (Disposition des échantillons) sont proposées dans le menu déroulant. « 1, 2, 3... » est l'option par défaut. La plupart des utilisateurs choisissent cette option. Vous devez choisir « 1A, 1B, 1C... » lorsque les échantillons ont été chargés dans des Strip Tubes 0.1 ml adjacents à l'aide d'une pipette multicanaux à 8 canaux. La disposition « A1, A2, A3... » peut être sélectionnée si elle vous convient.



### Assistant Nouveau cycle – Fenêtre 3

Dans cette fenêtre, vous pouvez modifier le Temperature Profile (Profil de température) et la Channel Setup (Configuration du canal). Si vous cliquez sur le bouton Edit Profile... (Modifier le profil...), la fenêtre Edit Profile (Modifier le profil) apparaît, vous pouvez y modifier les conditions de cycle et y sélectionner les canaux d'acquisition (section Modifier le profil).

Après avoir configuré le profil, cliquez sur le bouton Gain Optimisation... (Optimisation du gain...) pour ouvrir la fenêtre Gain Optimisation (Optimisation du gain) (voir page 64).



## Modifier le profil

La fenêtre Edit Profile (Modifier le profil) permet de spécifier les conditions de cycle et les canaux d'acquisition. Le profil initial affiché est basé sur le modèle sélectionné lorsque vous configurez le cycle d'exécution (voir page 47). Le profil est affiché sous forme graphique. La liste des segments du profil apparaît sous l'affichage graphique. Cette liste peut inclure Hold (Maintien) (page 55), Cycling (Cycle) (page 57), Melt (Fusion) (page 57) ou HRM si l'instrument dispose d'un canal de HRM (page 60).

Chaque étape du profil peut être modifiée en cliquant sur la zone correspondante de l'affichage graphique ou sur le nom dans la liste, puis en modifiant les paramètres qui apparaissent.

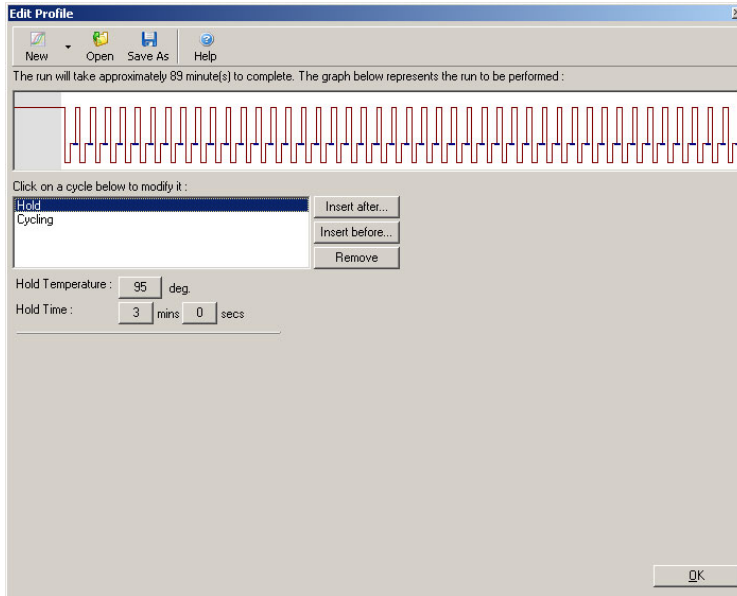
Insert after... (Insérer après...) : Permet d'ajouter un nouveau cycle d'exécution après le cycle sélectionné.

Insert before... (Insérer avant...) : Permet d'ajouter un nouveau cycle d'exécution avant le cycle sélectionné.

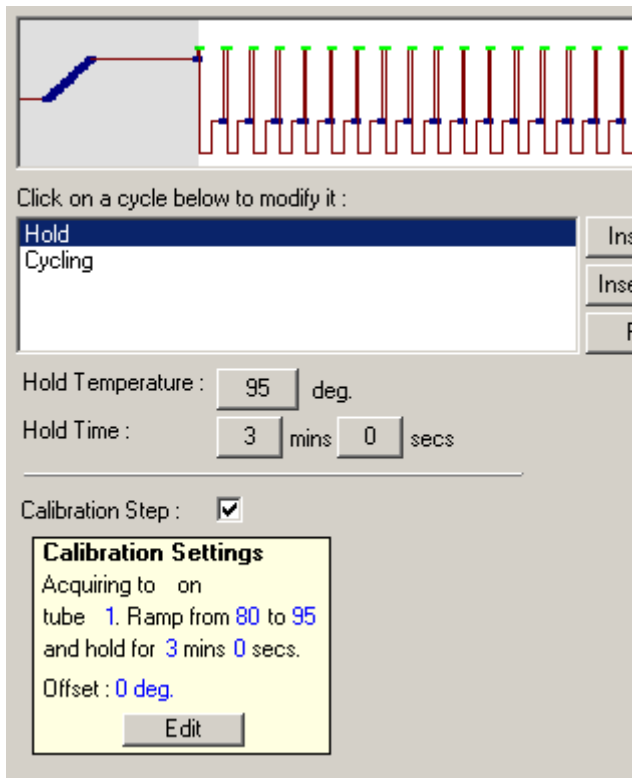
Remove (Retirer) : Permet de retirer le cycle sélectionné du profil.

## Maintien

Hold (Maintien) indique au Rotor-Gene Q MDx de maintenir la température désignée pendant une durée définie. Pour changer la température, cliquez sur le bouton Hold Temperature (Maintenir la température) puis saisissez une température ou utilisez le curseur pour sélectionner la température de votre choix. Pour changer la durée du maintien, cliquez sur les boutons Hold Time (Maintenir la durée), mins (minutes) et secs (secondes).



Si vous effectuez un cycle de dénaturation optique, vous pouvez utiliser un maintien comme palier d'étalonnage. Dans ce cas, une fusion d'étalonnage est réalisée avant le maintien. Par défaut, cette configuration s'applique au premier maintien du cycle, mais vous pouvez la modifier si nécessaire.





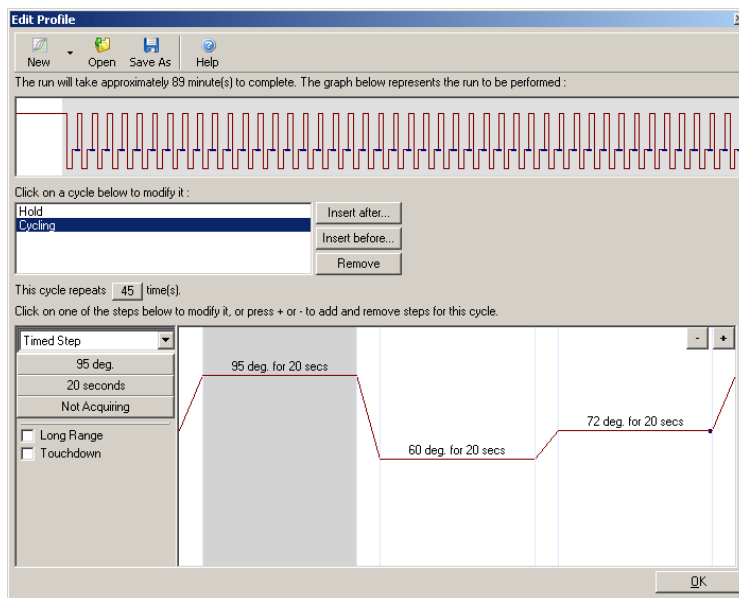
Pour plus d'informations sur le cycle de dénaturation optique, reportez-vous à la page 60.

## Cycle

Cycling (Cycle) permet de répéter un certain nombre de fois les paliers de température et de durée définis par l'utilisateur. Le nombre de répétitions est défini grâce au bouton This cycle repeats X time(s) (Ce cycle doit se répéter X fois).

Un cycle unique fait l'objet d'un affichage graphique (comme illustré sur la capture d'écran ci-après). Chaque palier du cycle peut être modifié. Vous pouvez modifier la température en faisant glisser la courbe de température sur le graphique vers le haut ou le bas. Vous pouvez modifier la durée du palier en faisant glisser la limite de température sur le graphique vers la gauche ou la droite. Vous pouvez également cliquer sur le palier puis utiliser les boutons de température et de durée situés à gauche du graphique.

Vous pouvez ajouter ou supprimer des paliers du cycle à l'aide des boutons « - » et « + » situés en haut à droite du graphique.



Long Range (Plage longue) : Cochez cette case pour augmenter la durée du maintien du palier sélectionné de 1 s à chaque nouveau cycle.

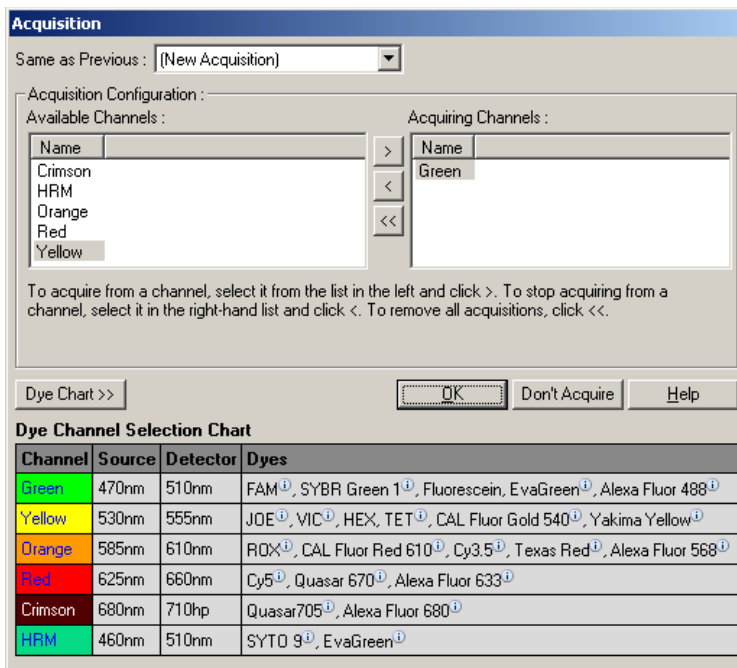
Touchdown (Diminution) : Cochez cette case pour diminuer la température d'un certain nombre de degrés pour un certain nombre de cycles initiaux. Cela apparaît ensuite sur l'affichage.


## Acquisition



Les données peuvent être acquises sur n'importe quel canal à n'importe quel palier du cycle. Pour définir un canal d'acquisition de données, cliquez sur le bouton Not Acquiring (Pas d'acquisition) (si un canal a déjà été défini pour l'acquisition à ce palier, les canaux d'acquisition sont répertoriés ici).



Une fois que vous avez cliqué sur le bouton Not Acquiring (Pas d'acquisition), la fenêtre Acquisition apparaît.



Pour définir un canal d'acquisition, sélectionnez le canal et déplacez-le de la liste « Available Channels » (Canaux disponibles) à la liste « Acquiring Channels » (Canaux d'acquisition) à l'aide du bouton . Pour retirer un canal sélectionné de la liste « Acquiring Channels »

(Canaux d'acquisition), utilisez le bouton . Le bouton  permet de retirer tous les canaux de la liste « Acquiring Channels » (Canaux d'acquisition). Cliquez sur le bouton Don't Acquire (Ne pas acquérir) pour supprimer toutes les acquisitions du palier.

Si plusieurs séquences du cycle sont incluses au profil, les données acquises peuvent être ajoutées aux données acquises au cours du cycle précédent. Utilisez le menu déroulant Same as Previous (Identique au précédent) pour sélectionner le palier du cycle auquel les données doivent être ajoutées.

Le Dye Channel Selection Chart (Tableau de sélection du canal du colorant) permet à l'utilisateur de choisir le canal adapté au colorant qu'il souhaite utiliser. Les colorants figurant dans le tableau sont communément utilisés, ils n'indiquent en rien les limites de l'instrument.

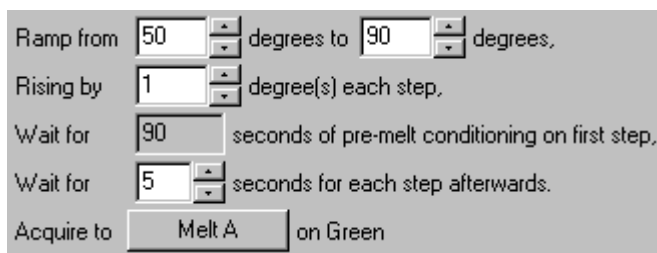
Les options d'acquisition décrites ci-dessus s'appliquent aussi aux paliers de « Melt » (Fusion), si ce n'est qu'il est impossible d'ajouter des données d'acquisition avec le menu Same as Previous (Identique au précédent).

### Fusion et hybridation

Une fusion est une rampe entre 2 températures, d'une température basse à une température élevée. La plage de température va de 35 à 99 °C.

Pour définir une fusion, indiquez la température de début, la température de fin, les incréments de température, la durée du maintien à la température de la première acquisition avant le début de la rampe, la durée du maintien de chaque incrément et les canaux d'acquisition.

La rampe est générée entre les 2 températures. Si la température de début est supérieure à la température de fin, le nom du palier devient Hybridation (Hybridation). L'option Acquire to (Acquérir dans), définie sur Melt A (Fusion A) sur la capture d'écran ci-dessous, peut être modifiée en cliquant sur le bouton. La fenêtre Acquisition s'ouvre et vous pouvez y sélectionner les canaux.



Ramp from  degrees to  degrees,  
Rising by  degree(s) each step,  
Wait for  seconds of pre-melt conditioning on first step,  
Wait for  seconds for each step afterwards.  
Acquire to  on Green

Lorsque vous effectuez une fusion standard, la température est augmentée par incréments de 1 °C et 5 secondes s'écoulent avant chaque acquisition. Le Rotor-Gene Q MDx peut être configuré pour effectuer des fusions par incréments de 0,02 °C. La durée minimale du maintien entre les paliers de température varie selon le nombre de degrés entre chaque palier.

### Fusion haute résolution

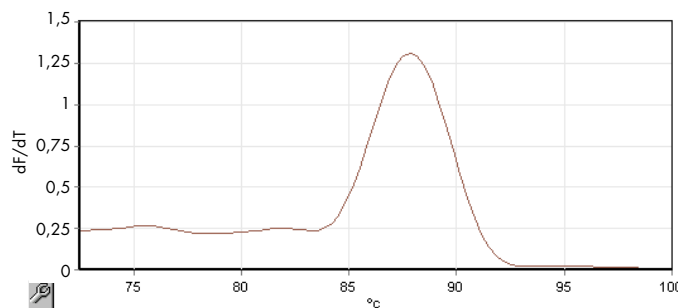
L'analyse de fusion haute résolution (High Resolution Melt, HRM) permet de caractériser les échantillons d'ADN double brin d'après leur comportement de dissociation (fusion). Elle est similaire à l'analyse de courbe de fusion classique, mais donne bien plus d'informations pour un plus grand nombre d'applications. Il est possible de distinguer les échantillons selon la séquence, la longueur, le taux de GC ou la complémentarité des brins, et jusqu'aux changements de paires de bases individuelles.

L'analyse High Resolution Melt, HRM ne peut être effectuée que sur les instruments équipés d'un matériel et d'un logiciel de HRM. Les données sont acquises à l'aide de sources et de détecteurs de HRM spécifiques. L'analyse HRM offre en outre la possibilité de réaliser l'optimisation du gain juste avant le début de la fusion. Après une HRM, les données peuvent être analysées avec un logiciel d'analyse HRM (section 10).

### Cycle de dénaturation optique

Le cycle de dénaturation optique est une technique d'excitation, disponible sur le Rotor-Gene Q MDx, qui permet une analyse de fusion en temps réel afin de déterminer le pic de fusion d'un échantillon de référence. Cela indique la dénaturation du produit de la PCR avec une précision plus importante qu'en définissant une température de dénaturation particulière pendant une durée de maintien. Pour utiliser cette technique, il suffit de mettre un tube de référence de produit de la PCR dans la position 1 du rotor. Le tube de référence doit aussi contenir un produit de détection capable de détecter la dissociation des brins.

Lors du chauffage à la température de dénaturation initiale, une fusion se produit sur le canal vert de 80 à 95 °C, par défaut. L'utilisateur peut ajuster les paramètres de cette fusion initiale. Une courbe de fusion est générée à partir de ces données et analysée automatiquement.

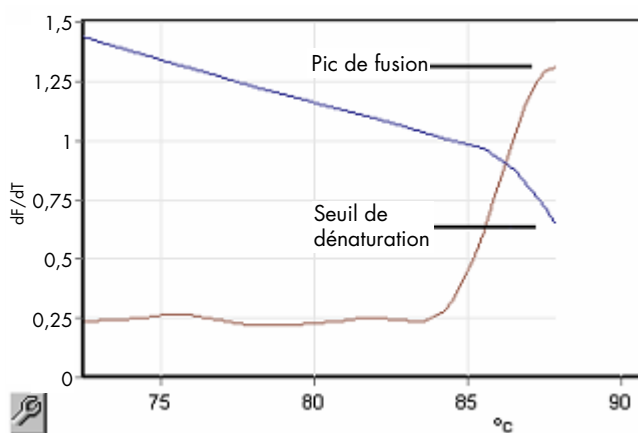


Le pic de fusion est comparé aux données brutes pour obtenir un seuil de dénaturation. Ensuite, à chaque palier du cycle de dénaturation optique, l'instrument est chauffé aussi vite que possible et les données sont acquises en continu.

Dès que le tube de référence atteint le niveau de fluorescence du seuil de dénaturation, l'instrument est immédiatement refroidi et passe au palier suivant programmé du cycle. Aucun pic n'est calculé

en cours de cycle. Le niveau de fluorescence est plutôt comparé au pic de fusion, cela permet de définir le seuil de dénaturation.

Sur le graphique suivant, les valeurs de fluorescence brute et la dérivée première ont été superposées. Cela montre la correspondance entre le seuil de dénaturation et le pic de fusion obtenu pendant l'étalonnage.



Pour effectuer un cycle de dénaturation optique, il vous faut :

- Un produit de la PCR préamplifié à mettre dans la position 1 du rotor. Cet échantillon doit contenir le même produit de la PCR que les échantillons d'intérêt ainsi qu'un produit de détection pour surveiller la dissociation du produit de la PCR.
- Un profil de dénaturation optique. Vous pouvez créer un nouveau profil ou modifier un profil existant (reportez-vous aux détails ci-après).

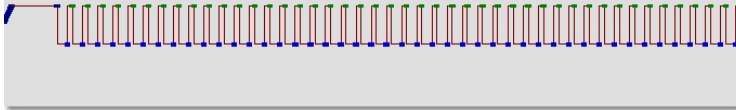
Un cycle de dénaturation optique semble quasiment identique aux autres cycles. Les principales différences sont le palier de fusion automatiquement ajouté au début du profil et le profil spécifique du palier de dénaturation en cours de cycle. Le cycle de dénaturation optique ne nécessite aucune durée de maintien dans la mesure où la dissociation du produit est surveillée à chaque cycle.

Pour utiliser cette technique, les informations suivantes sur le cycle d'exécution sont impératives :


- La température de dénaturation initiale. Il s'agit de la même température qu'au palier de dénaturation d'un profil de cycle standard.
- La position du tube de l'échantillon de PCR qui donnera une courbe de fusion sur le canal vert.
- Un profil de cycle de dénaturation optique doit être défini.

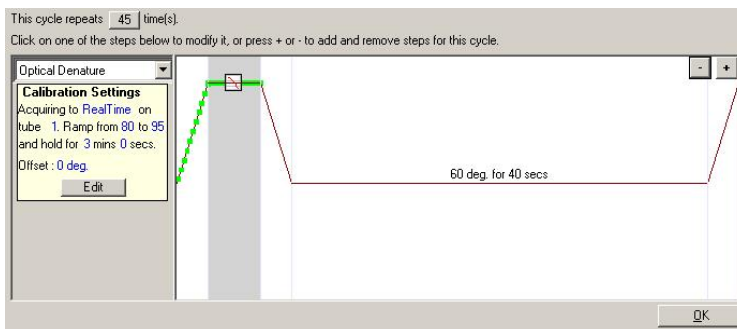
Créez un nouveau cycle de dénaturation optique comme suit.

1. Ouvrez la fenêtre Edit Profile (Modifier le profil). Cliquez sur New (Nouveau). Dans la fenêtre qui apparaît, cliquez sur le bouton Insert after (Insérer après) puis sélectionnez New Cycling (Nouveau cycle) dans le menu. Sélectionnez l'un des paliers de température en cliquant sur le graphique. Dans le menu déroulant, changez Timed Step (Palier automatique) en Optical Denature (Dénaturation optique). Un profil par défaut contenant un palier de dénaturation et un palier de cycle de dénaturation optique apparaît.

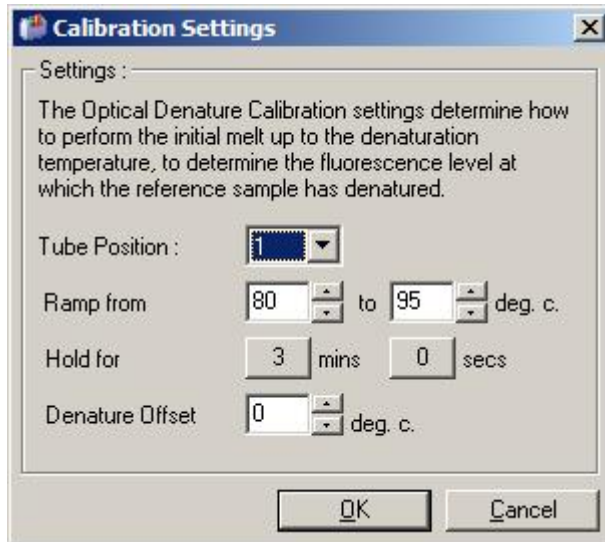


La partie plane en début de cycle d'exécution correspond au processus d'étalonnage. Les points verts représentent les acquisitions réalisées à chaque cycle en cours de chauffage. Les points bleus représentent l'acquisition à la fin du palier de renaturation à 60 °C. Notez que même si le profil montre chaque palier avec la même température de dénaturation, ce n'est peut-être pas le cas en pratique. S'il faut à l'échantillon un peu plus de temps pour la fusion vers la fin du cycle d'exécution, le processus de dénaturation optique attend la fusion en se basant sur les données de fluorescence et non sur les données de temps. C'est pourquoi le tracé de température peut varier d'un cycle à l'autre.

2. Cliquez sur la première moitié du graphique au niveau du symbole de dénaturation optique . Les informations Calibration Settings (Paramètres d'étalonnage) apparaissent à gauche de l'écran.



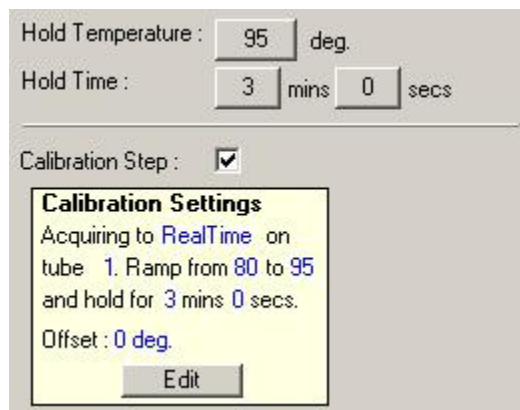
3. En règle générale, les informations « Calibration Settings » (Paramètres d'étalonnage) sont correctes. Mais s'il est nécessaire de les modifier, cliquez sur Edit (Modifier). La fenêtre Calibration Settings (Paramètres d'étalonnage) s'ouvre.



4. Assurez-vous des points suivants :

- Le tube indiqué dans Tube Position (Position du tube) contient un produit de la PCR qui donnera un pic de fusion sur le canal vert.
- La température de rampe finale ne brûlera pas l'échantillon, mais sera suffisamment élevée pour permettre la fusion.
- La durée du maintien est suffisante pour dénaturer l'échantillon.
- Le décalage de dénaturation est correctement défini. La valeur par défaut de 0 °C est adaptée pour la plupart des fusions. Les fusions avec des transitions très abruptes peuvent nécessiter un décalage de dénaturation de -0,5 °C à -2 °C, tel que déterminé par l'utilisateur, afin que la transition de la fusion soit détectée.

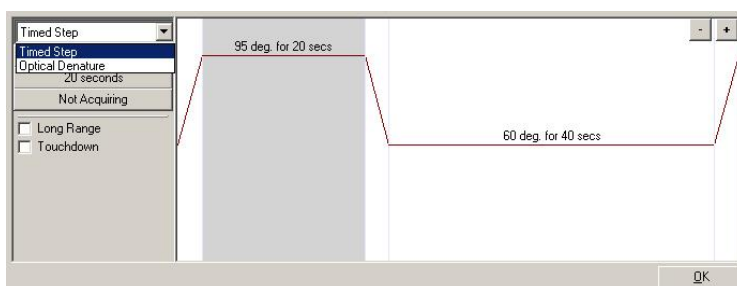
Vous pouvez aussi définir un palier de dénaturation en introduisant un nouveau palier de maintien. Cliquez sur Insert before (Insérer avant) puis sélectionnez New Hold at Temperature (Nouveau maintien de température) dans le menu. Les paramètres d'étalonnage apparaissent.




Les paramètres d'étalonnage sont synchronisés avec les paramètres de dénaturation, ainsi une modification apportée à la durée du maintien au palier de dénaturation actualise automatiquement la durée du maintien d'étalonnage. Cette synchronisation est due au fait que le processus d'étalonnage et le processus de dénaturation sont équivalents dans le cycle de dénaturation optique.

### Modification d'un palier existant pour utiliser le cycle de dénaturation optique

Pour modifier un palier de dénaturation existant dans une séquence du cycle, sélectionnez le cycle dans la liste dans la fenêtre Edit Profile (Modifier le profil). Sélectionnez ensuite le palier de dénaturation en cliquant dessus sur l'affichage.



Cliquez sur le menu déroulant puis sélectionnez Optical Denature (Dénaturation optique). La température et la durée du maintien sont supprimées et l'icône Optical Denature (Dénaturation optique)  apparaît.

### Optimisation du gain

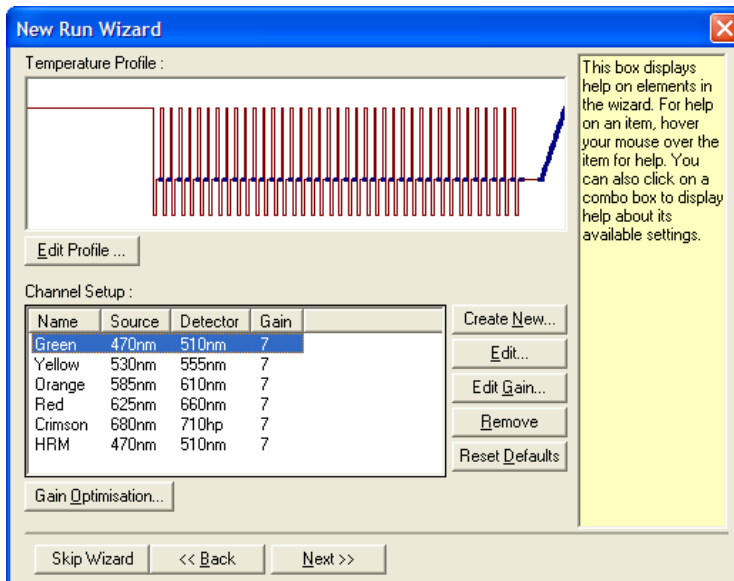
Lorsque vous configurez un nouveau cycle d'exécution, la fonction Gain Optimisation (Optimisation du gain) peut se révéler utile. Elle vous permet d'optimiser le gain jusqu'à un réglage qui donnera la plage souhaitée de fluorescence de départ à une température définie (en général la température à laquelle l'acquisition de données est effectuée) sur chacun des canaux acquis. L'optimisation du gain a pour but de garantir la collecte de toutes les données dans la gamme dynamique du détecteur. Si le gain est trop faible, le signal sera perdu dans le bruit de fond. S'il est trop élevé, tout signal sera perdu hors échelle (saturé).

La plage de gain pour chaque canal va de -10 à 10, où -10 est le moins sensible et 10 le plus sensible.

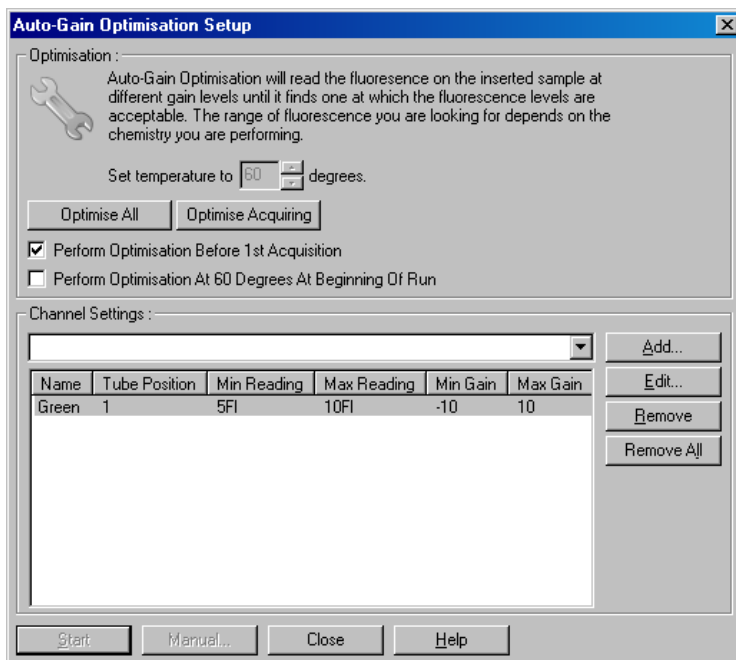
La première fois que vous effectuez des réactions, nous vous recommandons de préparer un échantillon de test contenant tous les composants de la réaction. Placez cet échantillon de test dans le Rotor-Gene Q MDx et utilisez l'optimisation du gain pour déterminer le paramètre de gain optimal. Si le gain choisi par l'optimisation du gain donne un signal médiocre, vous devez augmenter le paramètre Target Sample Range (Plage d'échantillon cible). S'il donne un signal saturé, vous devez diminuer le paramètre Target Sample Range (Plage d'échantillon cible).



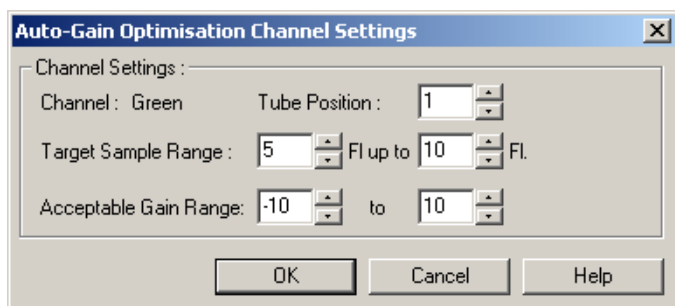
Pour procéder à l'optimisation du gain, cliquez sur le bouton Gain Optimisation... (Optimisation du gain...) dans la fenêtre 3 New Run Wizard (Assistant Nouveau cycle) (voir la section Assistant Nouveau cycle – Fenêtre 3).



La fenêtre Auto-Gain Optimisation Setup (Configuration de l'optimisation du gain automatique) apparaît. Cette fenêtre permet l'optimisation en ajustant automatiquement les paramètres de gain jusqu'à ce que les valeurs pour tous les canaux sélectionnés tombent en deçà d'un certain seuil.



Set temperature to (Régler la température sur) :	Avant la lecture de la valeur, le Rotor-Gene Q MDx est chauffé ou refroidi afin de correspondre à la température indiquée. Par défaut, celle-ci est réglée comme la température d'acquisition.
Optimise All/Optimise Acquiring (Optimiser tout/Optimiser l'acquisition) :	Optimise All (Optimiser tout) tente d'optimiser tous les canaux connus du logiciel. Optimise Acquiring (Optimiser l'acquisition) optimise uniquement les canaux qui sont utilisés dans le profil thermique défini dans le cycle d'exécution (cycle et fusion).
Perform Optimisation Before First Acquisition (Effectuer l'optimisation avant la première acquisition) :	Cochez cette case pour procéder à l'optimisation du gain au premier cycle dans lequel l'acquisition de données est effectuée. C'est recommandé pour l'optimisation du gain automatique.
Perform Optimisation At [x] Degrees At Beginning of Run (Effectuer l'optimisation à [x] degrés au début du cycle d'exécution) :	Cochez cette case pour procéder à l'optimisation du gain juste avant le début du cycle d'exécution. Le Rotor-Gene Q MDx est chauffé à la température indiquée, l'optimisation du gain est effectuée puis le cycle commence au premier palier, généralement un palier de dénaturation. Vous pouvez choisir cette option si une optimisation du gain en cours de cycle prendrait trop de temps au palier initial. En général, Perform Optimisation Before 1st Acquisition (Effectuer l'optimisation avant la première acquisition) est privilégié, car l'optimisation du gain est effectuée au plus près possible des conditions du cycle d'exécution.
Channel Settings (Paramètres des canaux) :	Ce menu déroulant permet d'ajouter des canaux. Choisissez le canal d'intérêt puis cliquez sur Add (Ajouter).
Edit (Modifier) :	Ce bouton ouvre une fenêtre dans laquelle vous pouvez définir la Target Sample Range (Plage d'échantillon cible). La Target Sample Range (Plage d'échantillon cible) est la plage de fluorescence initiale qui doit être définie pour l'échantillon dans le tube indiqué. L'optimisation du gain automatique évalue chaque canal avec les paramètres de gain dans la plage définie par Acceptable Gain Range (Plage de gain acceptable). Elle choisit le premier paramètre de gain qui donne une valeur de fluorescence dans la Target Sample Range (Plage d'échantillon cible). Sur l'exemple ci-dessus, l'optimisation du gain automatique recherche un paramètre de gain entre -10 et 10 qui donne une valeur entre 5 et 10 FI dans le tube 1. En général, pour les colorants intercalants, une Target Sample Range (Plage d'échantillon cible) de 1 à 3 FI est adaptée, tandis qu'une plage de 5 à 10 FI est plus adaptée aux analyses chimiques avec sonde.

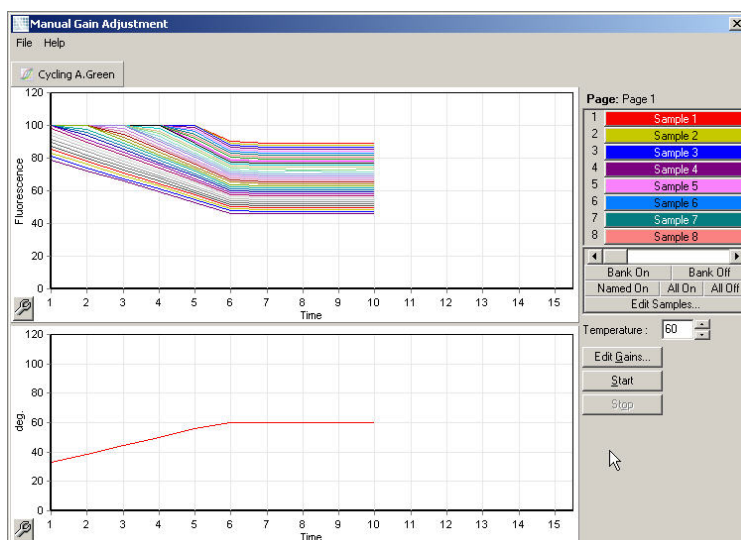


Remove/Remove All (Supprimer/Supprimer tout) :	Remove (Supprimer) permet de supprimer le canal mis en surbrillance. Remove All (Supprimer tout) permet de supprimer tous les canaux.
Start (Démarrer) :	Start (Démarrer) permet de lancer l'optimisation du gain. Un gain qui donne des niveaux de signal de fluorescence dans la plage définie est choisi. Si la fluorescence sort de la plage définie, le gain est défini pour donner la correspondance la plus proche possible.
Manual (Manuel) :	Permet d'ouvrir la fenêtre Manual Gain Adjustment (Ajustement manuel du gain).
Changing Gain During a Run (Modification du gain en cours de cycle d'exécution) :	Si le gain était trop élevé ou trop faible au début du cycle d'exécution, vous pouvez le modifier dans les dix premiers cycles. Une ligne verticale apparaît à l'emplacement de modification du gain. Les cycles antérieurs à la modification sont exclus de l'analyse.

Remarque : l'optimisation du gain peut choisir un paramètre extérieur à la plage définie. Cela peut être dû aux modifications de la fluorescence après le premier palier de maintien. Mais le résultat de l'optimisation du gain donne une bonne indication du niveau de fluorescence avec lequel débutera le cycle d'exécution.

### Ajustement manuel du gain

Pour effectuer le « Manual Gain Adjustment » (Ajustement manuel du gain), cliquez sur Manual... (Manuel...) dans la fenêtre Auto-Gain Optimisation Setup (Configuration de l'optimisation du gain automatique). La fenêtre Manual Gain Adjustment (Ajustement manuel du gain) s'ouvre. Cette fenêtre affiche les valeurs de fluorescence à une température donnée en temps réel. Elle est utilisée lorsque le bruit de fond d'un échantillon est inconnu, le gain doit donc être déterminé afin de s'assurer que le signal de l'échantillon est suffisant pour la détection.



Par défaut, tous les échantillons apparaissent sur l'affichage. Vous pouvez en supprimer ou en ajouter à l'aide des boutons de droite. Ces boutons sont des cellules colorées, chacune d'elles correspondant à un échantillon sur l'affichage. Les échantillons ayant des cellules de couleurs vives sont affichés, ceux ayant des cellules de couleurs moins vives ne sont pas affichés. Vous pouvez activer ou désactiver les échantillons en cliquant sur la cellule ou en faisant glisser le pointeur de la souris sur plusieurs cellules à la fois.

Nous vous recommandons d'effectuer l'ajustement manuel du gain comme suit.

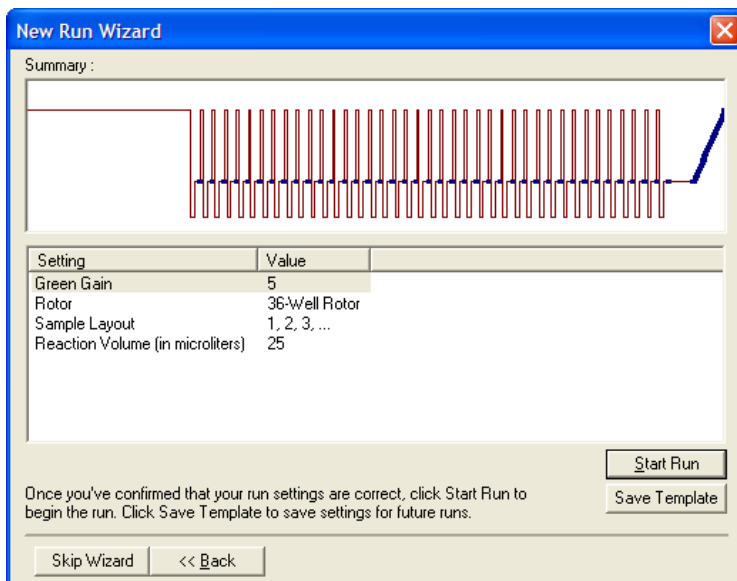
1. Ajustez la température dans la fenêtre Manual Gain Adjustment (Ajustement manuel du gain) à la température d'acquisition requise pour le cycle d'exécution.

Remarque : la température n'est pas ajustée pendant le fonctionnement du Rotor-Gene Q MDx. Redémarrez le Rotor-Gene Q MDx pour pouvoir appliquer les modifications apportées à la température.

2. Cliquez sur Start (Démarrer). Le cycle d'exécution commence. La température du Rotor-Gene Q MDx est ajustée à la température définie dans la fenêtre. Les graphiques dans la fenêtre commencent à afficher des données.
3. Patientez jusqu'à ce que la température se stabilise.
4. Notez la valeur de fluorescence (FI) finale.
5. Si la valeur de FI n'est pas au niveau requis, cliquez sur Edit Gains... (Modifier les gains...) puis apportez les modifications qui conviennent. Ce processus ne sera peut-être pas instantané, car le Rotor-Gene Q MDx met environ 4 s pour acquérir chaque point sur chaque canal, et l'interface utilisateur est désactivée pendant ce temps.
6. Répétez le processus jusqu'à ce que la valeur de FI soit au niveau souhaité.
7. Cliquez sur Stop (Arrêter). Si le cycle d'exécution est toujours en train d'acquérir des données au moment où vous cliquez sur le bouton Stop (Arrêter), le Rotor-Gene Q MDx termine d'abord l'acquisition puis s'arrête. Ce processus peut prendre jusqu'à 5 s pour chaque canal d'acquisition.

#### Assistant Nouveau cycle – Fenêtre 4

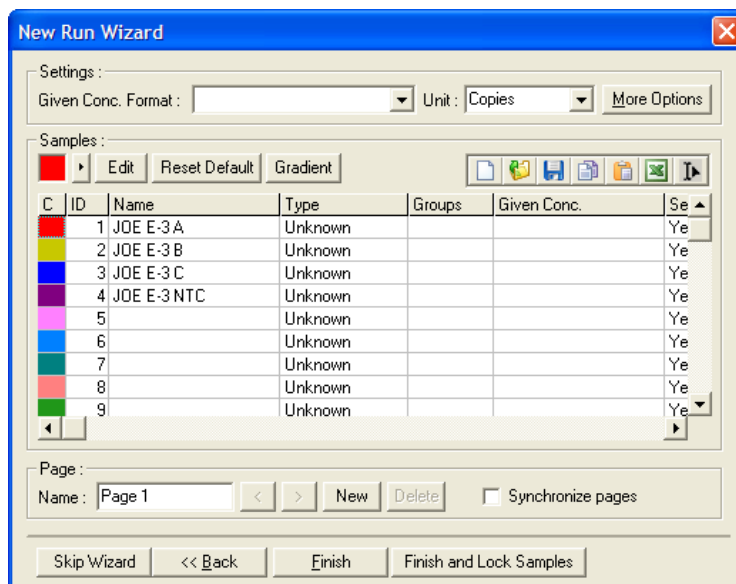
Cette fenêtre synthétise le cycle d'exécution. Vérifiez les paramètres, s'ils sont corrects, cliquez sur Start Run (Démarrer le cycle). Vous êtes invité à saisir un nom de fichier. Vous pouvez aussi enregistrer les paramètres du cycle d'exécution comme modèle pour de futurs cycles à l'aide du bouton Save Template (Enregistrer le modèle).



## Assistant Nouveau cycle – Fenêtre 5

Saisissez dans cette fenêtre les types d'échantillons et les descriptions pendant que le cycle d'exécution est en cours. La fonctionnalité de cette fenêtre est identique à la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons) (page 132). Vous pouvez également saisir les informations sur l'échantillon après la fin du cycle d'exécution.

Le bouton Finish and Lock Samples (Terminer et verrouiller les échantillons) permet de fermer l'écran et empêche toute modification des noms des échantillons. Pour plus d'informations sur cette fonctionnalité et sur d'autres, consultez la section « Protection de l'accès au logiciel Rotor-Gene Q » (page 139).



## 5.2 Utilisation du matériel Rotor-Gene Q MDx

### 5.2.1 Types de rotors


Commencez par sélectionner le type de tube et le rotor à utiliser. Vous disposez de 4 rotors pouvant contenir différents types de tubes.

Remarque : le 36-Well Rotor et le 72-Well Rotor sont fournis avec l'instrument. Les rotors Rotor-Disc® sont des accessoires.

Important : utilisez des tubes identiques dans un même cycle d'exécution. Ne mélangez pas différents tubes ou types de tubes de fabricants différents, cela compromettrait l'uniformité optique.

Nous vous recommandons d'utiliser les tubes QIAGEN spécifiquement conçus pour le Rotor-Gene Q MDx (voir la section Informations de commande). Les tubes d'autres fabricants pourraient présenter une autofluorescence susceptible d'affecter la fiabilité des résultats. En outre, les tubes d'autres fabricants peuvent être de longueurs et d'épaisseurs diverses, cela peut induire un alignement incorrect de la trajectoire optique du Rotor-Gene Q MDx et de la réaction dans le tube. QIAGEN se réserve le droit de refuser un support technique pour des problèmes imputables à l'utilisation d'un matériel en plastique non certifié QIAGEN sur l'instrument Rotor-Gene Q MDx.

**Important :** l'utilisation d'un matériel en plastique non certifié QIAGEN sur le Rotor-Gene Q MDx peut annuler la garantie de votre instrument.

<b>ATTENTION</b> 	<b>Détérioration de l'instrument</b> Inspectez l'instrument à l'œil nu et assurez-vous avant chaque cycle que le rotor n'est pas abîmé ou déformé.
---	---

### 36-Well Rotor

Le 36-Well Rotor est de couleur rouge. Le 36-Well Rotor et la 36-Well Rotor Locking Ring permettent d'utiliser des tubes de 0,2 ml. Il n'est pas nécessaire que les tubes soient munis de bouchons adaptés à la lecture optique, car le Rotor-Gene Q MDx lit la fluorescence par le fond du tube et non par le haut. Vous pouvez aussi utiliser des tubes avec bouchons bombés.



## 72-Well Rotor

Le 72-Well Rotor est de couleur bleue. Le 72-Well Rotor et la 72-Well Rotor Locking Ring s'utilisent avec les Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, qui peuvent être utilisés pour des volumes de l'ordre de 20 µl. Les bouchons offrent une étanchéité sûre et fiable.



## Rotor-Disc 72 Rotor

Le Rotor-Disc 72 Rotor est de couleur gris foncé. Le Rotor-Disc 72 Rotor et la Rotor-Disc 72 Locking Ring permettent d'utiliser le Rotor-Disc 72. Le Rotor-Disc 72 est un disque doté de 72 puits pour une utilisation à haut débit. Pour maintenir l'étanchéité du Rotor-Disc 72, un film polymère transparent est appliqué sur la partie supérieure et thermoscellé. Ce film est rapide à appliquer et empêche toute contamination en offrant une étanchéité importante, durable et inviolable. Pour plus d'informations sur le Rotor-Disc 72, consultez la section 5.2.3.



## Rotor-Disc 100 Rotor

Le Rotor-Disc 100 Rotor est de couleur dorée. Le Rotor-Disc 100 Rotor et la Rotor-Disc 100 Locking Ring permettent d'utiliser le Rotor-Disc 100. Le Rotor-Disc 100 est un disque doté de 100 puits pour une utilisation à haut débit. Le Rotor-Disc 100 est l'équivalent circulaire d'une plaque à 96 puits, mais avec 4 puits de référence en plus. Il permet d'intégrer des procédures de laboratoire à 96 puits au Rotor-Gene Q MDx. Les puits supplémentaires peuvent être utilisés pour d'autres échantillons, d'autres réactions de contrôle ou des réactions d'orientation, sans pour cela occuper les 96 puits standard.

Pour une compatibilité parfaite de la procédure à 96 puits, les puits du Rotor-Disc 100 suivent les conventions d'étiquetage de la plaque à 96 puits, autrement dit A1–A12 à H1–H12. Les 4 puits de référence en plus sont étiquetés R1–R4. Pour plus d'informations sur le Rotor-Disc 100, consultez la section 5.2.3.



#### Spécifications du rotor

Type de rotor	Capacité des puits (µl)	N <sup>bre</sup> d'échantillons	Type de tube	Volume réactionnel recommandé (µl)
36-Well Rotor	200	36	PCR Tubes, 0.2 ml	20–50
72-Well Rotor	100	72	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml	20–50
Rotor-Disc 72 Rotor	100	72	Rotor-Disc, 72	20–25
Rotor-Disc 100 Rotor	30	100	Rotor Disc, 100	15–20

Remarque : le 36-Well Rotor et le 72-Well Rotor destinés au Rotor-Gene Q MDx ne doivent pas être utilisés sur les instruments Rotor-Gene 3000 en raison d'un alignement optique incompatible. Continuez à utiliser les anciens rotors à 36 positions et à 72 positions avec les instruments Rotor-Gene 3000.

#### 5.2.2 Préparation de la réaction

**Important :** vous devez appliquer des contrôles adaptés à chaque cycle d'exécution afin de garantir des résultats fiables.

Vous pouvez préparer les réactions en utilisant les Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes (pour PCR Tubes, 0.2 ml), les Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (pour les Strip Tubes and Caps, 0.1 ml préparés avec une pipette monocanal), le Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel (pour les Strip Tubes and Caps, 0.1 ml préparés avec une pipette multicanaux), le Rotor-Disc 72 Loading Block (pour le Rotor-Disc 72) ou le Rotor-Disc 100 Loading Block (pour le Rotor-Disc 100). Tous les blocs sont en aluminium et peuvent être préalablement refroidis.



Les Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (illustrés) contiennent 18 tubes en barrettes et jusqu'à huit tubes de 0,5 ml qui peuvent être utilisés pour préparer un mélange principal et jusqu'à seize tubes de 0,2 ml qui peuvent être utilisés pour préparer des courbes étalons. La procédure ci-après décrit la préparation de la réaction avec le 72-Well Rotor. Vous pouvez suivre la même procédure pour préparer la réaction avec le 36-Well Rotor et les accessoires adaptés.

1. Placez les tubes en barrettes dans le bloc de chargement puis aliquotez les composants réactionnels.

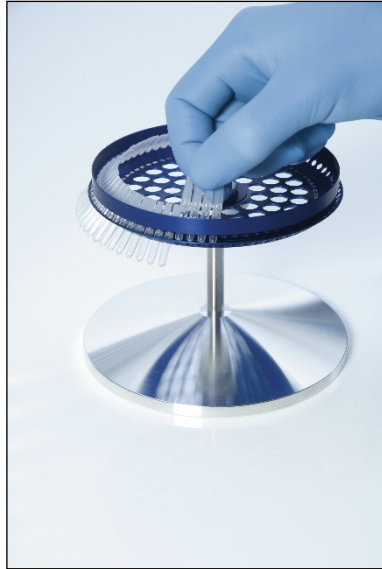


2. Mettez les bouchons sur les tubes en barrettes puis inspectez-les à l'œil nu pour confirmer la bonne étanchéité.



3. Insérez les tubes en barrettes dans le 72-Well Rotor, en veillant à ce que chaque tube soit correctement placé dans l'orientation qui convient.

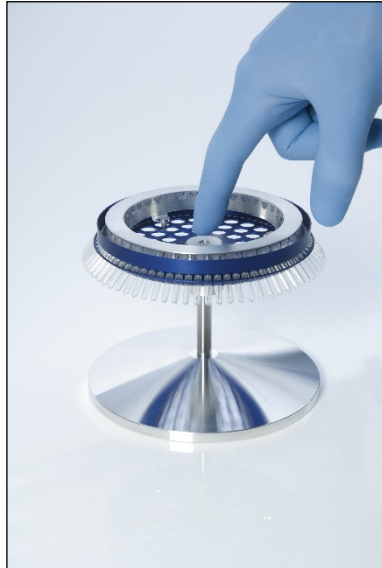
Les échantillons ne seront pas alignés de manière optimale sur le système de détection s'ils ne sont pas correctement placés dans le rotor. Cela peut aboutir à une diminution du signal de fluorescence acquis et de la sensibilité de détection. Un Rotor Holder qui permet de charger facilement les tubes est fourni avec l'instrument.



Important : pour que la température soit la plus uniforme possible, chaque position du rotor doit contenir un tube. Le remplissage de toutes les positions du rotor garantit une circulation uniforme de l'air sur chaque tube. Conservez un ensemble de tubes vides bouchés à disposition afin de remplir toute position inutilisée.

4. Insérez la 72-Well Rotor Locking Ring sur le 72-Well Rotor en enfonçant les 3 goujons de guidage dans les orifices extérieurs du rotor.

La bague de verrouillage garantit le maintien des bouchons sur les tubes pendant un cycle d'exécution.



5. Insérez l'ensemble dans la chambre du Rotor-Gene Q MDx en l'encliquetant en place à l'aide du goujon de guidage sur le moyeu du rotor. Pour le retrait, il suffit d'appuyer sur le moyeu du rotor pour le libérer et le sortir.



6. Fermez le capot et configurez le profil du cycle d'exécution avec le logiciel Rotor-Gene Q.

### 5.2.3 Installation du Rotor-Disc

Le Rotor-Disc 72 ou le Rotor-Disc 100 comprend respectivement 72 ou 100 puits dans un disque monobloc pour un haut débit. Le Rotor-Disc 72 et le Rotor-Disc 100 n'utilisent aucun bouchon. À la place, un Rotor-Disc Heat Sealing Film est appliqué sur la partie supérieure et thermoscellé à l'aide d'un Rotor-Disc Heat Sealer. Ce film empêche toute contamination en offrant une étanchéité importante, durable et inviolable. Le thermoscellage du Rotor-Disc est effectué comme suit.

Important : merci de lire la notice du produit qui accompagne le Rotor-Disc Heat Sealer avant de démarrer cette procédure.

1. Mettez le Rotor-Disc Heat Sealer sous tension en basculant l'interrupteur marche/arrêt situé à l'arrière gauche.

Un voyant rouge « Power » (Alimentation) s'allume. Il faut environ 10 minutes au Rotor-Disc Heat Sealer pour atteindre la température de fonctionnement, à ce moment-là un voyant vert « Ready » (Prêt) s'allume.

2. Choisissez une étanchéité permanente ou amovible.

Remarque : une fois que le Rotor-Disc Heat Sealer est prêt, vous pouvez le laisser fonctionner en permanence.

3. Insérez le Rotor-Disc dans le Rotor-Disc Loading Block en utilisant la languette de position une sur le Rotor-Disc et les orifices de guidage des tubes sur le Rotor-Disc Loading Block.

4. Préparez les réactions dans le Rotor-Disc en pipettant manuellement ou en utilisant un système automatisé de manipulation de liquides.



5. Ôtez la partie centrale d'une feuille de Rotor-Disc Heat Sealing Film, pour cela pliez légèrement le film en deux, pincez la partie centrale puis détachez-la soigneusement.

6. Apposez le film sur le Rotor-Disc dans l'orientation qui convient, indiquée par la mention « SIDE UP » (VERS LE HAUT). Veillez à ce que la mention « SIDE UP » (VERS LE HAUT) se trouve au bas du Rotor-Disc Loading Block.

L'orifice central du film doit glisser aisément sur le cylindre du Rotor-Disc Loading Block et sur la partie supérieure du Rotor-Disc.



7. Introduisez l'ensemble dans le Rotor-Disc Heat Sealer à l'aide des rails de guidage sur le côté du Rotor-Disc Loading Block. Poussez bien à fond le Rotor-Disc Loading Block.



8. Pour enclencher le mécanisme d'étanchéisation, commencez par rabaisser la barre bleue anodisée sur le haut du Heat Sealer puis repoussez le loquet noir.

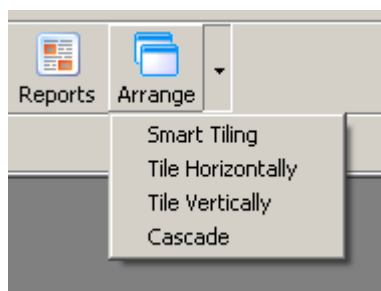


9. Une fois le mécanisme d'étanchéisation enclenché, un voyant orange « Sealing » (Étanchéisation) s'allume. Si le Rotor-Disc Loading Block n'est pas dans la bonne position, un bip sonore d'avertissement retentit.
10. Lorsque le processus d'étanchéisation est terminé, un bip sonore retentit en continu et le voyant orange « Sealing » (Étanchéisation) commence à clignoter. Appuyez sur la barre bleue anodisée pour la relever puis remettez le mécanisme d'étanchéisation dans sa position d'origine.  
Important : ne poursuivez pas l'étanchéisation au-delà du bip sonore, cela pourrait déformer le Rotor-Disc.  
Remarque : en guise d'avertissement si vous oubliez malencontreusement de déverrouiller le mécanisme d'étanchéisation, le voyant orange « Sealing » (Étanchéisation) clignotant reste fixement allumé et le bip sonore en continu devient intermittent.
11. Faites glisser le Rotor-Disc Loading Block hors du Rotor-Disc Heat Sealer. Laissez le film refroidir environ 10 s. Ôtez l'excédent de film en le tirant vers le bas pour le détacher. Ne tirez pas l'excédent de film vers le haut.
12. Désolidarisez le Rotor-Disc du Rotor-Disc Loading Block.
13. Chargez le Rotor-Disc dans le rotor en utilisant la languette de position une pour une bonne orientation.

## 6 Interface utilisateur d'analyse

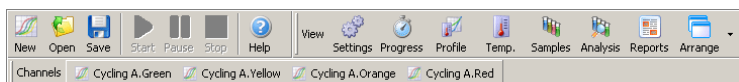
### 6.1 Espace de travail

L'espace de travail est l'arrière-plan de la fenêtre principale. Dans cette zone, vous pouvez ouvrir les tracés de données brutes et les résultats d'analyse. Si vous ouvrez plusieurs fenêtres en même temps, vous pouvez les disposer comme vous le souhaitez à l'aide du bouton Arrange (Organiser) dans la barre d'outils. Il existe plusieurs dispositions de fenêtres, que vous pouvez sélectionner en cliquant sur la flèche vers le bas en regard du bouton Arrange (Organiser).



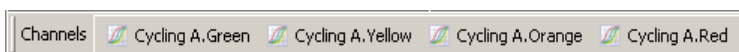
### 6.2 Barre d'outils

Ces boutons sont des raccourcis vers les opérations fréquemment utilisées. Ces opérations sont également accessibles à partir des menus déroulants.



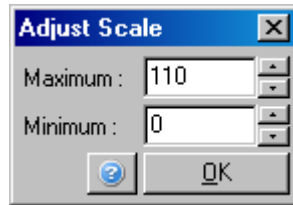
### 6.3 Affichage des données brutes des canaux

Cliquez sur ces boutons pour afficher les données brutes (non analysées) de canaux spécifiques du cycle d'exécution.



Lorsque vous affichez ces données, un certain nombre d'options sont disponibles pour modifier la présentation des données. Vous pouvez aussi transformer les données brutes pour faciliter différents types d'analyses.

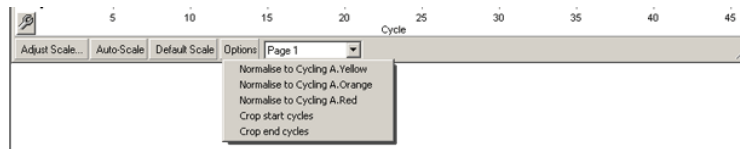
Adjust Scale (Ajuster l'échelle) : Pour sélectionner Adjust Scale (Ajuster l'échelle), faites un clic droit dans la fenêtre qui convient. Adjust Scale (Ajuster l'échelle) ouvre une fenêtre dans laquelle vous pouvez définir l'échelle.



Autoscale (Mise à l'échelle automatique) : Autoscale (Mise à l'échelle automatique) essaie d'ajuster l'échelle des données aux valeurs maximale et minimale.

Default Scale (Échelle par défaut) : Default Scale (Échelle par défaut) permet de réinitialiser l'échelle pour afficher de 0 à 100 unités de fluorescence.

Icône de clé à molette : Consultez la section 7.5 pour plus d'informations.



Options : Permet d'afficher le menu déroulant ci-dessus, qui propose des options de transformation des données brutes.

Normalise to... (Normaliser vers...) : Permet de normaliser les données d'amplification en données issues d'un colorant de référence passif, comme le ROX, acquises sur un autre canal.

Crop start cycles (Retirer des cycles de début) : Permet de créer une nouvelle série de données de canal dont certains cycles de début ont été retirés. Cette fonction est utile si des écarts importants sont observés sur les premiers cycles, ce qui peut se produire avec certains produits chimiques.

Crop end cycles (Retirer des cycles de fin) : Permet de créer une nouvelle série de données de canal dont certains cycles de fin ont été retirés.

Page 1 : Indique la page sélectionnée pour afficher les tracés de données brutes. La fenêtre Edit Sample (Modifier les échantillons) permet de créer plusieurs définitions d'échantillons. Vous pouvez par exemple visualiser les données avec des épaisseurs de ligne, des définitions d'échantillons et d'autres options d'affichage diverses. C'est particulièrement utile si vous effectuez une quantification relative sur un canal unique, car vous pouvez facilement alterner la vue entre les échantillons de gène d'intérêt et de gène domestique en définissant 2 pages d'échantillons.

## 6.4 Activation des échantillons

Sur le côté droit de la fenêtre principale, vous trouverez des boutons sur lesquels figure une légende pour les échantillons. Ces boutons sont des cellules colorées, chacune d'elles correspondant à un échantillon sur l'affichage. Ces boutons permettent de contrôler l'affichage des échantillons. Les échantillons ayant des cellules de couleurs vives sont affichés, ceux ayant des cellules de couleurs moins vives ne sont pas affichés.

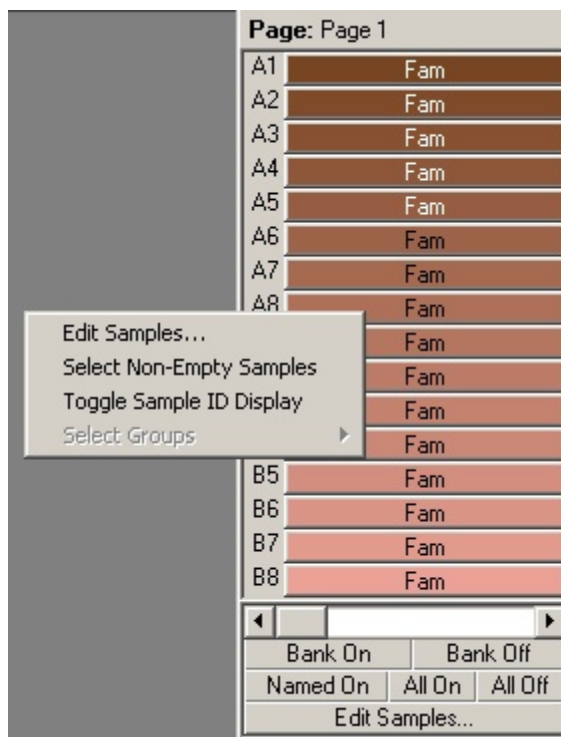


Vous pouvez activer ou désactiver les échantillons en cliquant sur la cellule ou en faisant glisser le pointeur de la souris sur plusieurs cellules à la fois. Les boutons Bank On (Afficher l'ensemble) et Bank Off (Masquer l'ensemble) permettent respectivement d'afficher et de masquer tous les échantillons visibles dans la liste. Vous pouvez utiliser la barre de défilement pour afficher le groupe d'échantillons suivant.

Remarque : l'affichage du nombre d'échantillons est dynamique, il dépend de l'espace disponible dans la fenêtre.

Cliquez sur Named On (Afficher les échantillons nommés) pour afficher uniquement les échantillons qui ont été nommés. C'est un moyen rapide d'afficher seulement les échantillons pertinents. Cliquez sur All On (Afficher tout) ou All Off (Masquer tout) pour afficher tous les échantillons du rotor ou aucun, respectivement. Appuyez sur le bouton Edit Samples... (Modifier les échantillons...) pour ouvrir la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons) dans laquelle vous pouvez modifier les noms, les types et les concentrations standard des échantillons (voir la section 6.8.4).

Les boutons sont illustrés ci-dessous. Les options supplémentaires affichées apparaissent lorsque vous faites un clic droit sur les boutons.



Page :

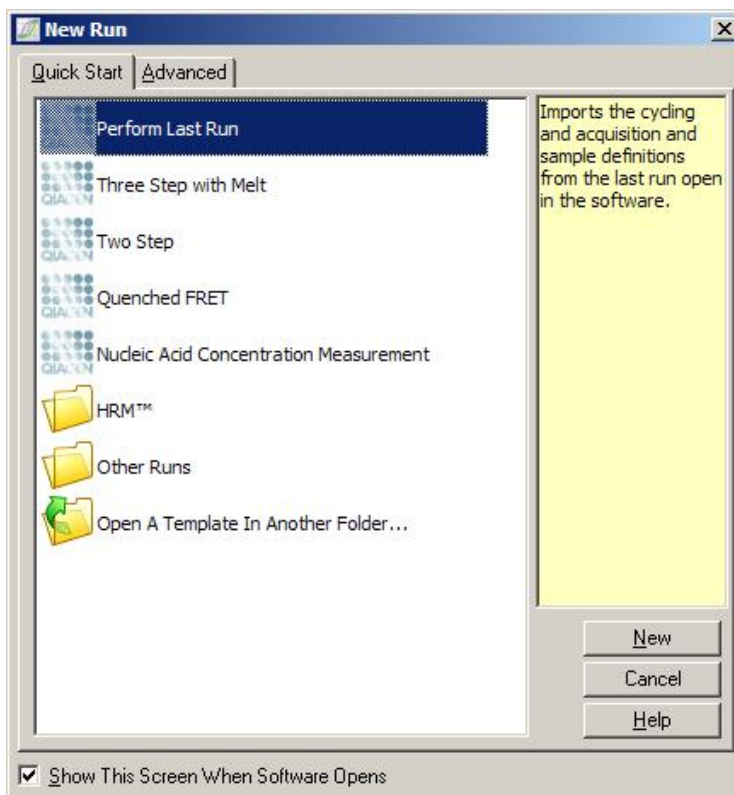
Cette mention au-dessus des boutons indique la page d'échantillon affichée. Les pages permettent diverses analyses distinctes à partir de la série de données d'un canal. Vous pouvez par exemple exécuter deux courbes étalons sur le canal vert et générer des rapports distincts. Pour plus d'informations sur la configuration des pages d'échantillons, consultez la section 6.8.4.

Toggle Sample ID Display (Afficher l'ID d'échantillon) :	Si vous utilisez un 72-Well Rotor, les échantillons apparaissent au format A1 à A8, B1 à B8, etc. L'option Toggle Sample ID Display (Afficher l'ID d'échantillon) vous permet de passer à un ordre numérique des échantillons (1 à 72).
Select Non-Empty Samples (Sélectionner les échantillons non vides) :	Cette option permet de désélectionner les échantillons dont le Type est None (Aucun) dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons). Ainsi, seuls les échantillons pertinents pour l'analyse sont affichés.
Select Groups (Sélectionner des groupes) :	Si vous avez défini des groupes, cette fonctionnalité permet d'activer/désactiver l'affichage des échantillons dans les groupes. Les groupes sont des ensembles arbitraires d'échantillons qui permettent de présenter les résultats statistiques de façon élaborée. Par exemple, vous pouvez définir des groupes d'échantillons patient traités et non traités. Vous pouvez configurer des groupes dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons).

## 6.5 Menu Fichier

### 6.5.1 Nouveau

Après avoir sélectionné File (Fichier) puis New (Nouveau), la fenêtre New Run (Nouveau cycle) apparaît. Cette fenêtre propose des modèles couramment utilisés sous les onglets Quick Start (Démarrage rapide) et Advanced (Avancé). Une fois le modèle sélectionné, l'assistant vous guide pour la configuration du cycle d'exécution et permet la modification des paramètres et des profils.



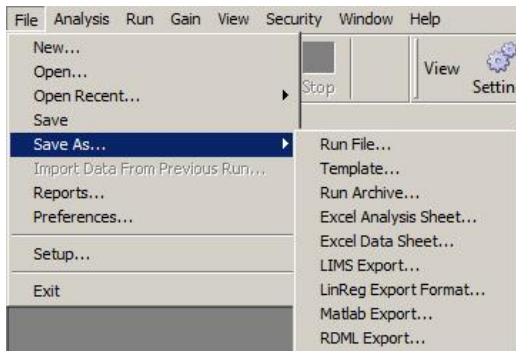
Pour plus d'informations sur les modèles proposés, consultez la section 5.1.1 et la section 5.1.2.

## Nouveau cycle

New (Nouveau) :	Permet de lancer la configuration du cycle d'exécution à l'aide du modèle sélectionné.
Cancel (Annuler) :	Permet de fermer cette fenêtre.
Help (Aide) :	Permet d'ouvrir l'aide en ligne.
Show This Screen When Software Opens (Afficher cet écran une fois le logiciel ouvert) :	Si cette case est cochée, la fenêtre New Run (Nouveau cycle) s'ouvre dès le démarrage du logiciel.

## 6.5.2 Ouvrir et Enregistrer

Open... (Ouvrir...) :	Permet d'ouvrir un fichier de cycle d'exécution Rotor-Gene Q précédemment enregistré (*.rex) ou une archive de cycle d'exécution Rotor-Gene Q (fichier *.rea).
Open Recent... (Ouvrir récent...) :	Permet d'afficher les 4 derniers fichiers qui ont été ouverts ou enregistrés.
Save (Enregistrer) :	Permet d'enregistrer les modifications qui ont été apportées à un fichier de cycle d'exécution.



Save As... (Enregistrer sous...) :	Utilisez cette fonction pour enregistrer le fichier ou les données du cycle d'exécution en différents formats. Les options sont répertoriées ci-dessous.
Run File... (Fichier de cycle d'exécution...) :	Permet d'enregistrer une copie du fichier. L'utilisateur peut changer le nom et l'emplacement d'enregistrement. Il s'agit du format par défaut.
Template... (Modèle...) :	Permet d'enregistrer la configuration du profil et les paramètres associés, mais pas les données du cycle d'exécution. Vous pouvez utiliser le modèle pour lancer de futurs cycles d'exécution.
Run Archive... (Archive de cycle d'exécution...) :	Permet d'enregistrer dans un format de fichier plus compact. Enregistrez les fichiers dans ce format avant de les envoyer par e-mail. Cela réduit le temps nécessaire à l'envoi du fichier et garantit des fichiers non corrompus par les clients de messagerie électronique.
LIMS Export (Exportation vers le SGIL) :	Permet d'enregistrer l'analyse dans des formats compatibles avec le SGIL conformément aux exigences de l'utilisateur. Nous vous invitons à contacter les services techniques QIAGEN pour plus d'informations.
Excel Data Sheet... (Feuille de données Excel...) :	Permet d'exporter tous les canaux bruts vers une feuille Excel®. Seuls les échantillons sélectionnés sont exportés.

Excel Analysis Sheet... (Feuille d'analyse Excel...) :	Permet d'exporter toutes les analyses du cycle d'exécution en cours dans une même feuille Excel.
LinReg Export Format... (Format d'exportation LinReg...) :	Permet d'exporter toutes les données des canaux bruts dans un format qui peut être lu par LinReg (un outil d'analyse efficace). Consultez la section « Exportation vers LinReg » ci-après pour plus de détails.
Matlab Export... (Exportation Matlab...) :	Permet d'exporter les données dans un format qui peut être lu par le package scientifique Matlab (ou son équivalent open source, Octave). Cela peut être utile pour la recherche de méthode.
RDML Export (Exportation vers le SGI) :	Permet une exportation de fichiers compatibles avec RDML v1.1. Le fichier d'exportation RDML créé est au format XML compressé ZIP, avec une extension *.rdml, et il est compatible avec le document de schéma RDML ( <a href="https://rdml.org/rdml_v_1_1.html">https://rdml.org/rdml_v_1_1.html</a> ) disponible sur le site web : <a href="https://rdml.org/rdml_v_1_1.html">https://rdml.org/rdml_v_1_1.html</a> .

## Exportation vers LinReg

LinReg est un outil conçu par C. Ramakers et ses collègues.\* LinReg est disponible sur : <https://medischebiologie.nl/files/>.

Le logiciel Rotor-Gene Q permet à l'utilisateur d'exporter des données brutes dans un format qui peut ensuite être importé par l'outil LinReg à des fins d'analyse.

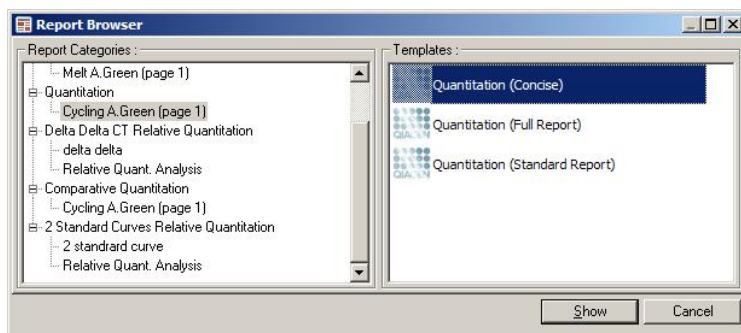
1. Ouvrez le fichier de cycle d'exécution Rotor-Gene Q contenant les données brutes.
2. Exportez les données au format d'exportation LinReg en sélectionnant Save As... (Enregistrer sous...) puis LinReg Export Format... (Format d'exportation LinReg...).
3. Microsoft Excel affiche automatiquement les données brutes exportées.
4. Démarrez l'outil LinReg.

L'outil vous demande de sélectionner la plage de cellules contenant les données brutes. Il ne peut analyser qu'un seul canal brut à la fois, vous devez donc sélectionner une zone adaptée de la feuille Excel.

\* Ruijter, J.M., Ramakers, C., Hoogaars, W.M., Karlen, Y., Bakker, O., van den Hoff, M.J. et Moorman, A.F. (2009) Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res.* 37, e45.

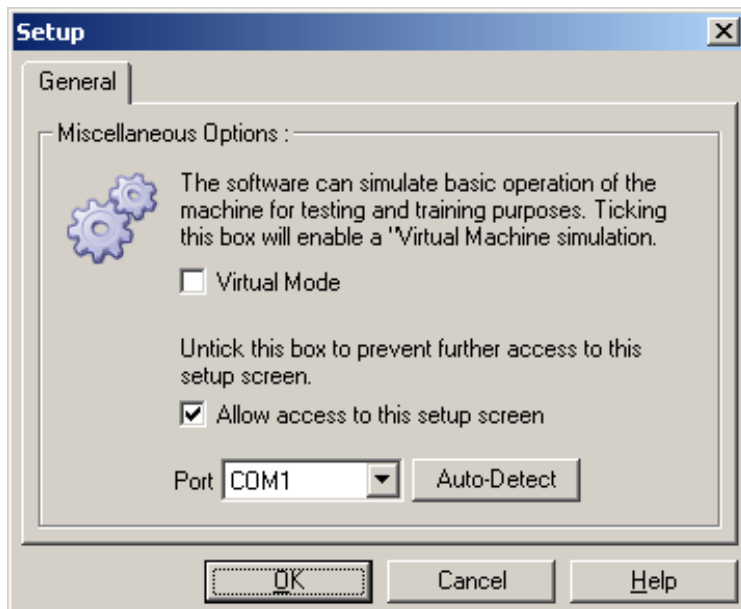
### 6.5.3 Rapports

Dès que vous sélectionnez Reports (Rapports), la fenêtre Report Browser (Navigateur de rapports) s'ouvre. Si les données ont déjà été analysées, le rapport d'analyse peut être affiché à partir de la fenêtre Report Browser (Navigateur de rapports). Plusieurs types de rapports sont proposés avec divers degrés de détails.



### 6.5.4 Configuration

La configuration initiale du Rotor-Gene Q MDx doit être effectuée lors de l'installation. Mais cette option vous permet de modifier la configuration de connexion du Rotor-Gene Q MDx si vous souhaitez le faire après l'installation.

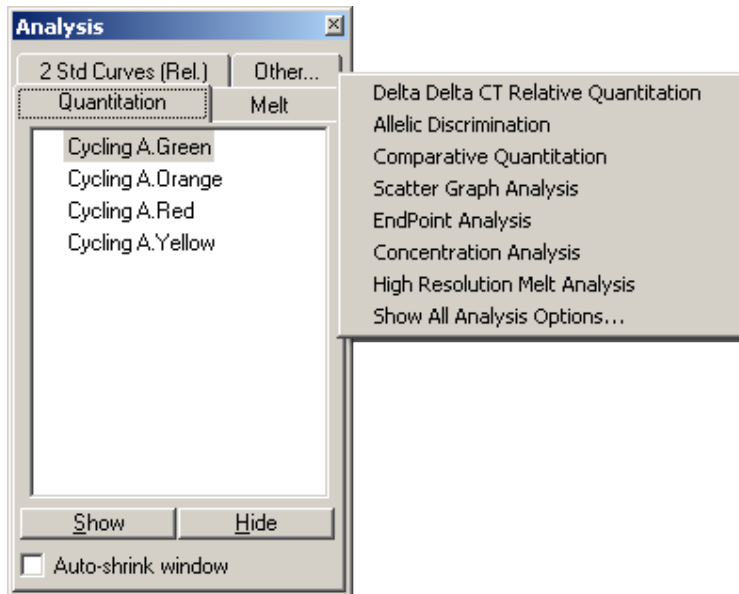


Virtual Mode (Mode virtuel) :	Sélectionnez cette option si le logiciel doit être utilisé sans un Rotor-Gene Q MDx connecté. Le logiciel conserve toutes les fonctions. Ce mode est pertinent pour une démonstration, l'analyse de données et la configuration de modèles.
Allow access to this setup screen (Permettre l'accès à cet écran de configuration) :	Si cette option est décochée au cours de la configuration, cette fenêtre n'est plus accessible. Cette mesure de sécurité empêche les utilisateurs de modifier les paramètres. Pour rétablir l'accès, contactez votre distributeur.
Port :	Sélectionnez le port de communication qui convient pour activer les communications entre l'ordinateur et le Rotor-Gene Q MDx.
Auto-Detect (Détection automatique) :	Si vous ne savez quel port sélectionner, cliquez sur Auto-Detect (Détection automatique) pour rechercher tous les ports disponibles.

## 6.6 Analyse

### 6.6.1 Analyse

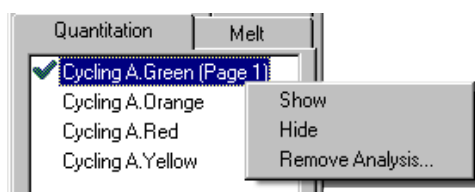
Lorsque vous cliquez sur Analysis (Analyse), la fenêtre Analysis (Analyse) apparaît. Cette fenêtre vous permet de créer de nouvelles analyses et d'afficher les analyses existantes. Utilisez les onglets pour sélectionner la méthode d'analyse. Une liste des canaux pouvant être analysés à l'aide de la méthode sélectionnée s'affiche. Plusieurs dosages exécutés sur le même canal peuvent être analysés indépendamment les uns des autres, du moment qu'ils ont été configurés sur des pages distinctes dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons). Les pages qui ont déjà été analysées présentent une coche verte. Cela signifie que les paramètres de seuil et de normalisation de cette analyse ont été enregistrés. Pour afficher ou analyser un canal, double-cliquez dessus. La fenêtre d'analyse en question s'ouvre.



Auto-shrink window (Réduction automatique de la fenêtre) :	Sélectionnez Auto-shrink window (Réduction automatique de la fenêtre) pour réduire la fenêtre lorsque vous ne l'utilisez pas. Passez le curseur sur la fenêtre pour l'agrandir de nouveau.
--	--

## Organisation de l'espace de travail

Chaque fois que vous démarrez une nouvelle analyse, ses fenêtres sont disposées par rapport à celles déjà ouvertes à l'écran. S'il y a beaucoup de fenêtres, l'affichage peut devenir encombré. Fermez les fenêtres inutiles puis cliquez sur Arrange (Organiser) dans la barre d'outils. Les fenêtres sont automatiquement organisées selon la méthode Smart Tiling (Mosaïque intelligente). Vous pouvez aussi sélectionner une autre méthode d'organisation en cliquant sur la flèche en regard du bouton Arrange (Organiser). Faites un clic droit sur le nom d'une analyse pour accéder à des options supplémentaires.



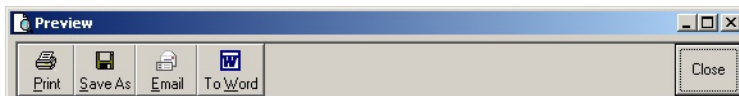
- Show (Afficher) : Permet d'afficher l'analyse sélectionnée.
- Hide (Masquer) : Permet de masquer l'analyse sélectionnée.
- Remove Analysis... (Supprimer l'analyse...) : Permet de supprimer complètement l'analyse sélectionnée. Cela implique de perdre tout paramètre de normalisation ou bac de fusion configuré dans l'analyse.

### 6.6.2 Quantification

Sélectionnez l'onglet Quantitation (Quantification) dans la fenêtre Analysis (Analyse) puis double-cliquez sur le nom du canal ou sélectionnez le canal puis appuyez sur le bouton Show (Afficher) pour ouvrir le canal d'intérêt. Trois fenêtres s'ouvrent : l'écran principal, la courbe étalon et les résultats.

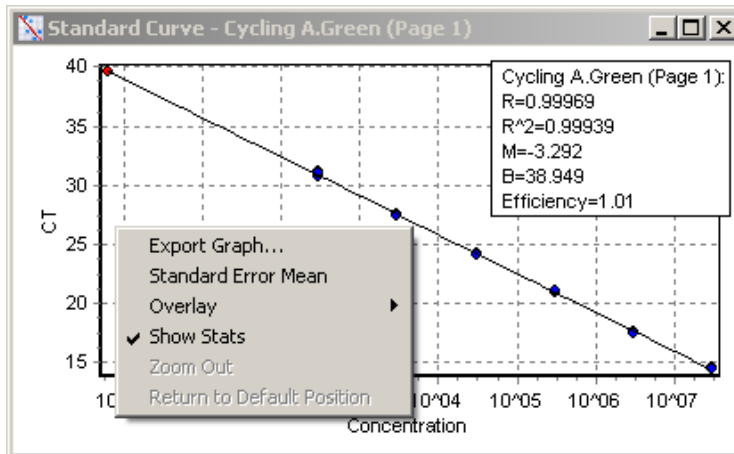
#### Rapports

- Reports (Rapports) : Reports (Rapports) ouvre la fenêtre Report Browser (Navigateur de rapports) dans laquelle un rapport de l'analyse en cours peut être généré. Il existe 3 options : rapport standard, rapport complet et rapport abrégé. Double-cliquez sur l'option de votre choix pour ouvrir le rapport dans la fenêtre Preview (Aperçu).
- Une fois le rapport généré, vous pouvez utiliser les boutons au-dessus de la fenêtre Preview (Aperçu) pour imprimer, enregistrer ou envoyer le rapport par e-mail, ou pour l'exporter dans Word



## Courbe étalon

Std. Curve (Courbe étalon) : Ce bouton permet d'ouvrir la fenêtre Standard Curve (Courbe étalon). Par défaut, cette fenêtre est ouverte lorsqu'une analyse est ouverte. Si vous fermez la fenêtre, vous pouvez la rouvrir grâce à cette commande.



Les valeurs sur la courbe étalon sont recalculées de façon dynamique au gré des variations du niveau de seuil lorsque vous cliquez sur la ligne de seuil et la faites glisser dans la fenêtre principale.

Les points bleus sur la courbe représentent les échantillons qui ont été définis comme étalons, les points rouges représentent les points de données d'échantillons inconnus.

Remarque : si vous redéfinissez des étalons pour recalculer la courbe étalon, désactivez l'affichage de l'échantillon étalon à l'aide des boutons à droite de l'écran pour le retirer du calcul de la courbe étalon. La suppression des étalons du graphique pour augmenter la valeur R<sup>2</sup> ne présente aucune validité scientifique. Un étalon qui échoue indique que les échantillons ont pu échouer aussi, cela doit donc être intégré aux résultats.

Efficiency (Efficacité) : Il s'agit de l'efficacité de la réaction du cycle d'exécution. Cette valeur est abordée plus en détail page 96.

Valeur R<sup>2</sup> (coefficient de corrélation) : La valeur R<sup>2</sup>, ou valeur R2, est le pourcentage des données correspondant à l'hypothèse que les étalons forment une courbe étalon. Si la valeur R2 est faible, les étalons ne s'intègrent pas facilement à une droite de régression. Cela indique que les résultats (à savoir les concentrations calculées) ne sont peut-être pas fiables. Une bonne valeur R2 est d'environ 0,999.

Remarque : il est possible d'obtenir une valeur R<sup>2</sup> élevée avec une courbe étalon médiocre si vous avez exécuté un nombre insuffisant d'étalons. La valeur R<sup>2</sup> augmente tandis que le nombre d'étalons diminue. Pour une indication plus précise de la fiabilité des résultats, aidez-vous des intervalles de confiance des concentrations calculées.

Valeur R (racine carrée du coefficient de corrélation) : La valeur R est la racine carrée de la valeur R<sup>2</sup>. En général, la valeur R<sup>2</sup> est plus utile pour déterminer la corrélation.

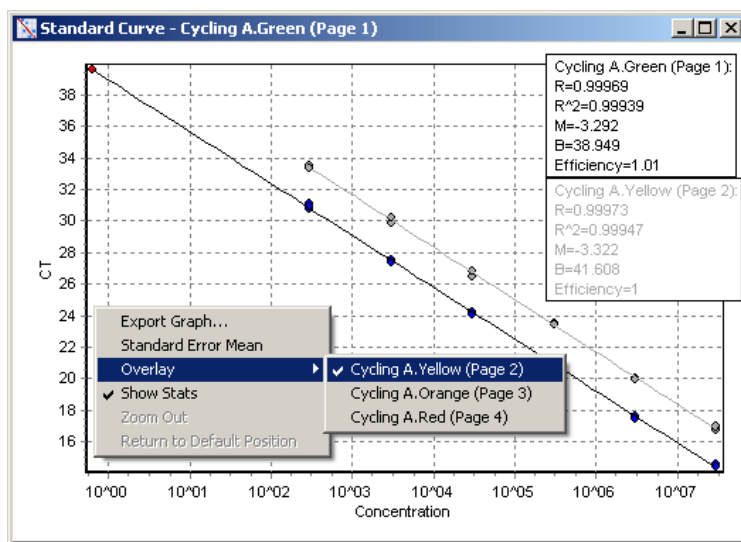
M et B : La pente (M) et l'ordonnée à l'origine (B) de la courbe étalon sont calculées automatiquement à l'aide de la formule  $y = Mx + B$ , et affichées dans la fenêtre Standard Curve (Courbe étalon).

Export Graph... (Exporter le graphique...) : Faites un clic droit sur la courbe étalon pour afficher l'option d'exportation du graphique (consultez la section 7.4).



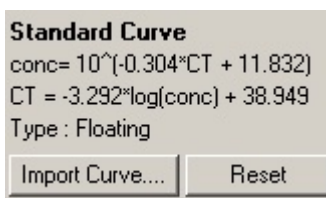
Overlay (Superposition) :

Si vous avez lancé plusieurs cycles de quantification au cours d'un même cycle d'exécution, il est possible de superposer les courbes étalons dans la même fenêtre. Cela peut être utile pour une visualisation graphique de la différence entre différents seuils. Cette fonctionnalité est illustrée sur la capture d'écran ci-dessous.



### Calcul de la courbe étalon

« conc = ...\*CT + ... » et « CT = ... » sont 2 versions de l'équation utilisée pour relier les valeurs CT et les concentrations. Dans les publications, la formule « CT = ... » est la plus courante. La courbe étalon peut être « Floating » (Flottante) ou « Fixed » (Fixe). Si elle est « Floating » (Flottante), une équation optimale pour la courbe étalon est calculée chaque fois que le seuil est déplacé dans la fenêtre principale. Si elle est « Fixed » (Fixe), l'équation ne change pas, car elle a été importée à partir d'un autre cycle d'exécution.



### Importer la courbe

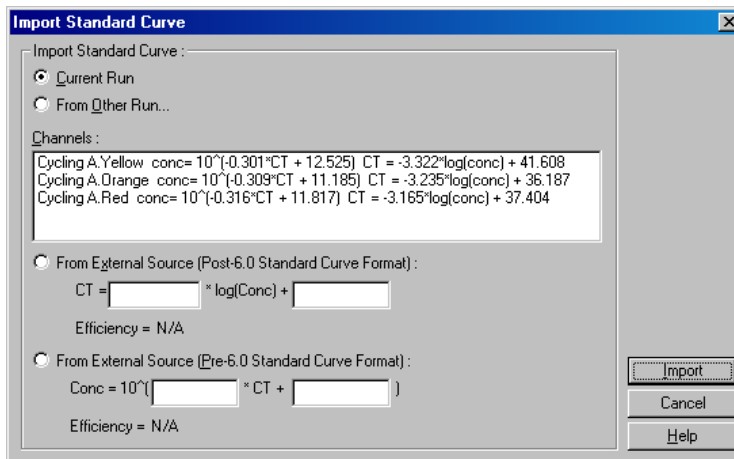
L'importation d'une courbe étalon permet d'estimer les concentrations si aucune courbe étalon n'est disponible dans un cycle d'exécution spécifique et que l'efficacité de la réaction n'a pas changé entre 2 cycles d'exécution. Vous pouvez importer des courbes à partir d'un autre canal ou d'un autre cycle d'exécution en cliquant sur Import Curve (Importer la courbe).

Il est possible d'ajuster si nécessaire la courbe étalon. L'ajustement de la courbe étalon signifie que seule l'efficacité de la courbe étalon source est importée dans le cycle d'exécution en cours. C'est le produit chimique utilisé qui détermine si la courbe étalon doit ou non être ajustée.

Pour ajuster la courbe étalon, utilisez une référence dans le nouveau cycle d'exécution avec une concentration connue. Définissez une référence en choisissant « Standard » (Étalon) comme type d'échantillon et en saisissant une valeur de concentration dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons). Vous pouvez saisir plusieurs copies de la même référence pour améliorer la précision. Notez qu'il est impossible de définir plusieurs concentrations ou étalons de référence. Par exemple, il est possible d'avoir 3 références répliquées de 1 000 copies, mais pas d'avoir une référence de 1 000 copies et une autre de 100 copies dans le même cycle d'exécution.

Une fois la courbe étalon importée, son type devient « Fixed » (Fixe). Cliquez sur Reset (Réinitialiser) pour rétablir le type de courbe étalon sur « Floating » (Flottante).

Voici une capture d'écran de la fenêtre Import Standard Curve (Importer la courbe étalon).



Grâce à cette fenêtre, vous pouvez importer une courbe étalon à partir d'un autre canal analysé dans le cycle d'exécution en cours ou à partir d'un autre cycle d'exécution.

**Current Run (Cycle en cours) :** Lorsque vous choisissez cette option, les analyses quantitatives sur d'autres canaux dans le cycle d'exécution en cours sont répertoriées avec les courbes étalons correspondantes.

**From Other Run... (À partir d'un autre cycle...)** : Choisissez cette option pour ouvrir une boîte de dialogue dans laquelle vous pouvez sélectionner un fichier de cycle d'exécution à ouvrir. Si une analyse quantitative a été effectuée pour le cycle d'exécution, les courbes étalons sont répertoriées pour chaque canal analysé.

Remarque : il faut que les paramètres d'analyse quantitative aient été enregistrés dans le fichier de cycle d'exécution.

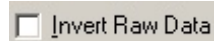
**Channels (Canaux) :** Les canaux analysés et leurs formules de courbe étalon sont répertoriés ici.

**From External Source (À partir d'une source externe...)** : Dans cette zone, vous pouvez saisir directement les valeurs M et B. Cela peut être utile si les valeurs proviennent d'une source externe, comme une feuille de calcul Excel.

## Calcul de la valeur $C_T$

Invert Raw Data  
(Inverser les données brutes) :

Certains produits chimiques donnent un signal de fluorescence qui diminue de façon exponentielle au lieu d'augmenter. Il est possible d'analyser ces données grâce à « Quantitation » (Quantification), mais la case Invert Raw Data (Inverser les données brutes) doit être cochée. Pour toute autre analyse quantitative, cette option doit demeurer décochée.

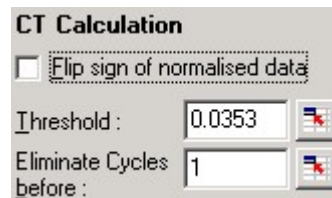


$C_T$  Calculations  
(Calculs de la valeur  $C_T$ ) :

La valeur  $C_T$  est le numéro de cycle auquel la courbe d'amplification dépasse un seuil de détection. En définissant une ligne de seuil et en calculant l'intersection avec chacune des courbes, vous établissez la valeur  $C_T$  pour chaque échantillon.

Threshold (Seuil) :

Pour définir le seuil, cliquez sur l'icône (une grille avec une flèche rouge) puis cliquez sur le graphique et faites glisser la ligne jusqu'au niveau souhaité. Vous pouvez également saisir une valeur de log. Autre possibilité, vous pouvez utiliser Auto-Find Threshold (Déterminer automatiquement le seuil) pour déterminer automatiquement le seuil. Lorsque vous définissez un seuil manuellement, il doit être défini dans la phase exponentielle du cycle d'exécution, nettement au-dessus du niveau de bruit de fond afin d'éviter le bruit et avant le début du plateau du signal dans les cycles ultérieurs.



Eliminate Cycles before  
(Éliminer les cycles avant) :

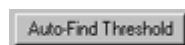
Pour définir ce paramètre, cliquez sur l'icône (une grille avec une flèche rouge) puis cliquez sur le graphique et faites glisser la ligne vers la droite. Cela permet d'éliminer le seuil pour les faibles numéros de cycles.

Remarque : c'est utile en cas de bruit au cours des cycles initiaux, par exemple en raison des effets d'un mélange d'échantillons.

Auto-Find Threshold  
(Déterminer automatiquement le seuil) :

Cette fonction analyse la partie sélectionnée du graphique pour déterminer un paramètre de seuil qui permet des estimations optimales de concentrations données. Vous pouvez changer la partie sélectionnée en saisissant de nouvelles limites supérieure et inférieure dans les zones de texte qui apparaissent.

Pour la plupart des analyses, les limites supérieure et inférieure par défaut sont adaptées. La plage de niveaux de seuil est analysée pour obtenir la courbe étalon optimale d'après les échantillons qui ont été définis comme étalons (c.-à-d. où la valeur R est la plus proche de 1,0).



## Résultats

Permet d'ouvrir la fenêtre Quantitation Results (Résultats de la quantification). Par défaut, cette fenêtre est ouverte lorsqu'une analyse est ouverte. Si la fenêtre est fermée, vous pouvez la rouvrir grâce à cette commande.

Analysis	No.	Colour	Name	Type	C <sub>T</sub>	C <sub>T</sub> Comment	Given Conc.	Calc. Conc. [c]	% Var	Rep. C <sub>T</sub>	Rep. C <sub>T</sub> Std	Rep. C <sub>T</sub> (95% CI)	Rep. Calc. Conc.	Rep. Calc. Conc. (95% CI)
Cycling A.Green (Page 1)	1	Red	10e8	Standard	3.73		1.00E+08	7.15E+07	28.1%	3.73	0.00	(3.73, 3.74)	7.17E+07	(1.17E+07, 4.39E+08)
Cycling A.Green (Page 1)	2	Red	10e8	Standard	3.74		1.00E+08	7.17E+07	28.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	3	Red	10e8	Standard	3.74		1.00E+08	7.16E+07	28.4%					
Cycling A.Green (Page 1)	4	Orange	10e7	Standard	6.11		1.00E+07	1.44E+07	44.0%	6.06	0.06	(5.91, 6.21)	1.49E+07	(3.29E+06, 6.73E+07)
Cycling A.Green (Page 1)	5	Orange	10e7	Standard	6.08		1.00E+07	1.47E+07	46.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	6	Orange	10e7	Standard	5.99		1.00E+07	1.56E+07	65.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	7	Green	10e6	Standard	10.43		1.00E+06	7.72E+05	22.8%	10.38	0.09	(10.15, 10.60)	8.00E+05	(2.62E+05, 2.44E+06)
Cycling A.Green (Page 1)	8	Green	10e6	Standard	10.27		1.00E+06	8.58E+05	14.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	9	Green	10e6	Standard	10.43		1.00E+06	7.71E+05	22.9%					
Cycling A.Green (Page 1)	10	Green	10e5	Standard	13.49		1.00E+05	9.66E+04	3.2%	13.65	0.13	(13.31, 13.98)	8.74E+04	(2.96E+04, 2.59E+05)
Cycling A.Green (Page 1)	11	Green	10e5	Standard	13.75		1.00E+05	8.13E+04	18.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	12	Green	10e5	Standard	13.69		1.00E+05	8.48E+04	15.2%					
Cycling A.Green (Page 1)	13	Blue	10e4	Standard	15.66		1.00E+04	2.24E+04	123.7%	15.46	0.25	(14.84, 16.08)	2.56E+04	(7.62E+03, 8.36E+04)
Cycling A.Green (Page 1)	14	Blue	10e4	Standard	15.54		1.00E+04	2.42E+04	141.7%					
Cycling A.Green (Page 1)	15	Blue	10e4	Standard	15.18		1.00E+04	3.08E+04	208.8%					
Cycling A.Green (Page 1)	16	Blue	10e3	Standard	21.36		1.00E+03	4.71E+02	52.9%	21.09	0.24	(20.49, 21.69)	5.65E+02	(8.13E+01, 3.50E+03)
Cycling A.Green (Page 1)	17	Blue	10e3	Standard	20.89		1.00E+03	6.47E+02	35.3%					
Cycling A.Green (Page 1)	18	Blue	10e3	Standard	21.02		1.00E+03	5.94E+02	40.6%					
Cycling A.Green (Page 1)	19	Black	10e2	Standard		NEG (Multi C <sub>T</sub> )				1.00E+02				
Cycling A.Green (Page 1)	20	Black	10e2	Standard	23.98					7.99E+01		20.1%		
Cycling A.Green (Page 1)	21	Black	10e2	Standard		NEG (Multi C <sub>T</sub> )				1.00E+02				
Cycling A.Green (Page 1)	22	NTC	NTC	NTC		NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	23	NTC	NTC	NTC		NEG (NTC)								
Cycling A.Green (Page 1)	24	NTC	NTC	NTC		NEG (NTC)								

Dans la fenêtre Quantitation Results (Résultats de la quantification), les résultats du cycle d'exécution sont synthétisés dans un tableau. Faites un clic droit et sélectionnez Export to Excel (Exporter vers Excel) pour exporter le tableau vers Excel. Excel s'ouvre automatiquement. Pour copier les données dans une feuille de calcul existante, choisissez l'option Copy (Copier), ouvrez la feuille de calcul puis sélectionnez Paste (Coller).

La fenêtre Quantitation Results (Résultats de la quantification) comprend les colonnes suivantes.

- Analysis (Analyse) : Série de données en cours (canal d'acquisition et page d'échantillon).
- No. (N°) : Numéro de l'échantillon.
- Color (Couleur) : Couleur du graphique définie par échantillon.
- Type : Type d'échantillon défini.
- C<sub>T</sub> : Valeur C<sub>T</sub> déterminée.
- C<sub>T</sub> Comment (Commentaire C<sub>T</sub>) : Annotation automatique de la détermination de la valeur C<sub>T</sub>, si les valeurs C<sub>T</sub> sont exclues. Les indicateurs suivants sont possibles :
  - NEG (Multi C<sub>T</sub>) : le seuil croise la courbe de fluorescence au moins deux fois (double intersection). Il est impossible de déterminer une valeur C<sub>T</sub> sans ambiguïté.
  - NEG (NTC) : l'augmentation globale de la fluorescence ne répond pas aux conditions définies dans la fonction « NTC threshold » (Seuil du contrôle sans matrice) du menu Outlier Removal (Suppression des valeurs aberrantes) (voir ci-dessous). Par exemple, une courbe de fluorescence croise le seuil donné, mais la légère augmentation globale de la pente suggère un contrôle sans matrice et aucune valeur C<sub>T</sub> n'est donnée.
  - NEG (R.Eff) : l'augmentation globale de la fluorescence ne répond pas aux conditions définies dans la fonction « Reaction efficiency threshold » (Seuil d'efficacité de la réaction) du menu Outlier Removal (Suppression des valeurs aberrantes) (voir ci-dessous). Les échantillons qui ne présentent pas une certaine efficacité de la réaction sont exclus et aucune valeur C<sub>T</sub> n'est donnée. Cet indicateur n'apparaît que si la fonction correspondante est activée.

%Var	Pourcentage de variation entre la concentration calculée et la concentration inconnue. %Var = Abs(Calculée/Donnée-1)
Rep. Ct (Ct rép.) :	Valeur CT moyenne de tous les échantillons de même nom que cet échantillon.
Rep. Ct Std. Dev. (Écart-type Ct rép.) :	Écart-type de la valeur CT de tous les échantillons de même nom que cet échantillon.
Rep. Ct. 95% C.I. (IC 95 % Ct rép.) :	Plage de valeurs Ct qui, statistiquement, représente 95 % de la variation dans la valeur Ct. Il s'agit d'une mesure statistique de préservation qui peut être utilisée comme mesure de qualité. Cette plage peut être réduite en exécutant davantage de réplicats ou en ayant moins de variation dans les réplicats.
Rep. Calc. Conc. (Conc. calculée rép.) :	Concentration calculée pour tous les échantillons de même nom.  Remarque : il ne s'agit pas de la simple moyenne des concentrations calculées. Il s'agit de la moyenne géométrique, qui est une moyenne mathématiquement plus adaptée compte tenu de la nature exponentielle de l'amplification en temps réel.
Rep. Calc. Conc. 95% C.I. (IC 95 % Ct rép.) :	Plage de concentrations qui représente 95 % de la variation dans l'échantillon individuel ainsi que le modèle de régression linéaire sur lequel elle est basée. Voici une interprétation de cette mesure : c'est la plage de concentrations qui pourrait être obtenue 95 % du temps si ce cycle d'exécution était effectué de façon répétée avec la même variation. Il s'agit d'une estimation prudente et la plage peut être assez importante compte tenu de la variation inhérente à l'analyse en temps réel. Cette plage peut être importante si les étalons sont exécutés avec des concentrations différentes de celles des échantillons inconnus, si un faible nombre de réplicats est utilisé ou si la variation est importante.  Important : les variations indiquées par cette mesure sont inhérentes au processus exponentiel de l'amplification en temps réel, elles ne sont pas dues au Rotor-Gene Q MDx. Des tests similaires réalisés sur des thermocycleurs à bloc donneraient une variation plus importante en raison de l'uniformité moindre de la température des systèmes à bloc. Si vous souhaitez comparer les thermocycleurs, nous vous recommandons de comparer l'écart-type de la valeur CT.

Remarque : vous trouverez des informations plus détaillées sur les intervalles de confiance en annexe B.

Remarque : à l'exception de Color (Couleur), Name (Nom), Ct et Ct Comment (Commentaire Ct), chacune des colonnes peut être affichée ou masquée en faisant un clic droit sur la fenêtre puis en sélectionnant ou désélectionnant le nom de la colonne.

No.	C	Name	Ct	Ct Comment	Given Conc (Cop)	Calc. Conc (Copie)	% Var
1		3x10 <sup>8</sup>		Analysis	300.000.000.	324.345.068.	8,1%
2		3x10 <sup>8</sup>		✓ No.	300.000.000.	301.264.230.	0,4%
3		3x10 <sup>8</sup>		✓ Color	300.000.000.	308.453.920.	2,8%
4		3x10 <sup>8</sup>		✓ Name	300.000.000.	298.576.301.	0,5%
5		3x10 <sup>7</sup>		Type	30.000.000.	27.524.578.	8,3%
6		3x10 <sup>7</sup>		✓ Ct	30.000.000.	26.405.444.	12,0%
7		3x10 <sup>7</sup>		✓ Ct Comment	30.000.000.	28.701.296.	4,3%
8		3x10 <sup>7</sup>		✓ Given Conc (Copies)	30.000.000.	23.847.613.	20,5%
9		3x10 <sup>6</sup>		✓ Calc Conc (Copies)	3.000.000.	3.392.142.	13,1%
10		3x10 <sup>6</sup>		✓ % Var	3.000.000.	3.170.880.	5,7%
11		3x10 <sup>6</sup>		✓ Rep. Ct	3.000.000.	3.130.752.	4,4%
12		3x10 <sup>6</sup>		✓ Rep. Ct Std. Dev.	3.000.000.	3.166.396.	5,5%
13		3x10 <sup>5</sup>		✓ Rep. Ct (95% CI)	300.000.	321.913.	7,3%
14		3x10 <sup>5</sup>		✓ Rep. Calc. Conc.	300.000.	305.744.	1,9%
15		3x10 <sup>5</sup>		Rep. Calc. Conc. (95% CI)	300.000.	312.045.	4,0%
16		3x10 <sup>5</sup>		Rep. Calc. Conc. (95% CI)	300.000.	324.696.	8,2%
17		3x10 <sup>4</sup>	19,47		30.000.	32.420.	8,1%
18		3x10 <sup>4</sup>	19,59		30.000.	29.872.	0,4%
19		3x10 <sup>4</sup>	19,53		30.000.	31.102.	3,7%
20		3x10 <sup>4</sup>	19,52		30.000.	31.301.	4,3%
21		3x10 <sup>3</sup>	22,93		3.000.	2.850.	5,0%
22		3x10 <sup>3</sup>	22,96		3.000.	2.793.	6,9%
23		3x10 <sup>3</sup>	22,94		3.000.	2.825.	5,8%
24		3x10 <sup>3</sup>	22,91		3.000.	2.888.	3,7%
25		3x10 <sup>2</sup>	26,03		300.	322.	7,5%
26		3x10 <sup>2</sup>	26,11		300.	305.	1,6%
27		3x10 <sup>2</sup>	26,26		300.	275.	8,5%
28		3x10 <sup>2</sup>	26,18		300.	291.	3,1%

Pour vous faciliter les choses, la fonctionnalité AutoStat (Statistiques automatiques) calcule automatiquement la moyenne, l'écart-type ainsi que les valeurs minimale et maximale des échantillons d'intérêt. Sélectionnez les résultats d'intérêt en faisant un clic gauche puis en faisant glisser, les valeurs apparaissent dans un tableau à droite de l'écran.

Sur cette capture d'écran, les concentrations de plusieurs échantillons sont analysées.

Ct	Given Conc (Cop)	Calc Conc (Copie)	% Var	f
14.42	30000000	2825064	5.8%	
14.59	30000000	25142920	16.2%	
14.40	30000000	28730050	4.2%	
17.44	3000000	3422624	14.1%	
17.58	3000000	3103391	3.4%	
17.42	3000000	3467111	15.6%	
20.99	300000	285353	4.9%	
20.92	300000	298898	0.4%	
21.04	300000	275802	8.1%	
24.20	30000	30786	1.0%	

**Statistics**

Maximum : 28730050

Minimum : 25142920

Count : 3

Mean : 27328521

Std. Dev : 1.07537  
(Orders of Mag.)

Copy

Important : la fonctionnalité AutoStat (Statistiques automatiques) est contextuelle. Ainsi, dans la mesure du possible, elle génère uniquement des informations utiles.

Par exemple :

- Il n'est pas possible d'obtenir un intervalle de confiance de 95 % à partir d'un ensemble de concentrations calculées sélectionnées, car le modèle de régression doit aussi être pris en compte.
- L'écart-type « Orders of Magnitude » (Ordres de grandeur) est indiqué pour les concentrations calculées, pas comme une valeur absolue. Il s'agit d'une variation de pourcentage. Par exemple, une valeur de 1,07537 représente une variation de 7,54 %  $(278\ 974 - 322\ 611) = (300\ 000/1,07537 - 00\ 000 * 1,07537)$ . Une valeur absolue n'est pas pertinente pour une courbe étalon. La valeur peut être fournie à la concentration la plus faible pour créer une faible erreur perçue ( $\pm 3$  copies) ou à une concentration élevée ( $\pm 3\ 000\ 000$  copies). C'est pourquoi on utilise l'écart-type « Orders of Magnitude » (Ordres de grandeur).
- Pour les concentrations calculées, la moyenne géométrique est utilisée à la place de la moyenne arithmétique. Cela est dû à la nature exponentielle de la real-time PCR. Par exemple, en cas de dilutions doubles avec 1, 2, 8 et 16 copies, la moyenne doit être de 4 copies, car c'est le milieu de la série de dilutions. Mais la moyenne arithmétique est de 6,75. La moyenne géométrique est de  $(1 * 2 * 8 * 16)^{(1/4)} = 4$  copies.

### Normalisation du tube dynamique

L'option Dynamic Tube (Tube dynamique) est sélectionnée par défaut, elle permet de déterminer le bruit de fond moyen de chaque échantillon juste avant le début de l'amplification.

La normalisation standard prend simplement les 5 premiers cycles et s'en sert d'indicateur du niveau de bruit de fond de chaque échantillon. Tous les points de données pour l'échantillon sont ensuite divisés par cette valeur pour normaliser les données. Cela peut manquer de précision car, pour certains échantillons, le niveau de bruit de fond au-delà des 5 premiers cycles peut ne pas être révélateur du niveau de bruit de fond juste avant l'amplification. A contrario, la normalisation du tube dynamique utilise la dérivée seconde de chaque trace d'échantillon pour déterminer un point de hausse pour chaque échantillon. On calcule ensuite la moyenne du niveau de bruit de fond à partir du cycle 1 jusqu'à ce numéro de cycle de hausse pour chaque échantillon. Cela donne des résultats de quantification d'une grande précision.

Notez que pour certaines séries de données, la fluorescence de fond n'est pas homogène durant les cycles qui précèdent le début de l'amplification. Dans ces cas-là, il peut être nécessaire de désélectionner la normalisation du tube dynamique en cliquant sur Dynamic Tube (Tube dynamique), sinon cela pourrait donner une quantification moins précise.

## Correction de la pente du bruit

Dans l'idéal, la fluorescence (FI) de fond d'un échantillon devrait rester constante avant l'amplification. Mais parfois la FI affiche une augmentation ou une diminution progressive sur plusieurs cycles eu égard au produit chimique utilisé. Cela engendre un niveau de bruit faussé. La correction de la pente du bruit utilise une droite de régression pour déterminer le niveau de bruit plutôt qu'une moyenne, puis effectue une normalisation par rapport à cette droite. Lorsque vous sélectionnez cette option en cliquant sur le bouton Slope Correct (Correction de la pente), vous pouvez améliorer les données des réplicats si les lignes de base des échantillons présentent une pente visible. La correction de la pente du bruit améliore les données lorsque vous observez des bruits de fond des données brutes sur une pente vers le haut ou le bas avant le point de hausse ( $C_T$ ).

Lorsque la pente n'est pas constante ou si les cycles initiaux de la ligne de base affichent une augmentation ou une diminution importante du signal comparée au reste de la courbe, la correction de la pente du bruit peut entraîner quelques effets indésirables, tels que des courbes de contrôle négatif qui dépassent le seuil en raison de l'approximation de la ligne de base en tant que droite de régression et la normalisation des données brutes en conséquence. Ainsi cette fonction n'améliore pas toujours la qualité des données, elle ne doit être utilisée que si les courbes de données brutes affichent une pente constante.

## Ajustement du point de hausse

L'algorithme d'ajustement du point de hausse peut permettre de définir une longueur minimale de la ligne de base utilisée pour la normalisation. Pour pouvoir appliquer l'ajustement du point de hausse, vous devez définir deux paramètres. Si un point de hausse est calculé par le Dynamic Tube (Tube dynamique) qui est inférieur au premier paramètre, alors le deuxième paramètre est utilisé comme point de hausse. L'ajustement du point de hausse ne peut être utilisé qu'avec la normalisation du Dynamic Tube (Tube dynamique).

## Ignorer les premiers

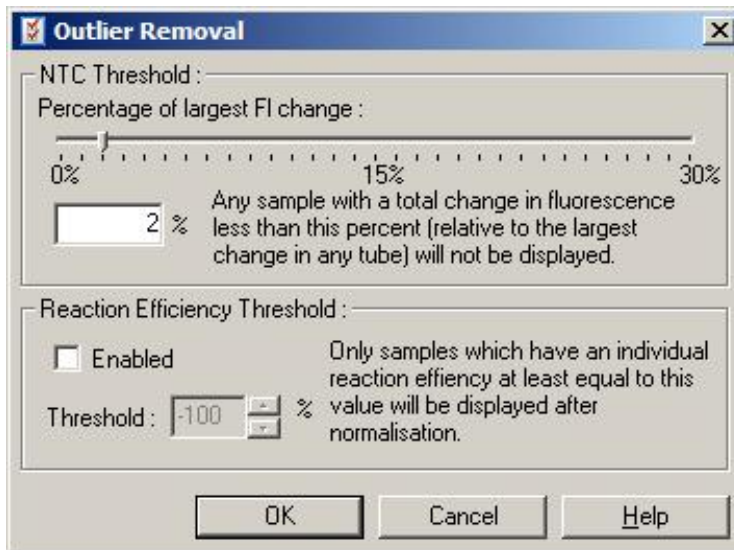
Le signal de fluorescence des premiers cycles d'un cycle d'exécution peut ne pas être représentatif du reste du cycle d'exécution. Vous pouvez donc obtenir de meilleurs résultats si vous ignorez les premiers cycles. Vous pouvez ignorer jusqu'à 10 cycles. Néanmoins, si les premiers cycles semblent similaires aux suivants, vous obtiendrez de meilleurs résultats en désélectionnant « Ignore First » (Ignorer les premiers), car l'algorithme de normalisation aura davantage de données à utiliser.

## Suppression des valeurs aberrantes

Pour distinguer les changements mineurs dans la fluorescence des véritables réactions dans les contrôles sans matrice (No Template Control, NTC), vous disposez de 2 mesures : NTC Threshold (Seuil du contrôle sans matrice) et Reaction Efficiency Threshold (Seuil d'efficacité de la réaction).



Le NTC Threshold (Seuil du contrôle sans matrice) est recommandé pour la plupart des applications. L'approche utilisée doit être validée.



NTC Threshold  
(Seuil du contrôle sans matrice) :

Permet d'exclure de l'analyse les échantillons ou les contrôles sans matrice qui présentent une légère déviation vers le haut. Les échantillons présentant un changement inférieur au « NTC Threshold » (Seuil du contrôle sans matrice) ne sont pas rapportés et un indicateur « NEG (NTC) » apparaît dans la colonne « CT Comment » (Commentaire CT).

Le pourcentage est relatif au changement maximal observé dans un tube. Par exemple, si un échantillon a commencé à un bruit de fond de 2 FI avant de passer à 47 FI, alors 45 FI représente 100 %. Un « NTC Threshold » (Seuil du contrôle sans matrice) de 10 % considérera tout échantillon inférieur à 4,5 FI comme un bruit.

Reaction Efficiency Threshold  
(Seuil d'efficacité de la réaction) :

Le « Reaction Efficiency Threshold » (Seuil d'efficacité de la réaction) est une autre méthode permettant d'exclure le bruit de l'analyse. Cet algorithme de normalisation utilise les techniques d'estimation de l'efficacité de la réaction utilisées dans la quantification comparative (consultez la section 6.6.6). Tous les échantillons qui ne présentent pas une efficacité de la réaction au moins égale à ce niveau sont exclus et un indicateur « NEG (R.Eff) » apparaît dans la colonne « CT Comment » (Commentaire CT).

Un niveau de 0 % indique que, au cours de la phase exponentielle, aucune réaction n'a eu lieu. 100 % indique qu'une réaction d'une efficacité totale a eu lieu au cours de la phase exponentielle. Des pourcentages négatifs indiquent que, au cours de la phase exponentielle, le signal de fluorescence a décliné.

Les recherches actuelles ne sont pas concluantes sur les niveaux précis d'efficacité requis pour distinguer les véritables réactions d'une contamination et d'autres effets. Pour cette raison, nous recommandons d'utiliser cette fonctionnalité avec prudence, en partant du principe que tout échantillon avec une véritable réaction présentera une phase exponentielle visible avec une certaine augmentation de la fluorescence. En définissant cette valeur à plus de 0 %, vous excluez certains échantillons présentant une augmentation inefficace, mais perceptible dans la fluorescence, tandis qu'en la définissant à moins de 0 %, vous afficherez des échantillons qui ont présenté une diminution dans la fluorescence au cours de la phase exponentielle et qui doivent donc clairement être exclus.

Remarque : si une valeur est exclue par l'activation de l'une de ces techniques, la valeur  $C_T$  correspondante n'apparaîtra pas dans la fenêtre Quantitation Results (Résultats de la quantification). Un indicateur de l'exclusion apparaîtra au même moment dans la colonne « Ct Comment » (Commentaire Ct). Il est donc important de laisser toujours la colonne « Ct Comment » (Commentaire Ct) affichée.

Sur l'image ci-dessous, les échantillons 7, 8 et 9 ont été exclus pour cause de « Reaction Efficiency Threshold » (Seuil d'efficacité de la réaction).

No.	Name	Type	Ct	Ct Comment	Given Conc (copies/reaction)
7	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
8	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
9	10e6	Standard		NEG (R.Eff)	1,00E+06
10	10e5	Standard	15,04		1,00E+05
11	10e5	Standard	15,03		1,00E+05
12	10e5	Standard	15,05		1,00E+05

### Pente, amplification, efficacité de la réaction

La pente ( $M$ ) d'une réaction (affichée dans la fenêtre Standard Curve [Courbe étalon]) peut être utilisée pour déterminer l'amplification exponentielle et l'efficacité de la réaction à l'aide des calculs suivants :

$$\text{Amplification exponentielle} = 10^{(-1/M)}$$

$$\text{Efficacité de la réaction} = [10^{(-1/M)}] - 1$$

Les valeurs optimales pour la pente  $M$ , l'amplification exponentielle et l'efficacité de la réaction sont respectivement  $-3,322$ , 2 et 1. L'efficacité de la réaction apparaît sur le rapport (sur les rapports complets et standard, voir page 85) et dans la fenêtre Standard Curve (Courbe étalon).

La pente est calculée comme le changement de la valeur  $C_T$  divisé par le changement d'entrée log (p. ex. nombre de copies). Une amplification 100 % efficace signifie un doublement du produit d'amplification à chaque cycle, ce qui donne une valeur de  $M$  de  $-3,322$ , un facteur d'amplification de 2 et une efficacité de la réaction de 1.

Avec une valeur de  $M$  de  $-3,322$ , les calculs sont les suivants :

$$\text{Amplification exponentielle} : 10^{(-1/-3,322)} = 2$$

$$\text{Efficacité de la réaction} : [10^{(-1/-3,322)}] - 1 = 1$$

Autre exemple : une valeur de  $M$  de 3,8 signifie que la réaction présente une amplification exponentielle d'environ 1,83 et une efficacité de la réaction de 0,83 (ou 83 %).

## Décalage

Dans une formule décrivant le rapport entre 2 variables, le décalage est exprimé par la lettre B ( $y = Mx + B$ ). Le décalage est parfois appelé ordonnée à l'origine. B représente la valeur  $C_T$  pour une concentration donnée de 1 unité. En remplaçant 1 dans la formule de concentration suivante :

$$C_T = \log(1) * M + B$$

$$C_T = 0 * M + B$$

Le résultat est  $C_T = B$

L'ordonnée à l'origine peut changer d'un cycle d'exécution à l'autre et constitue une mesure moins stable que le gradient. C'est pourquoi le gradient est analysé plus fréquemment que l'ordonnée à l'origine.

## Fenêtre principale

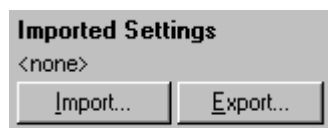
La fenêtre principale affiche les tracés d'amplification sur une échelle logarithmique.

Cliquez sur Linear Scale (Échelle linéaire) au bas de la fenêtre pour passer de l'échelle logarithmique à l'échelle linéaire et vice versa. L'alternance entre ces échelles ne modifie que l'affichage des graphiques, pas les calculs. Cela peut être vérifié par l'utilisation de l'outil d'identification en faisant un clic droit sur le graphique et en sélectionnant Show pinpointer (Afficher l'outil d'identification). Avec une échelle logarithmique, les valeurs plus petites sont plus visibles sur le graphique alors qu'une échelle linéaire facilite une visualisation de la réaction entière.

Remarque : les tracés d'amplification sont actualisés en temps réel, car le Rotor-Gene Q MDx acquiert activement les données en cours de cycle d'exécution. Cette surveillance en temps réel des données permet à l'utilisateur de voir les résultats dès que les courbes affichent la croissance exponentielle. Il est possible de tirer des conclusions préliminaires et de prendre des décisions pour le cycle d'exécution suivant.

## Modèles d'analyse quantitative

Les modèles d'analyse quantitative permettent à l'utilisateur d'exporter les paramètres de seuil et de normalisation dans un même fichier \*.qut. Ce fichier peut être importé et appliqué à d'autres expériences. Consultez la section 7.1 pour plus de détails.



### 6.6.3 Deux courbes étalons

Vous pouvez effectuer une analyse d'expression génique relative utilisant un gène de normalisation à l'aide de la méthode à 2 courbes étalons.

Cette méthode nécessite une courbe étalon pour chaque gène. La concentration pour chaque gène est quantifiée selon sa courbe étalon. L'expression du gène d'intérêt est ensuite normalisée avec le gène de normalisation (souvent un gène domestique).

Il est important de désigner correctement les étalons et les réplicats d'échantillons lors de la configuration des échantillons (consultez la section « Configuration des échantillons »). Plus spécifiquement, les échantillons correspondants doivent avoir le même nom dans chaque analyse. Dans une réaction multiplex, dans laquelle les positions des tubes du gène d'intérêt et du gène de normalisation sont identiques, une série de définitions d'échantillons est suffisante. Si vous effectuez une analyse relative avec un gène de normalisation sur un seul canal (autrement dit les réactions sont effectuées dans des tubes distincts utilisant le même fluorophore), alors il faut créer 2 pages d'échantillons. La première doit marquer les positions des tubes avec les noms des échantillons pour le gène d'intérêt, en laissant les autres positions sans nom. La deuxième doit marquer les positions utilisées pour le gène de normalisation. Ensuite, le logiciel fait correspondre les échantillons sur les 2 analyses d'après leurs noms.

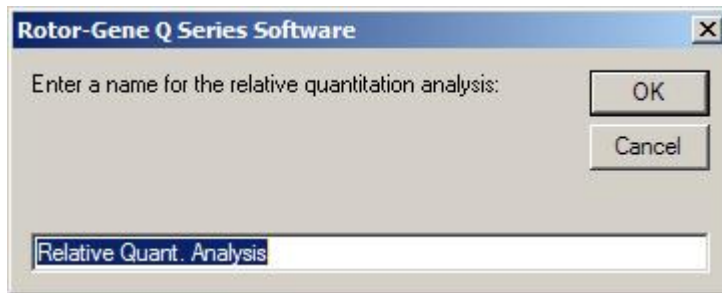
#### Analyse d'expression avec la méthode à deux courbes étalons

Tout d'abord, les données peuvent être analysées pour chaque gène avec l'analyse quantitative. Sinon, les résultats pour chaque gène sont déterminés automatiquement à l'aide de l'outil Autofind Threshold (Recherche automatique du seuil).

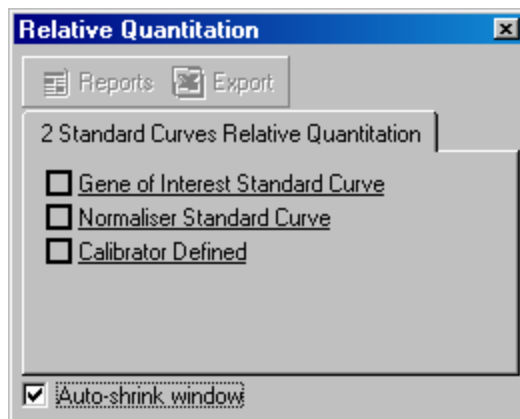
1. Dans la fenêtre Analysis (Analyse), sélectionnez l'onglet 2 Std Curve (Rel.) (2 courbes étalons [Rel.]). Cliquez sur New Analysis... (Nouvelle analyse...).

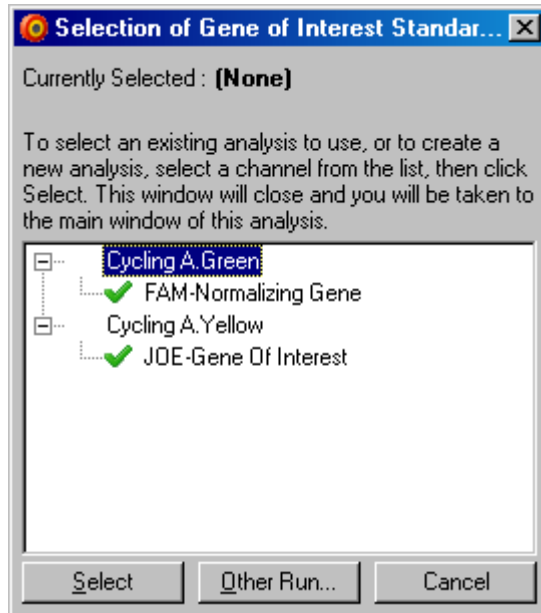


2. Saisissez un nom pour l'analyse.

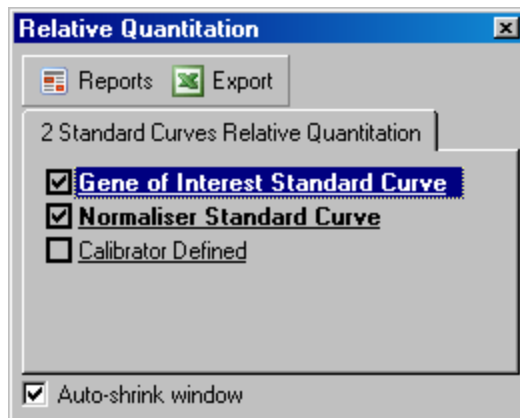


3. Désignez les pages utilisées pour l'analyse du gène de normalisation et l'analyse du gène d'intérêt. Par exemple, cliquez sur Gene of Interest Standard Curve (Courbe étalon du gène d'intérêt) pour ouvrir la fenêtre Selection of Gene of Interest Standard... (Sélection de la courbe étalon du gène d'intérêt...). Sélectionnez la page sur laquelle le gène d'intérêt a été quantifié. Répétez la procédure pour le gène de normalisation. Vous pouvez également définir un calibrateur. Si vous choisissez cette option, le calibrateur se voit attribuer une valeur de 1 et toutes les autres concentrations d'échantillons sont calculées par rapport à cet échantillon.

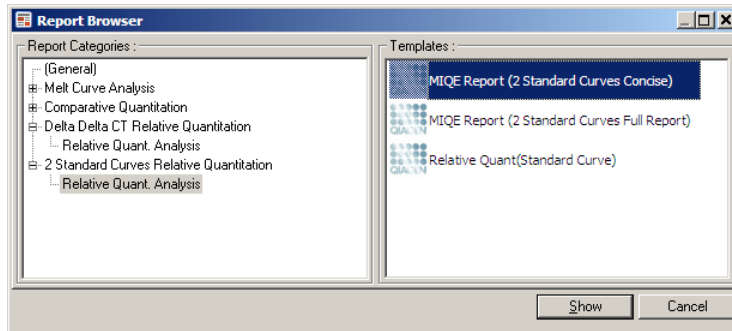




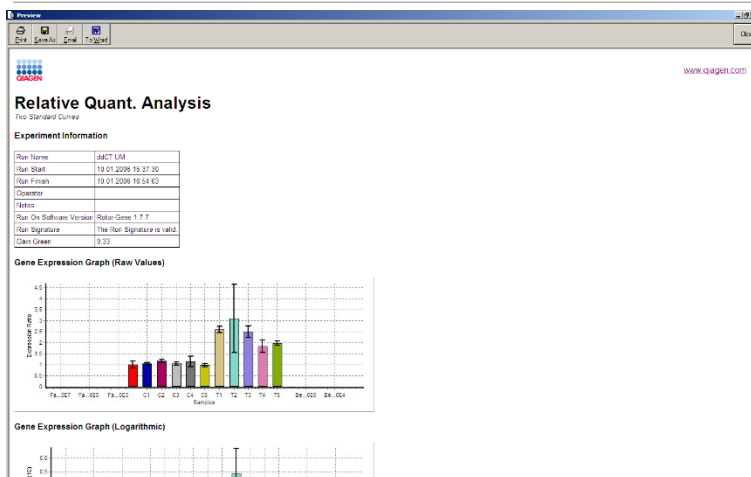
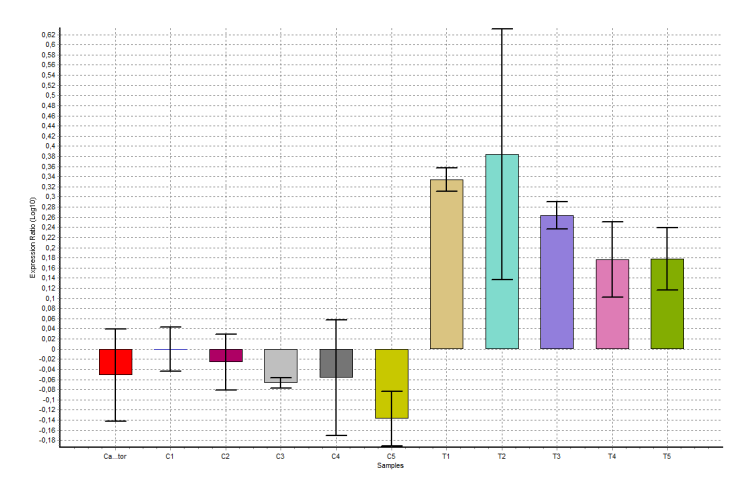
Une fois les sélections terminées, les options sont cochées en vert comme indiqué ci-dessus.



4. Cliquez sur le bouton Reports (Rapports) pour afficher le Report Browser (Navigateur de rapports). Sélectionnez dans la liste l'analyse portant le nom qui convient. Cliquez sur le bouton Show (Afficher) pour afficher le rapport de quantification relative. L'option Export (Exporter) permet d'exporter les résultats vers une nouvelle feuille de calcul Excel. Si un calibrateur est inclus, les résultats sont calculés par rapport à l'échantillon calibrateur, auquel une valeur de 1 a été attribuée.



5. Les concentrations observées sur les courbes étalons du gène d'intérêt (GOI Conc. [Conc. gène d'intérêt]) et du gène de normalisation (Norm. Conc. [Conc. gène de normalisation]) ainsi que la concentration relative (Relative Conc. [Conc. relative]) sont affichées. Les résultats peuvent être enregistrés dans un fichier Word.



6. Les valeurs Rel Min (Relative min.) et Rel Max (Relative max.) sont générées en calculant l'écart-type du quotient à partir des écarts-types du gène d'intérêt et du gène de normalisation à l'aide de la formule suivante :

$$CV_{relconc} = \sqrt{CV_{GOI}^2 + CV_{Norm}^2}$$

où :

$$CV = \frac{s}{\bar{X}} = \frac{stddev}{meanvalue}$$

#### 6.6.4 Quantification relative delta delta CT

La méthode delta delta CT permet l'analyse d'expression génique relative. Elle est décrite par Livak et Schmittgen (2001).\*

Cette méthode ne nécessite pas d'inclure des courbes étalons à chaque cycle d'exécution. Chaque échantillon est d'abord normalisé pour la quantité de matrice ajoutée par comparaison avec le gène de normalisation. Ces valeurs normalisées sont ensuite normalisées par rapport à un traitement avec calibrateur. Le calibrateur peut être, par exemple, des échantillons de type sauvage, un contrôle non traité ou des échantillons au temps zéro.

Il est impératif que les efficacités de l'amplification du gène d'intérêt et du gène de normalisation soient identiques et qu'elles soient validées conformément aux consignes de Livak et Schmittgen.

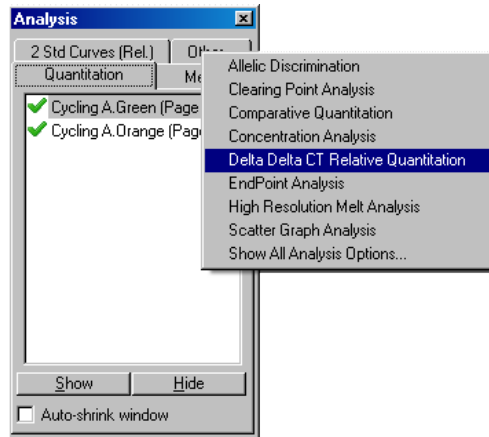
Il est impératif de définir correctement les noms des échantillons dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons), avec les mêmes échantillons marqués de façon identique dans chaque analyse quantitative composite.

1. Analysez les données avec « Quantitation » (Quantification). Il n'est pas nécessaire d'exécuter une courbe étalon une fois la validation effectuée.

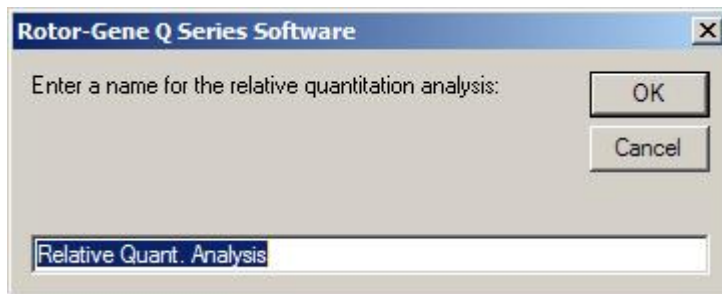
Sous l'onglet Other (Autre) dans la fenêtre Analysis (Analyse), sélectionnez Delta Delta CT Relative Quantitation (Quantification relative delta delta CT). Sélectionnez New Analysis (Nouvelle analyse).

\* Livak, K.J. et Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-delta</sup>[delta C(T)] method. *Methods* 25, 402.

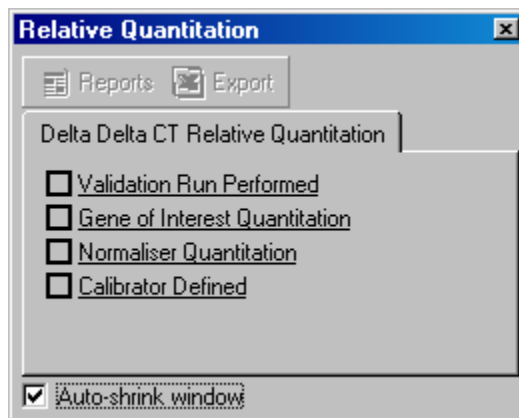


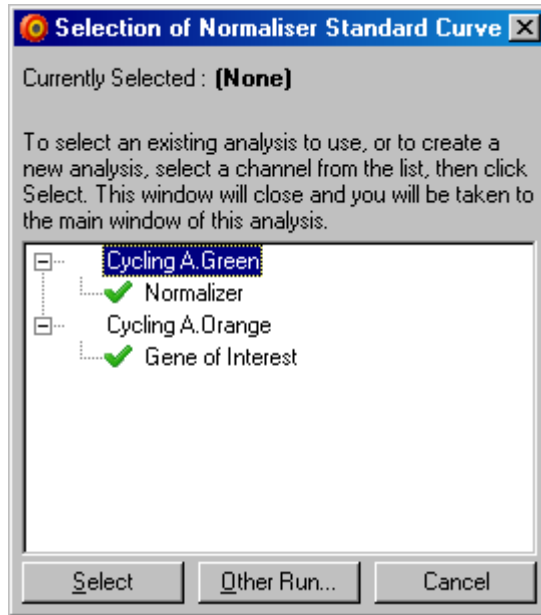


2. Saisissez un nom pour l'analyse.

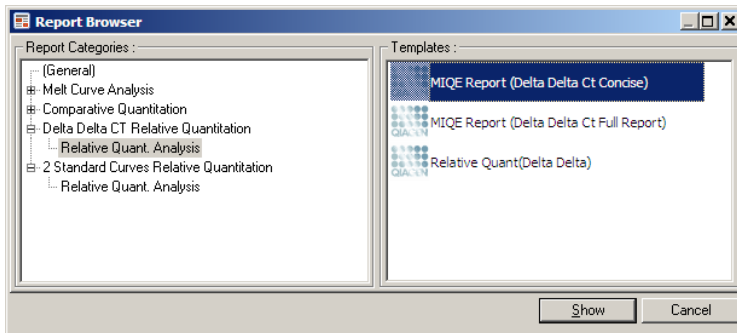


3. Vous devez cocher Validation Run Performed (Cycle de validation effectué) pour pouvoir passer à l'analyse. Définissez les pages sur lesquelles le gène d'intérêt et le gène de normalisation ont été analysés.





4. Cliquez sur le bouton Reports (Rapports) pour afficher le Report Browser (Navigateur de rapports). Sélectionnez dans la liste l'analyse portant le nom qui convient. Cliquez sur le bouton Show (Afficher) pour afficher le rapport de quantification relative. L'option Export (Exporter) permet d'exporter les résultats vers une nouvelle feuille de calcul Excel. Si un calibrateur est inclus, les résultats sont calculés par rapport à l'échantillon calibrateur, qui a une valeur de 1.



Vous verrez un exemple de résultats de cette analyse ci-après. Les valeurs  $C_T$  pour le gène d'intérêt (GOI  $C_T$  [Ct gène d'intérêt]), les valeurs  $C_T$  pour le gène de normalisation (Norm.  $C_T$  [Ct gène de normalisation]), le delta  $C_T$ , le delta delta  $C_T$  et la concentration relative (Relative Conc. [Conc. relative]) sont affichés. L'expression est relative à l'échantillon calibrateur, auquel une expression relative de 1 est attribuée.

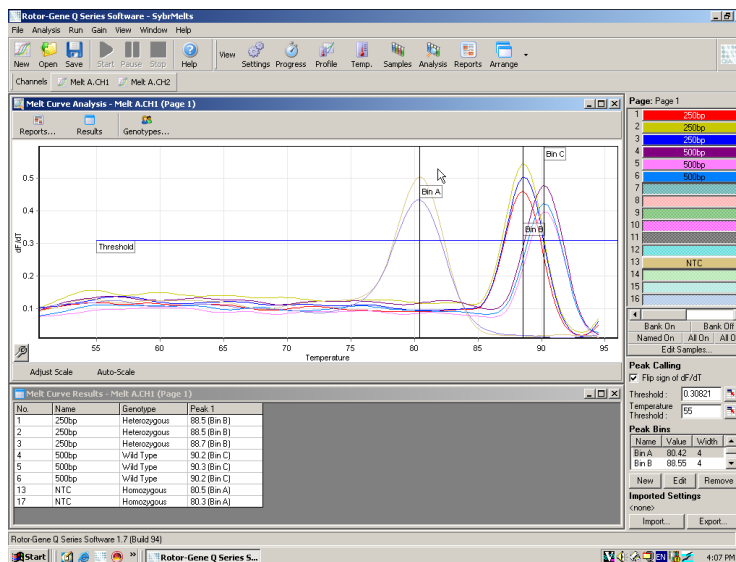
Pour plus d'informations sur la dérivation des calculs de Rel Min (Relative min.) et Rel Max (Relative max.), reportez-vous à Livak et Schmittgen (2001).\*

C	Replicate Name	GOI CT	Norm. CT	Delta CT	Delta Delta CT	Relative Conc.	Rel Min	Rel Max	Calibrator
	Dilution 9		28.37						
	Dilution 7	37.61	28.39	9.22	4.40	0.04728	0.04128	0.05414	
	Dilution 6	35.72	28.28	7.44	2.62	0.16228	0.14904	0.17669	
	Dilution 5	35.04	28.24	6.80	1.98	0.25292	0.11715	0.54605	
	Dilution 4	32.94	28.12	4.82	0.00	1.00000	0.69432	1.44025	Yes
	Dilution 3	31.66	28.23	3.43	-1.38	2.60825	2.16257	3.14579	
	Dilution 2	30.05	28.02	2.03	-2.79	6.92153	6.49040	7.38130	
	Dilution 1	28.61	27.92	0.69	-4.12	17.41896	16.47839	18.41322	
	QS 0.1 IU/μl		28.11						
	0.316 IU/μl	37.62	28.10	9.51	4.70	0.03857	0.03633	0.04094	
	1 IU/μl	36.84	28.15	8.69	3.88	0.06805	0.04415	0.10489	
	3.16 IU/μl	34.45	28.05	6.40	1.59	0.33305	0.28206	0.39325	
	QS4	32.67	28.29	4.38	-0.43	1.34925	1.09820	1.65770	
	QS3	30.07	27.98	2.09	-2.73	6.61982	6.18888	7.08076	
	QS2	26.88	27.64	-0.76	-5.57	47.61474	45.02202	50.35677	
	QS1	24.07	27.10	-3.03	-7.85	230.60440	208.45384	255.10870	

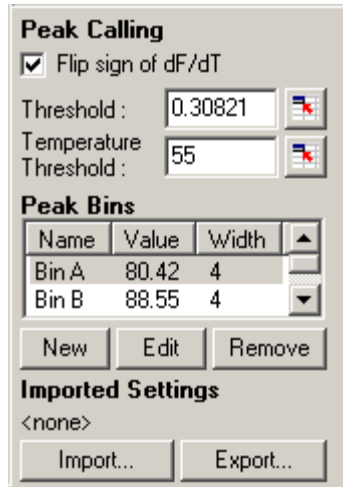
### 6.6.5 Analyse de courbe de fusion

L'analyse de courbe de fusion permet d'analyser la dérivée des données brutes après un lissage. Cette analyse est couramment utilisée pour le génotypage et la discrimination allélique. Les pics de la courbe sont regroupés en ensembles, et tous les pics en deçà du seuil sont éliminés. Les ensembles peuvent ensuite être cartographiés vers les génotypes à l'aide de la commande « Genotypes » (Génotypes).

Au terme du cycle d'exécution, pour certaines analyses chimiques, une étape de fusion peut être ajoutée pour visualiser la cinétique de dissociation des produits amplifiés. La température est augmentée à un taux linéaire et la fluorescence de chaque échantillon est enregistrée. Une analyse de courbe de fusion type est présentée ci-dessous.



\* Livak, K.J. et Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C(T)}$  method. *Methods* 25, 402.



Flip sign of dF/dT  
(Inverser le signe de dF/dT) :

Avant de définir les pics, veillez à ce que le signe de dF/dT soit correct afin que la série de données donne des pics positifs.

Définition des pics :

Dans une analyse de courbe de fusion, les pics peuvent être définis et rapportés à l'aide de différentes méthodes. L'une consiste à appeler automatiquement tous les pics pour chaque échantillon. L'autre consiste à affecter les pics à des ensembles, ce qui est intéressant pour le génotypage.

Les ensembles délimitent la zone dans laquelle les pics doivent se produire. Le logiciel d'analyse de courbe de fusion regroupe les pics dans des ensembles, d'après les valeurs réelles des pics sur la courbe. Les ensembles peuvent être modifiés si nécessaire.


Tout pic qui se trouve dans la plage définie de l'ensemble est affecté à cet ensemble. S'il y a 2 ensembles à proximité l'un de l'autre, le pic est affecté à l'ensemble le plus proche.

Remarque : les ensembles ne doivent pas être positionnés visuellement pour estimer les positions des pics. Définissez les ensembles à peu près dans la zone d'intérêt, puis utilisez les valeurs réelles indiquées dans le tableau des résultats pour un résultat plus précis.


Peak Bins (Ensembles de pics) :

Pour définir un ensemble, cliquez sur le bouton New Bin (Nouvel ensemble) puis cliquez sur le graphique et maintenez le bouton enfoncé pour définir le centre de l'ensemble. Pour ajouter un autre ensemble, répétez le processus. Utilisez le bouton Remove (Retirer) pour supprimer des ensembles.

Threshold (Seuil) :

Pour définir le seuil (axe y), cliquez sur l'icône  puis cliquez sur le graphique et faites glisser la ligne de seuil jusqu'au niveau souhaité.

Temperature Threshold  
(Seuil de température) :

Pour définir un seuil de température (axe x), cliquez sur l'icône  puis cliquez sur le graphique et faites glisser la ligne de seuil vers la droite. Cela permet d'éliminer la ligne de seuil pour les températures basses.

Remarque : c'est utile lorsqu'il y a du bruit dans le signal à des températures basses.

## Rapports

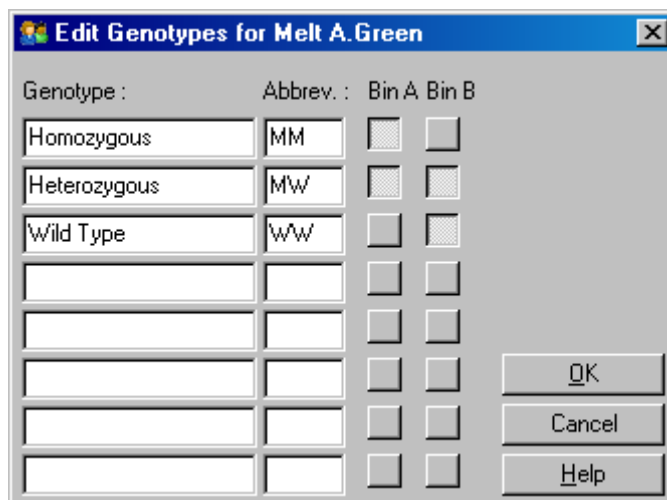
Permet d'ouvrir le Report Browser (Navigateur de rapports) dans lequel vous pouvez choisir un rapport à visualiser. Vous pouvez générer un rapport basé sur le canal sélectionné ou un rapport de génotypage multicanaux.

## Résultats

Permet d'afficher la fenêtre Melt Curve Results (Résultats de la courbe de fusion) qui indique les pics des échantillons.

## Génotypes

Cliquez sur Genotypes... (Génotypes...) puis sélectionnez les génotypes, comme indiqué ci-dessous.



Cette fenêtre permet d'affecter les génotypes selon l'incidence des pics dans les ensembles. La configuration des génotypes par défaut est illustrée sur cette capture d'écran : les échantillons hétérozygotes ont 2 pics, les échantillons homozygotes ont un pic dans le premier ensemble et les échantillons de type sauvage ont un pic dans le deuxième ensemble. Vous pouvez saisir une abréviation dans le champ en regard du nom de chaque génotype. Cette abréviation est utilisée lors de l'impression des rapports de génotypage multicanaux, de façon à pouvoir lire facilement tous les résultats des différents canaux.

Pour une analyse multiplex, les génotypes doivent être configurés dans chaque canal. Si, par exemple, vous effectuez une analyse FRET quenché sur deux canaux, dans laquelle vous attendez un génotype de type sauvage et hétérozygote sur chaque canal, vous devez configurer les paramètres d'ensemble pour chaque canal. Les résultats sont ensuite indiqués dans un rapport multiplex.

## Modèles d'analyse de fusion

Les modèles d'analyse de fusion permettent à l'utilisateur d'exporter les paramètres de normalisation, de seuil, de génotype et d'ensemble dans un même fichier \*.met. Ce fichier peut être importé et appliqué à d'autres expériences. Consultez la section 7.1 pour plus de détails.



### 6.6.6 Quantification comparative

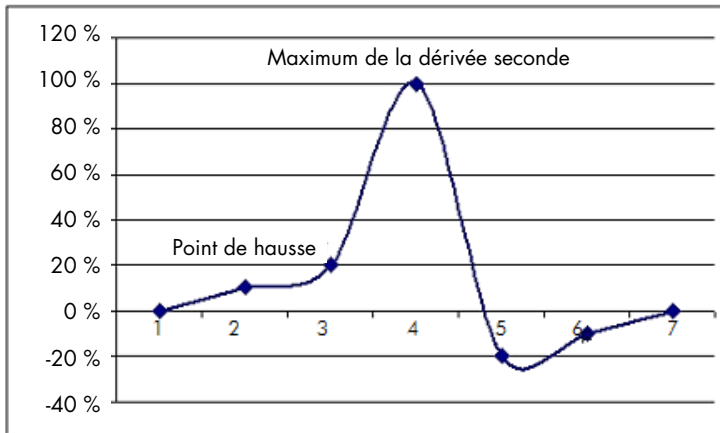
La quantification comparative permet de comparer l'expression relative d'échantillons à un échantillon de contrôle dans un cycle d'exécution en l'absence de courbe étalon disponible. C'est fréquemment utilisé pour l'analyse de puces à ADN. Warton et ses collègues (2004)\* ont donné un exemple de cette technique.

1. Pour réaliser l'analyse, sélectionnez **Other (Autre)** puis **Comparative quantitation (Quantification comparative)** dans la fenêtre **Analysis (Analyse)**. Double-cliquez sur le canal à analyser.
2. Choisissez un échantillon de contrôle à l'aide du menu déroulant situé à droite de l'écran sous les boutons.
3. Les résultats sont calculés automatiquement puis affichés dans la fenêtre **Comparative Quantitation Results (Résultats de la quantification comparative)** sous le graphique.

Les premières colonnes de la fenêtre **Comparative Quantitation Results (Résultats de la quantification comparative)** indiquent le numéro et le nom de l'échantillon. La colonne **Takeoff (Hausse)** indique le point de hausse de l'échantillon. La dérivée seconde du tracé d'amplification produit des pics correspondant au taux maximal d'augmentation de la fluorescence dans la réaction. Le point de hausse est défini comme le cycle auquel la dérivée seconde est à 20 % du niveau maximal, il indique la fin du bruit et la transition vers la phase exponentielle.

Le graphique suivant affiche une dérivée seconde d'un tracé d'amplification, en montrant les positions relatives du pic de la dérivée seconde et du point de hausse.

\* Warton, K., Foster, N.C., Gold, W.A. et Stanley, K.K. (2004) A novel gene family induced by acute inflammation in endothelial cells. *Gene* 342, 85.



La colonne « Amplification » indique l'efficacité de l'échantillon. Une réaction 100 % efficace donnerait une valeur d'amplification de 2 pour chaque échantillon, autrement dit l'amplicon double à chaque cycle. Dans les données brutes, le signal doit doubler en phase exponentielle. Par exemple, si le signal était à 50 unités de fluorescence au cycle 12 et 51 unités de fluorescence au cycle 13, il doit augmenter à 53 unités de fluorescence au cycle 14. La moyenne de toutes les valeurs d'amplification pour chaque échantillon est établie afin d'obtenir la valeur d'amplification indiquée à droite de l'écran sous les boutons. Plus la variation entre les valeurs d'amplification estimées de chaque échantillon est importante, plus l'intervalle de confiance sera important (indiqué par la valeur après le signe  $\pm$ ). L'intervalle de confiance, pour un numéro d'échantillon (N) important, donne une probabilité de 68,3 % que la véritable amplification des échantillons soit dans cette plage (1 écart-type). En doublant l'intervalle  $\pm$ , vous obtenez un intervalle de confiance de 95,4 % pour un N important.

### Réplicats de calibrateur

Comme dans la méthode delta delta  $C_T$ , un échantillon calibrateur est requis et les mesures sont effectuées par rapport à cet échantillon. Les réplicats du calibrateur peuvent être analysés car, si plusieurs positions d'échantillons portent le même nom, la moyenne des points de hausse de ces échantillons est utilisée. Pour utiliser correctement cette fonctionnalité, veillez à ce que les réplicats aient des noms identiques.



L'amplification moyenne permet de calculer l'expression. Par exemple, un échantillon présentant une valeur d'amplification faible mettra plus de temps à atteindre un certain nombre absolu de copies qu'un échantillon présentant une valeur d'amplification supérieure.

La colonne « Rep. Conc. » (Conc. rép.) dans la fenêtre Comparative Quantitation Results (Résultats de la quantification comparative) indique la concentration relative. La concentration relative de chaque échantillon comparée à l'échantillon calibrateur est calculée d'après le point de hausse et l'efficacité de la réaction. Elle est exprimée en notation scientifique.

Remarque : la valeur affichée dans Average Amplification (Amplification moyenne) à droite du signe  $\pm$  représente l'écart-type de l'amplification moyenne, après suppression des valeurs d'amplification aberrantes. Si cette valeur est importante, cela peut indiquer une erreur conséquente dans les valeurs de concentration globales calculées.

Le logiciel calcule les concentrations relatives comme suit :

1. Le point de hausse de chaque échantillon est calculé en observant les pics de la dérivée seconde.
2. L'augmentation de la moyenne dans les données brutes 4 cycles après la hausse est calculée. Il s'agit de la valeur d'amplification pour l'échantillon.
3. Les amplifications des valeurs aberrantes sont supprimées compte tenu du bruit dans la fluorescence de fond.
4. Une moyenne est faite des amplifications restantes. Il s'agit de l'amplification moyenne.
5. Le point de hausse moyen est calculé pour chaque réplicat de calibrateur.
6. La concentration relative pour un échantillon est calculée comme suit :  $\text{amplification}^{\text{(hausse du calibrateur - hausse de l'échantillon)}}$ .
7. Le résultat est affiché en notation scientifique dans la colonne « Rep. Conc. » (Conc. rép.) dans la fenêtre Comparative Quantitation Results (Résultats de la quantification comparative).

### 6.6.7 Discrimination allélique

La discrimination allélique utilise les données cinétiques en temps réel issues de 2 canaux au moins pour génotyper les échantillons. Pour réaliser cette analyse, sélectionnez Other (Autre) puis Allelic Discrimination (Discrimination allélique) dans la fenêtre Analysis (Analyse). Lorsque vous faites une discrimination allélique, il ne suffit pas de double-cliquer sur un canal à analyser, car cette analyse s'effectue sur plusieurs canaux à la fois. Pour réaliser cette analyse, maintenez la touche Ctrl enfoncée et cliquez sur chaque canal à analyser ou faites glisser le pointeur de la souris sur ces canaux. Une fois les canaux souhaités mis en surbrillance, cliquez sur Show (Afficher). La liste est actualisée pour afficher tous les canaux sur une ligne, chacun étant coché. Cela indique qu'ils seront tous utilisés dans une même analyse. Pour supprimer un ou plusieurs de ces canaux, faites un clic droit sur l'analyse puis sélectionnez Remove Analysis... (Supprimer l'analyse...). Ces canaux peuvent ensuite être intégrés à une autre analyse de discrimination allélique. Un canal ne peut être utilisé que dans une seule analyse à la fois.



Reports (Rapports) : Permet d'ouvrir le rapport « Allelic Discrimination Analysis » (Analyse de discrimination allélique) à visualiser.

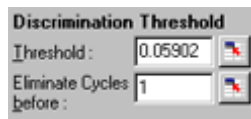
Results (Résultats) : Permet d'afficher la fenêtre Allelic Discrimination Results (Résultats de la discrimination allélique). Cette fenêtre est ouverte par défaut lors du premier affichage de l'analyse.

Options de normalisation : Diverses options sont disponibles pour optimiser la normalisation des données brutes :

- Dynamic Tube (Tube dynamique) (Normalisation du tube dynamique)
- Slope Correct (Correction de la pente) (Correction de la pente du bruit)
- Ignore First x cycles (Ignorer les x premiers cycles) (Correction du bruit dans les cycles initiaux)
- Ajustement du point de hausse

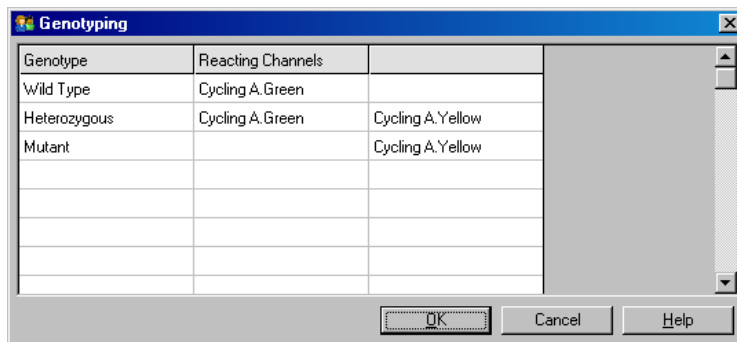
Pour plus de détails, consultez la page 95.

Discrimination Threshold (Seuil de discrimination) : Saisissez des valeurs dans ces zones de texte pour positionner le seuil de discrimination. Toutes les courbes dépassant ce seuil sont considérées comme des échantillons de génotypage. Cliquez sur l'icône à droite de chaque zone de texte puis faites glisser le seuil sur le graphique pour définir ces valeurs visuellement.



Genotypes (Génotypes) : Permet d'ouvrir la fenêtre Genotyping (Génotypage), qui permet de définir le génotype détecté sur chaque canal. Cette fenêtre permet d'affecter les génotypes aux canaux pour l'analyse de discrimination allélique.

Sur l'exemple suivant, un échantillon est hétérozygote si les valeurs des canaux Cycling A.Green et Cycling A.Yellow dépassent le seuil.



Modèles d'analyse allélique : Les modèles d'analyse allélique permettent d'exporter les paramètres de normalisation, de seuil et de génotype dans un même fichier \*.alt. Ce fichier peut être importé et appliqué à d'autres expériences. Consultez la section 7.1 pour plus de détails.



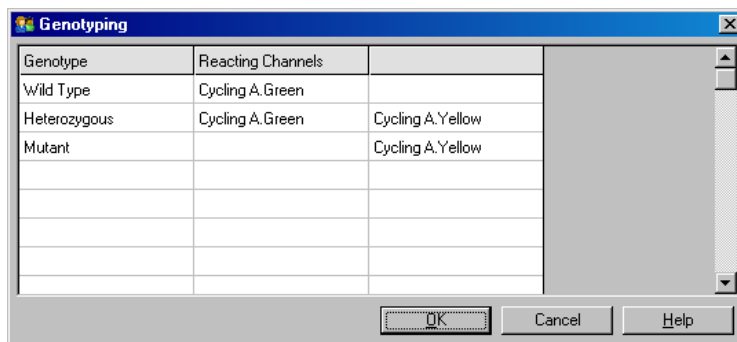
### 6.6.8 Analyse du graphique de dispersion

L'analyse du graphique de dispersion permet le géotypage d'après l'expression relative des tracés d'amplification sur 2 canaux. Contrairement à la discrimination allélique, le géotype est déterminé d'après des régions définies à partir du graphique de dispersion et pas à partir d'un simple seuil. Pour réaliser cette analyse, sélectionnez **Other (Autre)** puis **Scatter Graph Analysis (Analyse du graphique de dispersion)** dans la fenêtre **Analysis (Analyse)**.

Lorsque vous faites une analyse du graphique de dispersion, il ne suffit pas de double-cliquer sur un canal à analyser, car cette analyse s'effectue sur 2 canaux à la fois. Pour réaliser cette analyse, maintenez la touche **Maj** enfoncée et cliquez sur les canaux à analyser ou faites glisser le pointeur de la souris sur les canaux. Une fois les canaux souhaités mis en surbrillance, cliquez sur **Show (Afficher)**.

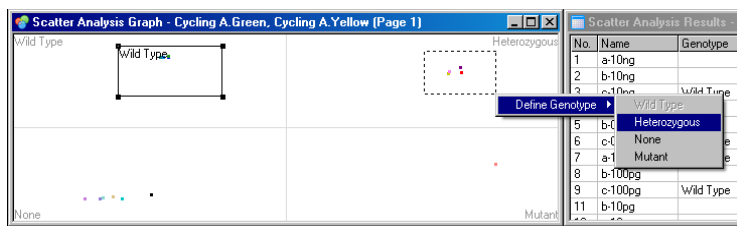
La liste est actualisée pour afficher tous les canaux sur une ligne, chacun étant coché. Cela indique qu'ils seront tous utilisés dans une même analyse. Pour supprimer un ou plusieurs de ces canaux, faites un clic droit sur l'analyse puis sélectionnez **Remove Analysis...** (Supprimer l'analyse...). Ces canaux peuvent ensuite être intégrés à une autre analyse du graphique de dispersion. Un canal ne peut être utilisé que dans une seule analyse à la fois.

Reports (Rapports) :	Permet d'ouvrir le rapport <b>Scatter Analysis (Analyse de dispersion)</b> à visualiser.
Results (Résultats) :	Permet d'afficher la fenêtre <b>Scatter Analysis Results (Résultats de l'analyse de dispersion)</b> . Cette fenêtre est ouverte par défaut lors du premier affichage de l'analyse.
Options de normalisation :	Diverses options sont disponibles pour optimiser la normalisation des données brutes : <ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Dynamic Tube (Tube dynamique) (Normalisation du tube dynamique)</b></li><li>• <b>Slope Correct (Correction de la pente) (Correction de la pente du bruit)</b></li><li>• <b>Ignore First x cycles (Ignorer les x premiers cycles) (Correction du bruit dans les cycles initiaux)</b></li><li>• <b>Ajustement du point de hausse</b></li></ul> Pour plus de détails, consultez la page 95.
Genotypes (Géotypes) :	Permet d'ouvrir la fenêtre <b>Genotyping (Géotypage)</b> qui permet de définir le géotype détecté sur chaque canal. Dans cette fenêtre, l'affectation des géotypes est possible selon les canaux sur lesquels réagit un échantillon. Les canaux sélectionnés seront utilisés pour marquer les angles du graphique de dispersion et guideront l'utilisateur vers la zone générale du graphique dans laquelle les régions doivent être définies.

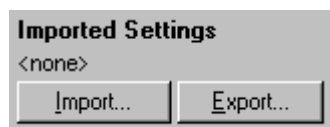


Graphique de dispersion : Le graphique de dispersion affiche l'expression relative des 2 canaux sélectionnés. L'affichage est normalisé pour représenter les diverses augmentations sur chaque canal et transformé de façon logarithmique pour accentuer les différences d'expression entre les échantillons.

Pour effectuer un génotypage, l'utilisateur définit des régions en cliquant sur le graphique puis en faisant glisser sa sélection. La sélection peut ensuite être marquée d'après les génotypes configurés dans la fenêtre Genotyping (Génotypage).



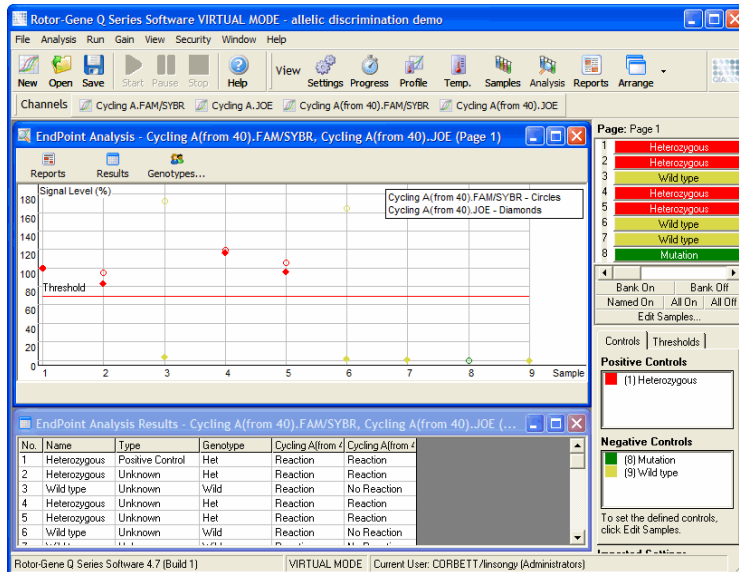
Modèles d'analyse du graphique de dispersion : Les modèles d'analyse du graphique de dispersion permettent d'exporter les paramètres de génotype et de région dans un même fichier \*.sct. Ce fichier peut être importé et appliqué à d'autres expériences. Consultez la section 7.1 pour plus de détails.



### 6.6.9 Analyse en point final

L'analyse en point final permet de distinguer les échantillons amplifiés des échantillons non amplifiés à la fin d'un cycle d'exécution. Les résultats sont qualitatifs (positifs/négatifs), pas quantitatifs.

L'analyse en point final est illustrée sur la capture d'écran ci-dessous.



L'analyse en point final est similaire à la discrimination allélique en ceci que les résultats sont qualitatifs et que des noms peuvent être attribués à certaines permutations de réactions sur différents canaux. Mais dans l'analyse en point final un seul résultat est disponible, tandis que la discrimination allélique utilise un résultat cycle par cycle pour chaque échantillon. Cela implique que l'utilisateur doit identifier les contrôles positifs et négatifs pour faciliter l'analyse. Pour les données brutes, les niveaux de signal sont normalisés par rapport aux contrôles positifs et négatifs connus pour chaque canal. L'utilisateur sélectionne ensuite un pourcentage de niveau de signal comme seuil.

### Termes utilisés dans l'analyse en point final

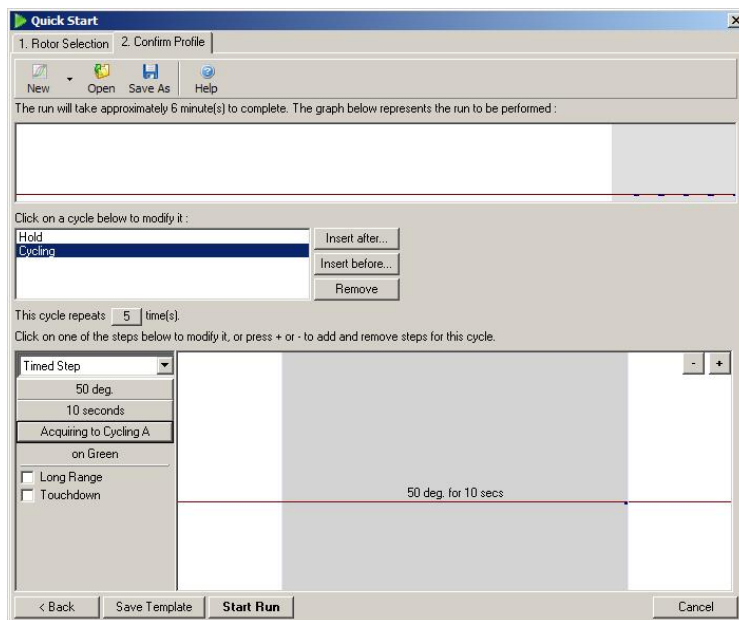
Certains termes utilisés dans l'analyse en point final sont expliqués ci-dessous.

- Positive control (Contrôle positif) : Il s'agit d'un échantillon connu pour amplifier.
- Negative control (Contrôle négatif) (Contrôle négatif) : Il s'agit d'un échantillon connu pour ne pas amplifier. Il représente le signal de bruit de fond type.
- Threshold (Seuil) : Le seuil est un niveau de signal au-delà duquel un échantillon est dit positif (amplifié). L'utilisateur doit adapter ce paramètre à chaque cycle d'exécution.
- Signal level (Niveau de signal) : Pourcentage du signal de fluorescence, normalisé de sorte que le signal maximal des contrôles positifs soit de 100 % et que le signal minimal des contrôles négatifs soit de 0 %.

Genotype (Génotype) :

Interprétation de différentes permutations de réactions sur différents canaux. Par exemple, le génotype « heterozygous » (hétérozygote) peut être attribué à des échantillons qui ont réagi sur les canaux vert et jaune. Le génotype peut aussi être utilisé pour rapporter les résultats de réactions avec des contrôles internes. Par exemple, les résultats peuvent être indiqués « inhibited » (inhibé), « positive » (positif) ou « negative » (négatif), selon qu'une réaction a été observée ou non sur certains canaux.

## Configuration des profils



Pour effectuer une analyse en point final, utilisez un profil avec un maintien à 50 °C pendant plusieurs minutes puis un palier du cycle à 1 palier (50 °C pendant 10 s), en acquérant sur le canal qui convient. Définissez le nombre de répétitions sur 5, comme indiqué ci-dessus. Ce nombre de répétitions est purement indicatif, il peut varier selon votre application. Plus il y a de répétitions dans le profil, plus il y a d'informations disponibles pour l'analyse. L'analyse fait automatiquement la moyenne de tous les résultats pour obtenir une seule valeur pour chaque échantillon. Il n'existe pas de nombre de répétitions requis. À moins qu'un niveau de précision particulièrement élevé soit exigé, 5 répétitions sont en général suffisantes.

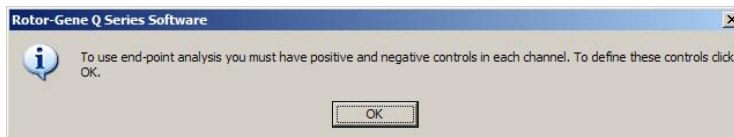
## Analyse

L'analyse en point final peut être effectuée simultanément sur un certain nombre de canaux. Pour créer une nouvelle analyse, cliquez sur l'onglet EndPoint (Point final), sélectionnez les canaux en faisant glisser dessus le pointeur de la souris puis cliquez sur Show (Afficher).



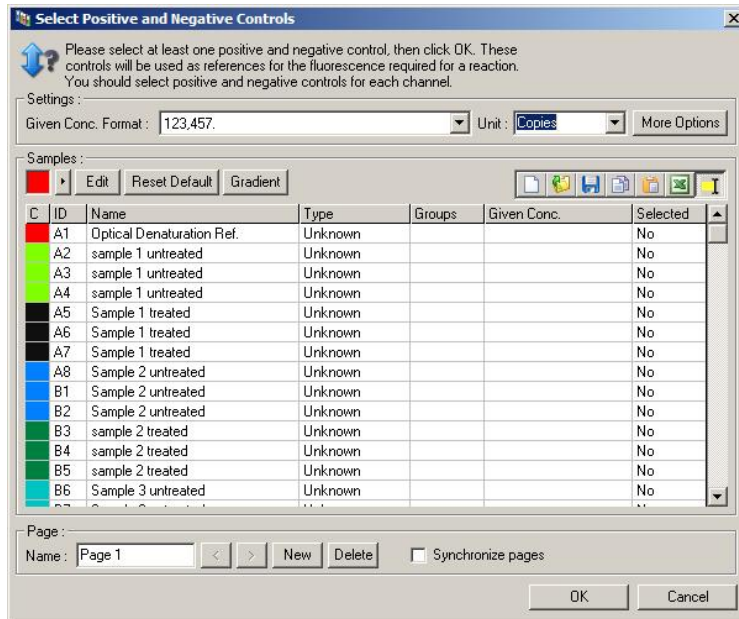
### Définir des contrôles

La première fois que vous ouvrez une analyse en point final, le message suivant apparaît si aucun contrôle positif et négatif n'a été défini.



Cliquez sur OK. La fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons) apparaît, elle vous permet de définir des contrôles positifs et négatifs. Pour définir un échantillon comme contrôle positif ou négatif, cliquez sur la cellule du type d'échantillon puis sélectionnez le type de contrôle souhaité dans le menu déroulant.

Remarque : pour permettre l'analyse, vous devez activer les contrôles à l'aide des boutons de droite dans la fenêtre principale.



Cet écran fonctionne comme la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons) (consultez la section « Configuration des échantillons »).

## Normalisation

La normalisation des données de l'analyse en point final permet d'intégrer tous les niveaux de signal à la plage de 0 à 100 %. Vous devez sélectionner au moins un contrôle positif et un contrôle négatif, ou davantage si vous analysez plusieurs canaux et que les étalons ne pas multiplexés. S'il y a un risque qu'un contrôle positif n'amplifie pas, vous devez analyser plusieurs contrôles positifs et contrôles négatifs.

1. Pour chaque canal, tous les contrôles positifs sont analysés et celui qui présente la fluorescence la plus élevée est défini à 100 %. Cela veut dire que si des contrôles en double sont analysés, un contrôle positif peut échouer sans affecter le cycle d'exécution.
2. Tous les contrôles négatifs sont analysés et celui qui présente la fluorescence la plus faible est défini à 0 %.
3. Les valeurs de fluorescence brute des autres échantillons sont adaptées par rapport au contrôle positif le plus élevé et au contrôle négatif le plus faible.

Par exemple :

Échantillon	Type	Fluorescence
1	Contrôle positif	53,6
2	Contrôle positif	53,0
3	Contrôle négatif	4,5
4	Contrôle négatif	4,3
5	Échantillon	48,1
6	Échantillon	6,4

Ce cycle d'exécution a été réussi, car les 2 contrôles positifs et les 2 négatifs sont proches et sont hors des valeurs de fluorescence des échantillons.

Les valeurs normalisées sont :

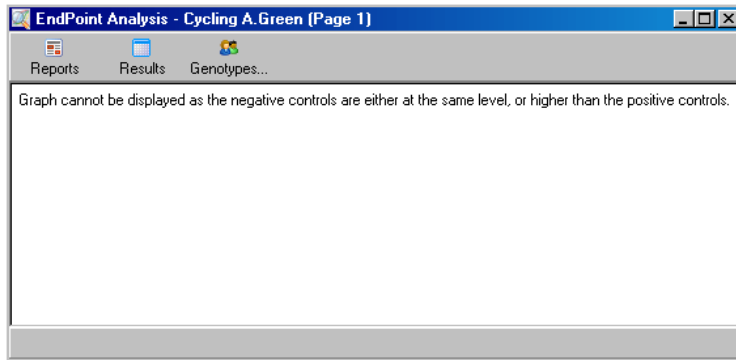
Échantillon	Type	Expression (%)
1	Contrôle positif	100,0
2	Contrôle positif	97,3
3	Contrôle négatif	0,4
4	Contrôle négatif	0,0
5	Échantillon	84,2
6	Échantillon	4,0

L'échantillon 1 a été le contrôle positif avec la fluorescence la plus élevée, il a donc été défini sur 100 %. L'autre contrôle positif était légèrement inférieur. L'échantillon 4, le contrôle négatif le plus faible, a été défini sur 0 %. Il est évident que l'échantillon 5 a probablement amplifié, tandis que l'échantillon 6 n'a probablement pas amplifié.

Remarque : selon les contrôles positifs et négatifs sélectionnés, il est possible d'atteindre des niveaux d'expression supérieurs à 100 % ou inférieurs à 0 %. Un résultat supérieur à 100 % peut signifier que l'expression de l'échantillon est plus importante que celle des contrôles positifs. Un résultat inférieur à 0 % peut signifier que l'amplification de l'échantillon est vraisemblablement moindre par rapport à celle des contrôles négatifs. Dans la mesure où l'analyse est qualitative, de tels résultats n'ont aucune pertinence.

Si les contrôles négatifs affichent une fluorescence supérieure à celle des contrôles positifs, les échantillons ont été mal configurés et le message suivant apparaît.





### Normalisation sur plusieurs canaux

Il est possible d'analyser les données de signal sur plusieurs canaux, mais la configuration des échantillons est plus complexe. L'analyse en point final suppose que le multiplexage est effectué, donc chaque tube ne peut avoir qu'une seule position. Actuellement, il est impossible d'analyser une configuration dans laquelle une position d'échantillon est un contrôle positif pour un canal et un contrôle négatif pour un autre.

Même si une seule définition d'échantillon par position de tube est indiquée dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons), la normalisation se fait indépendamment pour chaque canal.

Si une position de tube est un contrôle positif pour au moins un canal, la colonne « Type » dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons) doit indiquer un contrôle positif. Sinon elle doit indiquer Sample (Échantillon). Cela s'applique également aux contrôles négatifs.

Par exemple, si un échantillon est un contrôle positif sur le canal vert, mais pas sur le jaune, l'échantillon doit tout de même être défini comme un contrôle positif. Puisque le contrôle positif le plus élevé sur chaque canal est utilisé, s'il y a au moins un contrôle positif sur le canal jaune qui amplifie, la définition de l'échantillon comme contrôle pour le canal vert est ignorée.

### Seuil

Le seuil permet de déterminer le pourcentage d'expression requis pour une réaction sur chaque canal. Une fois les contrôles positifs et négatifs définis, tous les canaux sont normalisés à la même échelle de 0 à 100 %. C'est pourquoi vous n'avez besoin que d'un seuil, même si vous analysez plusieurs canaux.

Cliquez sur la ligne de seuil et faites-la glisser entre 0 et 100. Le seuil ne doit pas être trop proche des échantillons de part et d'autre de la ligne, car cela indiquerait que le cycle d'exécution n'a pas été concluant. Si la différence entre un échantillon défini comme amplifié ou non amplifié est de l'ordre de quelques pour cent seulement, cela veut dire que si la réaction était répétée, l'échantillon pourrait apparaître à l'autre bout du seuil.

## Génotypes

Cette option permet d'ouvrir la fenêtre Genotyping (Génotypage) qui permet de définir le génotype détecté sur chaque canal.



Cette fenêtre permet d'affecter les génotypes aux canaux. Sur l'exemple ci-dessus, un échantillon est hétérozygote si les valeurs des canaux Cycling A.Green et Cycling A.Yellow dépassent le seuil.

## Modèles d'analyse en point final

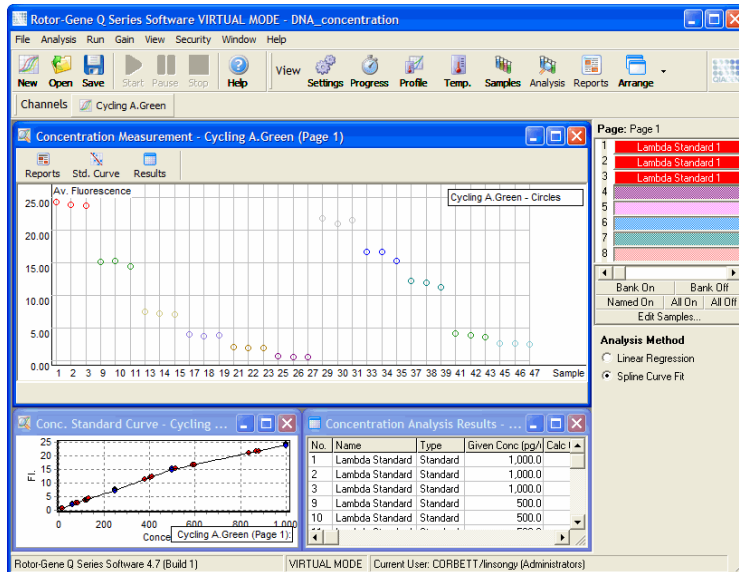
Les modèles d'analyse en point final permettent à l'utilisateur d'exporter les paramètres de génotype et de seuil dans un même fichier \*.ent. Ce fichier peut être importé et appliqué à d'autres expériences. Consultez la section 8.1 pour plus de détails.



### 6.6.10 Analyse de concentration

L'analyse de concentration permet d'utiliser le Rotor-Gene Q MDx pour mesurer les concentrations d'ADN ou obtenir des valeurs de fluorimétrie.

La capture d'écran suivante montre cette analyse.



## Préparation d'un cycle d'exécution

Pour effectuer une analyse de concentration, commencez par préparer les étalons et les échantillons fluorescents, idéalement en triple exemplaire.

## Préparation des étalons

Une courbe étalon permet de déterminer la concentration d'ADN dans chaque échantillon mesuré.

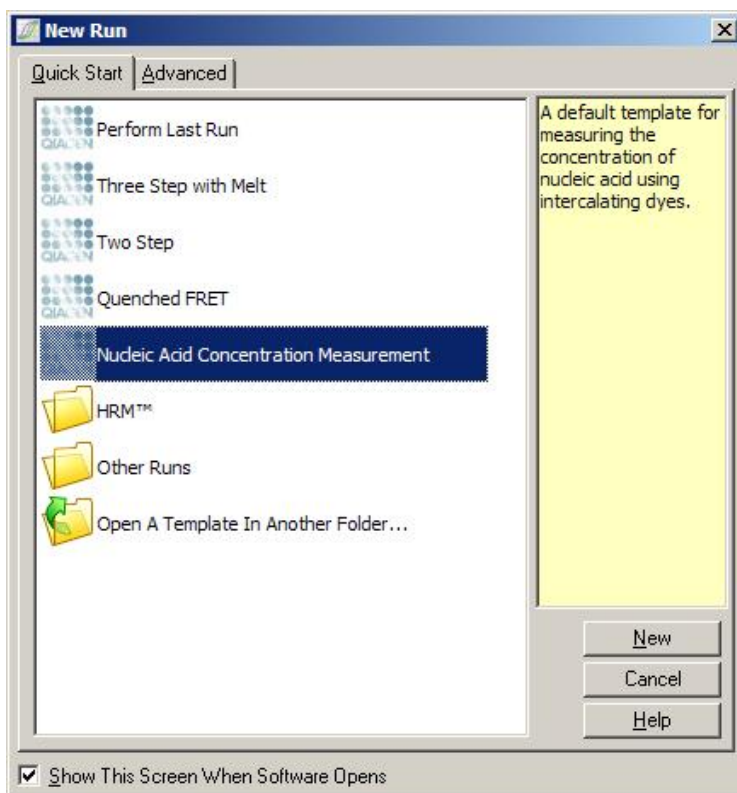
L'ADN utilisé pour la courbe étalon doit être un type d'ADN similaire à celui des échantillons mesurés. La concentration d'au moins un échantillon d'ADN doit être déterminée par spectrophotométrie UV, et cet échantillon doit être utilisé comme étalon. Vous devez utiliser au moins 3 étalons (avec réplicats). Il est important de souligner que les étalons d'ADN utilisés dans la détection de la fluorescence sont uniquement linéaires dans la plage de 1 à 100 ng/μl. Dans cette plage, si la concentration d'ADN est divisée par deux, le résultat de la fluorescence l'est aussi. Les intervalles de confiance pour toute concentration extérieure à cette plage sont très larges compte tenu de la non-linéarité de l'analyse chimique.

## Type d'ADN mesuré

Des différences ont été observées dans la mesure de diverses formes d'ADN (p. ex. l'ADN génomique comparé à l'ADN plasmidique). Il convient donc de mesurer ensemble des types d'ADN similaires uniquement, évitez d'utiliser l'ADN plasmidique comme étalon lorsque vous mesurez de l'ADN génomique.

## Configuration du cycle d'exécution

Pour configurer le cycle d'exécution, sélectionnez Nucleic Acid Concentration Measurement (Mesure de la concentration d'acides nucléiques) dans l'assistant de démarrage rapide.



Remarque : veillez à analyser un contrôle positif, comme un étalon de concentration élevée, dans la position de tube 1. Sans contrôle positif, le logiciel est incapable d'optimiser les paramètres de gain pour une sensibilité maximale. Vous êtes donc invité à en choisir un avant chaque cycle d'exécution.

## Analyse

L'analyse de concentration consiste à corréliser le niveau de fluorescence avec une valeur de concentration. Deux modèles d'analyse sont proposés. L'analyse optimale à choisir dépend de l'analyse chimique et de l'application.

La « régression linéaire » analyse les données en supposant qu'il existe un rapport linéaire et en estimant les valeurs inconnues sur la base d'un modèle linéaire généré. Elle détermine l'erreur de la mesure en examinant l'écart des résultats par rapport à un modèle linéaire.

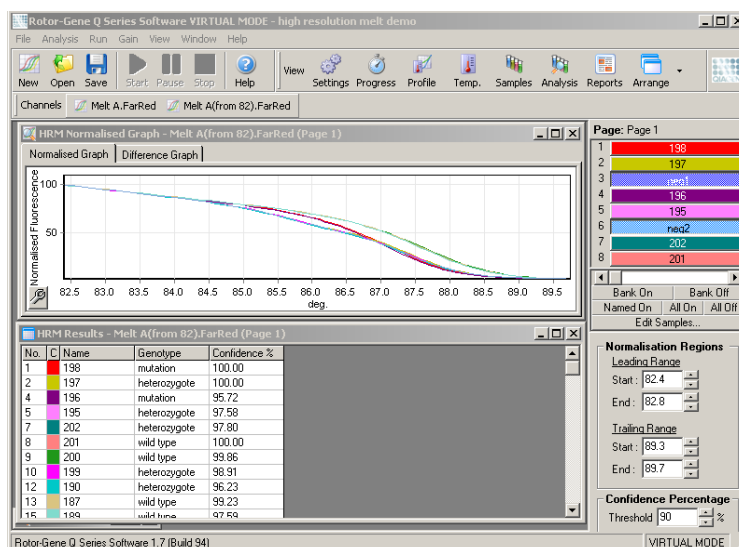
Si les résultats de concentration sont linéaires, il s'agit de l'analyse la plus adaptée, car elle offre à l'utilisateur une analyse statistique de la variation (ANOVA).

« Spline Curve Fit » (Courbe soustraite spline) part simplement du principe que les valeurs de concentration augmentent avec la fluorescence. Bien que cette approche permette des estimations plus précises des données non linéaires, elle ne permet pas l'ANOVA, car elle ne se base sur aucun modèle linéaire.

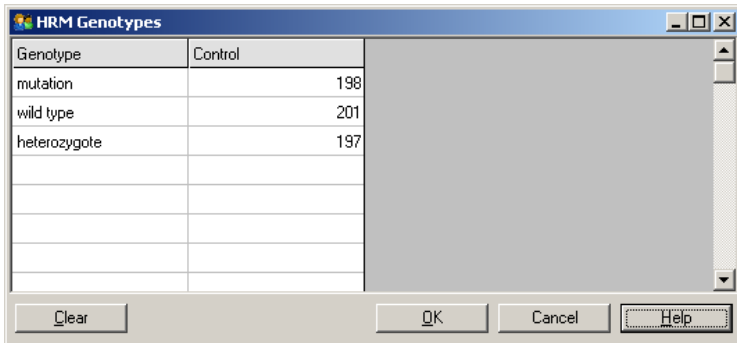
### 6.6.11 Analyse de fusion haute résolution

L'analyse de fusion haute résolution (High Resolution Melt, HRM) permet de caractériser des échantillons d'après la longueur de la séquence, le taux de GC et la complémentarité. L'analyse HRM est utilisée dans des applications de génotypage, telles que l'analyse des mutations génétiques ou des polymorphismes mononucléotidiques (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP), et dans des applications d'épigénétique pour l'analyse de la méthylation de l'ADN. L'analyse HRM fournit des résultats de précision et permet d'économiser des frais de sondes et de marqueurs par rapport à d'autres méthodes.

Pour réaliser cette analyse, sélectionnez Other (Autre) puis High Resolution Melt Analysis (Analyse de fusion haute résolution) dans la fenêtre Analysis (Analyse). Double-cliquez sur le canal à analyser. Les courbes de fusion du canal brut sont normalisées en faisant la moyenne de toutes les valeurs de fluorescence de début et de fin puis en faisant en sorte que les points de fin de chaque échantillon soient identiques à la moyenne.



Pour appeler automatiquement les échantillons, cliquez sur Genotypes (Génotypes). Saisissez le nom du génotype puis le numéro de l'échantillon, qui est utilisé comme contrôle positif pour appeler automatiquement les échantillons inconnus.



Pour plus de détails sur l'analyse HRM, consultez la section 10.

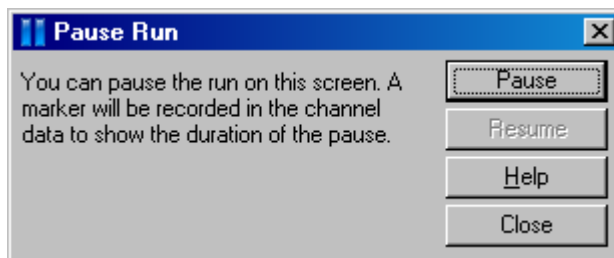
## 6.7 Cycle d'exécution

### 6.7.1 Démarrer le cycle

Cette option permet de démarrer le profil de température défini avec les paramètres de gain actuels. Avant de démarrer le cycle, la fenêtre Profile Run Confirmation (Confirmation du profil du cycle) apparaît. Une représentation graphique du profil de température s'affiche de même que les paramètres de gain pour chaque canal.

### 6.7.2 Interrompre le cycle

Cette option permet d'interrompre un cycle puis de le reprendre. Le fait d'interrompre puis de reprendre un cycle d'exécution peut avoir une réelle incidence sur les résultats. Un repère dans les données indique donc que le cycle a été interrompu et précise combien de temps a duré la pause. Un message apparaît également sous l'onglet des messages dans la fenêtre Run Settings (Paramètres du cycle d'exécution) (consultez la section 6.8.1).



**AVERTISSE-  
MENT**



**Surface brûlante**

Lorsqu'un cycle est interrompu, le Rotor-Gene Q MDx ne revient pas complètement à température ambiante. La prudence est de mise avant de manipuler le rotor ou un tube contenu dans l'instrument.

### 6.7.3 Arrêter le cycle

Si vous sélectionnez cette option, une invite apparaît pour vous demander de confirmer que le cycle d'exécution doit bien être arrêté.

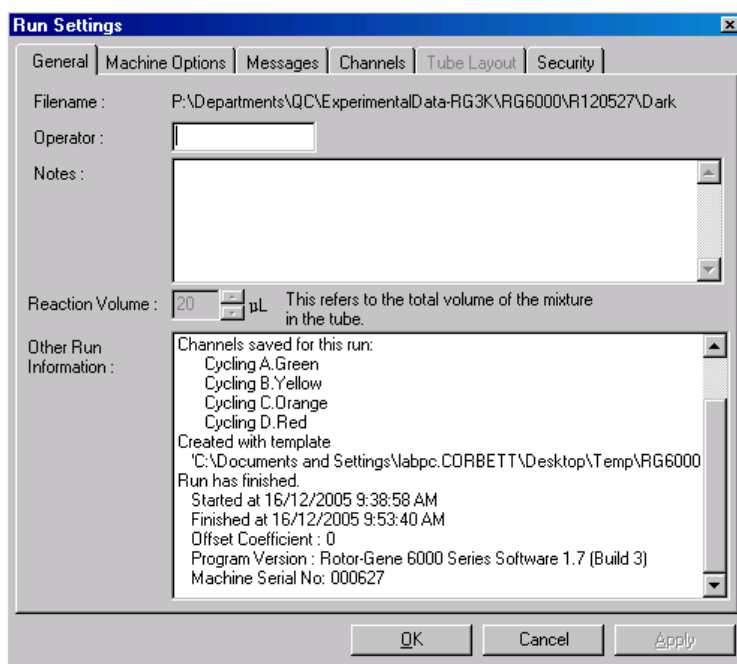
## 6.8 Menu Afficher

### 6.8.1 Paramètres du cycle d'exécution

#### Général

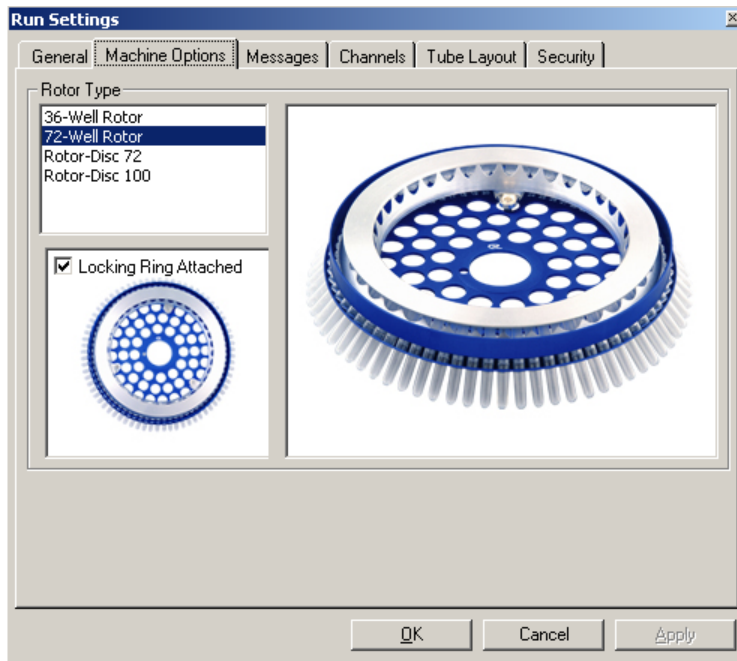
Cette fenêtre permet de configurer les informations sur le cycle d'exécution, le nom de fichier du cycle d'exécution, la date d'analyse, l'opérateur ainsi que d'éventuelles remarques connexes.

La fenêtre contient toutes les informations, sauf le profil, requises pour configurer un cycle d'exécution. Au terme d'un cycle d'exécution, les informations suivantes apparaissent dans cette fenêtre : thermocycleur utilisé, paramètres de gain, nombre de canaux, heure de début et de fin.



## Options de la machine

Cet onglet affiche les paramètres de configuration du Rotor-Gene Q MDx.



Le rotor doit être défini sur celui qui est installé dans le Rotor-Gene Q MDx. Si vous ouvrez un cycle d'exécution existant, ce paramètre correspond au rotor qui était installé dans le thermocycleur au moment de la configuration de ce cycle.

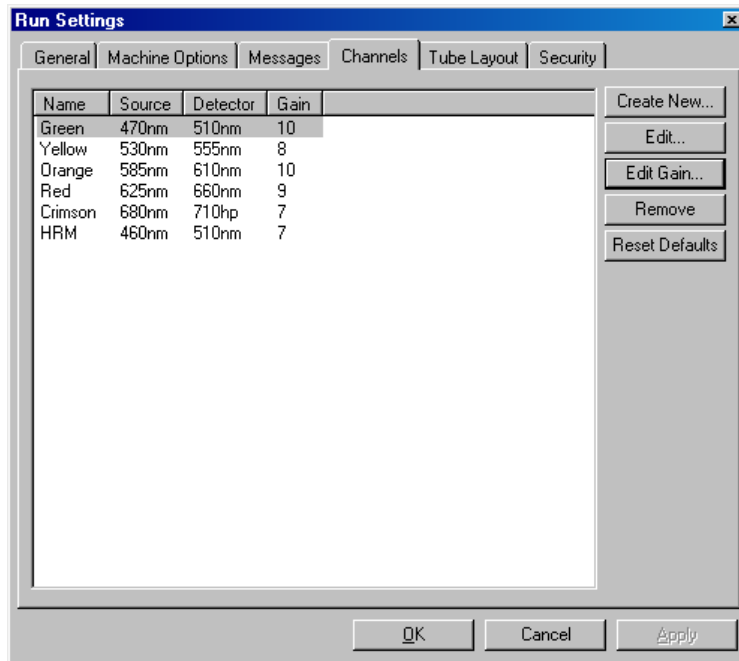
## Messages

Cet onglet affiche des messages indiquant si l'utilisateur a apporté des modifications, comme interrompre le thermocycleur ou omettre des cycles au cours du cycle d'exécution. Il affiche aussi les avertissements reçus au cours du cycle d'exécution. Cet onglet doit être consulté si les résultats sont inhabituels.

## Canaux

Si vous configurez un nouveau cycle d'exécution, l'onglet des canaux affiche la configuration actuelle des canaux disponibles. Si vous visualisez un cycle d'exécution existant, les informations affichées représentent la configuration des canaux au moment où le cycle a été exécuté. Si un cycle d'exécution corrompt les paramètres des canaux, vous pouvez rétablir les canaux par défaut en cliquant sur Reset Defaults (Rétablir les valeurs par défaut).





- Name (Nom) : Il s'agit du nom du canal.
- Source : Indique la longueur d'onde d'excitation de la DEL source.
- Detector (Décteur) : Indique la longueur d'onde de détection et le type de filtre (nm = bande passante, hp = passe-haut).
- Gain : Indique le gain pour ce canal en particulier.
- Create New... (Créer nouveau...) : Cette fonctionnalité permet de créer de nouveaux canaux. Cliquez sur Create New... (Créer nouveau...) pour ouvrir une fenêtre qui vous demande un nouveau nom, la source et le filtre de détection. Vous pouvez choisir les filtres dans le menu déroulant en regard de chaque fenêtre.
- Channels (Canaux) : Les canaux vert, jaune, orange et rouge sont les configurations standard pour la détection multiplex à 4 canaux.

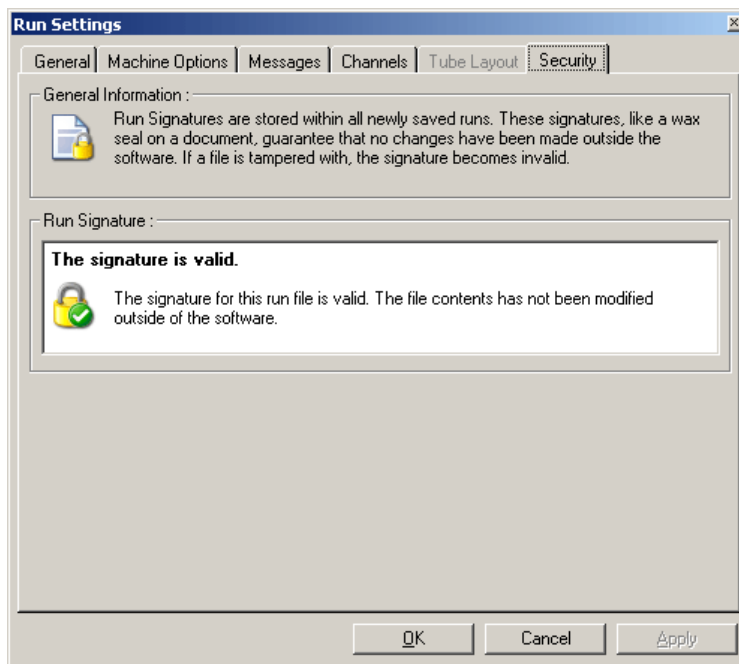
## Disposition des tubes

Si vous utilisez un 72-Well Rotor, vous pouvez disposer les échantillons de façon à correspondre au plus près à l'étiquetage sur un bloc de 9 x 8. Par défaut, l'onglet de disposition des tubes permet de marquer des échantillons de façon séquentielle (c.-à-d. 1, 2, 3...). Cela signifie que les échantillons sont marqués l'un à la suite de l'autre dans l'ordre dans lequel ils sont placés dans le Rotor-Gene Q MDx. Vous pouvez aussi marquer les échantillons 1A, 1B, 1C, etc. Cette option peut être utile si les échantillons ont été préparés avec une pipette multicanaux.

## Sécurité

L'onglet de sécurité affiche des informations sur la signature du cycle d'exécution. Cette signature est une clé irréversible qui est de nouveau générée chaque fois que le fichier est modifié. Si vous modifiez une section quelconque du fichier \*.rex en dehors du logiciel, la signature et le fichier ne correspondent plus. En vérifiant la signature, vous confirmez que les données brutes n'ont pas été modifiées en dehors de l'application, que le profil n'a pas été altéré de quelque manière que ce soit et que le graphique de température est valide. La signature vous protège en outre de toute corruption de type erreur du système de fichiers.

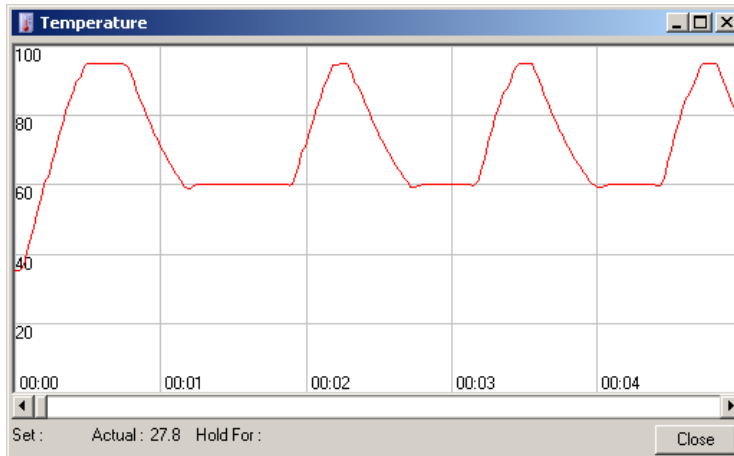
Remarque : si vous envoyez des fichiers \*.rex par e-mail, le processus de chiffrement peut invalider la signature. Pour éviter cela, zippez le fichier avant de l'envoyer.



### 6.8.2 Graphique de température

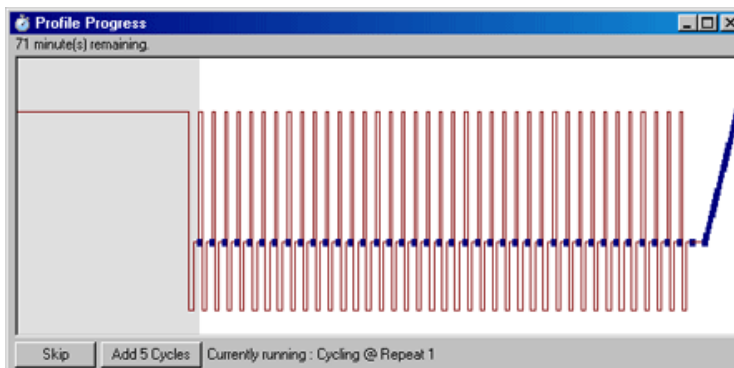
Sélectionnez Temperature Graph (Graphique de température) dans le menu View (Afficher) ou cliquez sur le bouton Temp. pour ouvrir la fenêtre Temperature (Température). Le graphique affiche l'évolution des températures définies au cours du cycle d'exécution. Il ne s'agit pas d'une mesure de la température en temps réel. Au fur et à mesure du cycle d'exécution, la durée Set (Définie), Actual (Réelle) et Hold (Maintien) apparaît pour chaque palier du programme. Pour un fichier de cycle d'exécution existant, la fenêtre Temperature (Température) affiche l'historique de température au cours du cycle.

L'axe vertical représente la température et l'axe horizontal représente la durée. Utilisez la barre de défilement pour faire défiler latéralement la fenêtre Temperature (Température).



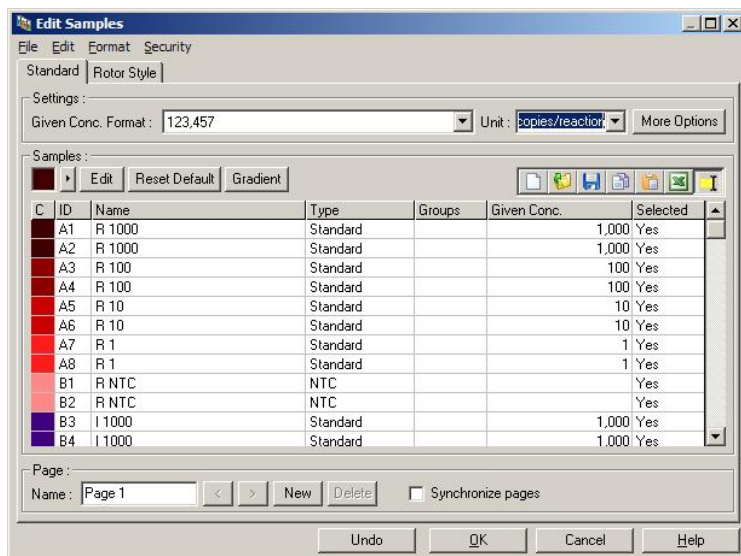
### 6.8.3 Progression du profil

Sélectionnez Profile Progress (Progression du profil) dans le menu View (Afficher) ou cliquez sur le bouton Progress (Progression) pour ouvrir la fenêtre Profile Progress (Progression du profil). Cette fenêtre affiche une représentation graphique du profil thermique associé au cycle d'exécution. Lorsque vous lancez un cycle d'exécution, la partie ombrée de la fenêtre indique le nombre de cycles qui ont été réalisés. Il y a également une estimation du nombre de minutes restantes avant la fin du cycle d'exécution.



- Skip (Ignorer) : Skip (Ignorer) permet d'ignorer n'importe quel palier du profil.
- Add 5 Cycles (Ajouter 5 cycles) : Add 5 Cycles (Ajouter 5 cycles) permet d'ajouter 5 répétitions au palier du cycle actuel.

## 6.8.4 Modifier les échantillons



Cliquez sur le bouton **Samples** (Échantillons) pour faire apparaître la fenêtre **Edit Samples** (Modifier les échantillons). La fenêtre **Edit Samples** (Modifier les échantillons) est également accessible en faisant un clic droit sur la liste d'échantillons sur la droite de l'écran. Cette fenêtre fonctionne comme la fenêtre **Edit Samples** (Modifier les échantillons) des assistants, si ce n'est que les fonctions de la barre d'outils sont aussi disponibles dans les menus **File** (Fichier) et **Edit** (Modifier).

Quatre menus apparaissent en haut de la fenêtre, **File** (Fichier), **Edit** (Modifier), **Format** et **Security** (Sécurité). Le menu **File** (Fichier) permet de créer une nouvelle fenêtre **Edit Samples** (Modifier les échantillons) (vide), d'ouvrir un modèle d'échantillon existant ou d'enregistrer les noms des échantillons comme modèle pour une utilisation ultérieure. L'extension de ces fichiers de modèles est \*.smp. Le menu **Edit** (Modifier) permet de copier et coller des lignes. Le menu **Security** (Sécurité) permet de verrouiller les définitions d'échantillons.

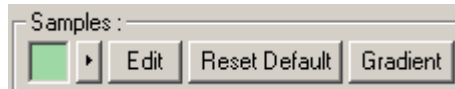
Remarque : si les noms des échantillons sont saisis très rapidement en cours de cycle (p. ex. avec un lecteur de code-barres), cela peut entraîner le transfert de lettres dans les noms des échantillons. Mieux vaut donc éviter l'utilisation d'un lecteur de code-barres et, le cas échéant, saisir les noms des échantillons une fois le cycle terminé.



Ce menu déroulant permet de choisir un format adapté pour l'affichage de la concentration. Les concentrations sont formatées automatiquement selon l'emplacement sélectionné.



Ce menu déroulant permet de définir les unités de mesure pour le dosage.

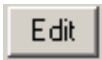


Bouton

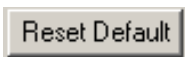
Importance

Style de ligne :

Le style de ligne peut être modifié afin d'améliorer la lisibilité des graphiques sur les imprimantes en noir et blanc. Vous pouvez faire ressortir certaines lignes en modifiant leur style. Pour accéder à cette fonctionnalité, cliquez sur le bouton de flèche vers la droite en regard du bouton Edit (Modifier).



Appuyez sur « Edit » (Modifier) pour ouvrir le sélecteur de couleurs. Vous pouvez sélectionner plusieurs lignes lorsque vous attribuez une couleur à des tubes.



Cliquez sur « Reset Default » (Rétablir les valeurs par défaut) pour rétablir les couleurs par défaut de toutes les cellules colorées sélectionnées.



« Gradient » permet de choisir un gradient de la première à la dernière couleur sélectionnée. Plusieurs gradients peuvent être définis dans une configuration d'échantillon.



L'icône New (Nouveau) permet de faire disparaître la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons) en préparation de la saisie de données.



L'icône Open (Ouvrir) fait apparaître une boîte de dialogue dans laquelle vous pouvez sélectionner un fichier Rotor-Gene Q MDx à importer.

Remarque : les nombres d'échantillons dans la fenêtre ouverte et dans le fichier importé doivent correspondre.



L'icône Save (Enregistrer) fait apparaître une boîte de dialogue, vous pouvez y saisir le nom et le dossier dans lequel une copie des définitions d'échantillons en cours doit être enregistrée.



L'icône Copy (Copier) permet de copier les cellules sélectionnées.



L'icône Paste (Coller) permet de coller les cellules sélectionnées avec la commande Copier à l'emplacement sélectionné dans la grille.



L'icône Excel fait apparaître une boîte de dialogue qui vous demande dans quels fichier et dossier enregistrer les informations sur l'échantillon. Lorsque vous appuyez sur Save (Enregistrer), le fichier Excel s'ouvre automatiquement.



L'icône Append/Overwrite (Ajouter/Remplacer) permet de changer la modification des cellules dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons). Si vous sélectionnez Remplacer, les données existantes sont écrasées lors de la modification. Si vous sélectionnez Ajouter, de nouvelles données sont ajoutées à la fin des données existantes lors de la modification.

Types d'échantillons :

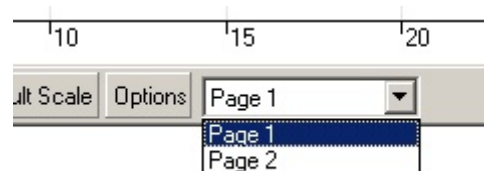
Vous pouvez définir un ou plusieurs types pour les échantillons, répertoriés dans le tableau suivant.

Type d'échantillon	Description
None (Aucun)	Aucun échantillon à cette position
NTC	Contrôle sans matrice
Negative Control (Contrôle négatif)	Contrôle négatif
Positive Control (Contrôle positif)	Contrôle positif
Unknown (Inconnu)	Échantillon inconnu à analyser
Standard (Étalon)	Des valeurs standard sont utilisées pour générer une courbe étalon afin de calculer les concentrations d'échantillons inconnus
Calibrator (RQ) (Calibrateur (RQ))	Un calibrateur se voit attribuer une valeur de 1 et toutes les autres concentrations d'échantillons sont calculées par rapport à cet échantillon

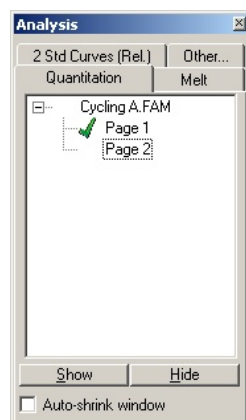
Page :

Cette fonction permet à l'utilisateur d'avoir des définitions d'échantillons différentes et même des expériences distinctes dans un même cycle d'exécution. C'est utile pour l'analyse de différents produits sur différents canaux. Utilisez les boutons fléchés pour passer d'une page d'échantillon à une autre. Utilisez les boutons New (Nouveau) et Delete (Supprimer) pour créer et supprimer des pages. Il est possible d'avoir plusieurs définitions d'échantillons pour un même canal pour pouvoir analyser plusieurs courbes étalons sans multiplexage. Il vous suffit de définir les échantillons d'intérêt et leurs courbes étalons sur des pages distinctes. Vous pouvez ensuite analyser le canal avec chaque série de définitions indépendamment les unes des autres. Les pages d'échantillons peuvent être marquées Page 1, Page 2, etc. ou être nommées comme vous le souhaitez (p. ex. « Domestique »). Le nom choisi figurera sur les rapports.

Lorsque vous visualisez les données brutes, les définitions d'échantillons utilisées pour afficher les données peuvent être sélectionnées dans le menu déroulant en regard du bouton Options :



La page d'échantillon à utiliser pour une analyse peut être sélectionnée dans la fenêtre Analysis (Analyse) (consultez la section 6.6.1).



Given Conc. (Conc. donnée) : Affiche la concentration pour chaque étalon. Vous pouvez définir les unités en nombre décimal ou logarithmique. Si les étalons sont une série de dilution, il vous suffit de saisir les 2 premiers étalons. En appuyant sur ENTRÉE, le programme ajoute automatiquement la dilution logique suivante de la série.

Style de ligne : Le style de ligne peut être modifié afin d'améliorer la lisibilité des graphiques sur les imprimantes en noir et blanc. Vous pouvez faire ressortir certaines lignes en modifiant leur style. Pour accéder à cette fonctionnalité, cliquez sur le bouton de flèche vers la droite en regard du bouton Edit (Modifier).



La barre d'outils affiche le style par défaut Solid (Continu). Vous pouvez passer à Dashed (Discontinu), Dotted (Pointillés), Hairline (Très fin), Thin (Fin) ou Thick (Épais). Quand vous avez terminé, cliquez sur le bouton de flèche vers la gauche pour revenir à la vue Edit (Modifier), Reset Default (Rétablir les valeurs par défaut) et Gradient.



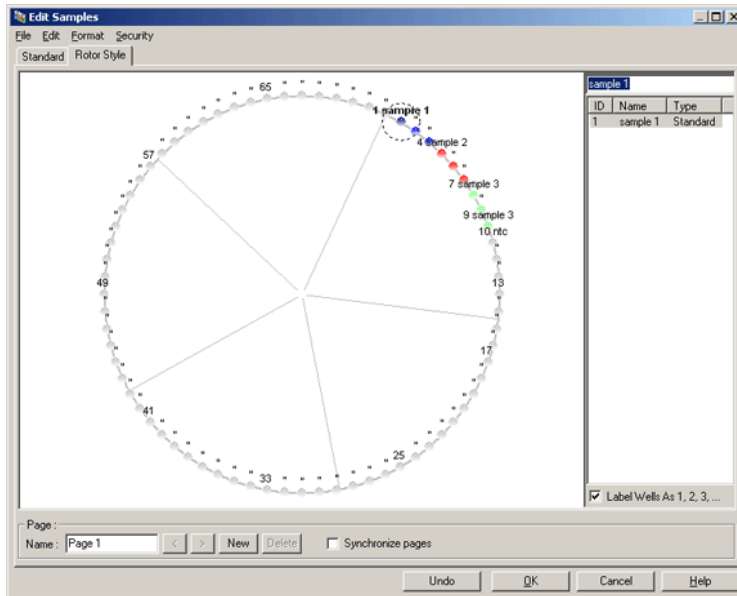
Saisie sur plusieurs lignes : Si vous devez saisir les mêmes informations sur plusieurs lignes à la fois, sélectionnez toutes les lignes puis commencez la saisie. Les informations sont saisies sur chaque ligne. Cela fonctionne aussi pour sélectionner les types d'échantillons, choisir les couleurs ou saisir les concentrations.

Touche de raccourci de type d'échantillon : Pour sélectionner rapidement un type d'échantillon, saisissez la première lettre de son nom. Par exemple, pour définir 5 échantillons comme des contrôles sans matrice, sélectionnez-les dans la colonne de type d'échantillon puis appuyez sur N pour NTC. Tous les échantillons sont alors convertis en contrôles sans matrice.

Enregistrer, réutiliser : Vous pouvez enregistrer une description complète de l'échantillon dans un fichier d'échantillon (\*.smp) et la charger pour des cycles d'exécution ultérieurs de même configuration d'échantillon.

## Style de rotor

Cet onglet de la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons) propose une autre manière de saisir les noms des échantillons. Sélectionnez les répliqués en cliquant sur l'image du rotor et en faisant glisser le pointeur de la souris dessus. La liste à droite de la fenêtre est actualisée. Vous pouvez saisir le nom de l'échantillon, ce sera le même nom pour la sélection en cours. Le logiciel reconnaît ces puits comme des répliqués.



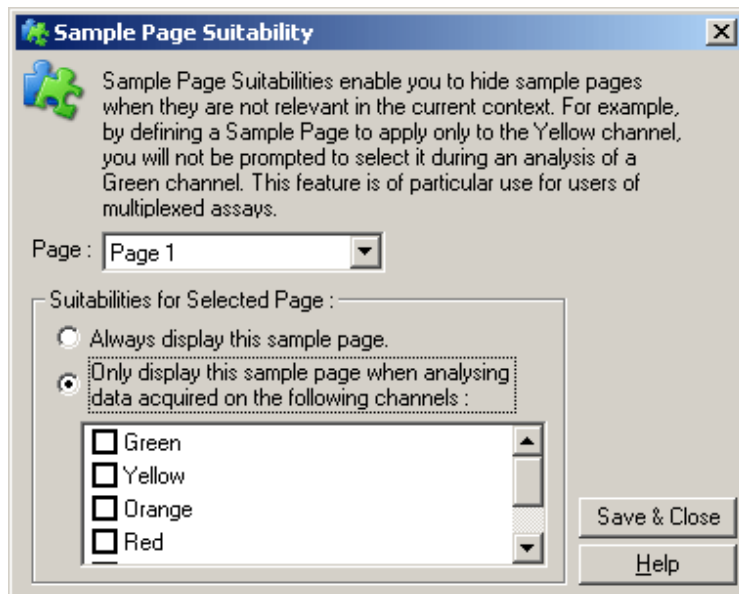
L'onglet Rotor Style (Style de rotor) constitue une version condensée de l'onglet Standard (Étalon), il est destiné aux utilisateurs qui souhaitent définir rapidement les noms des échantillons et les couleurs. Certains paramètres ne peuvent être définis sous cet onglet, par exemple vous ne pouvez pas indiquer si l'échantillon représente un étalon ou la concentration connue de chaque étalon. Si vous devez définir ces paramètres, utilisez l'onglet Standard (Étalon).

### Applicabilité des pages d'échantillons

Pour accéder à la fenêtre Sample Page Suitability (Applicabilité des pages d'échantillons), cliquez sur More Options (Plus d'options) dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons) puis sur Define Suitabilities (Définir l'applicabilité). La fenêtre Sample Page Suitability (Applicabilité des pages d'échantillons) permet aux utilisateurs de faire correspondre les pages d'échantillons et les canaux. Par exemple, la page d'échantillon du gène d'intérêt peut s'appliquer au canal vert et la page d'échantillon du gène domestique peut s'appliquer au canal jaune. Dans cet exemple, en utilisant l'applicabilité des pages d'échantillons, vous réduisez le nombre d'options d'analyse disponibles pour n'inclure que celles qui sont pertinentes pour le dosage concerné.

La fenêtre Sample Page Suitability (Applicabilité des pages d'échantillons) est illustrée ci-dessous.



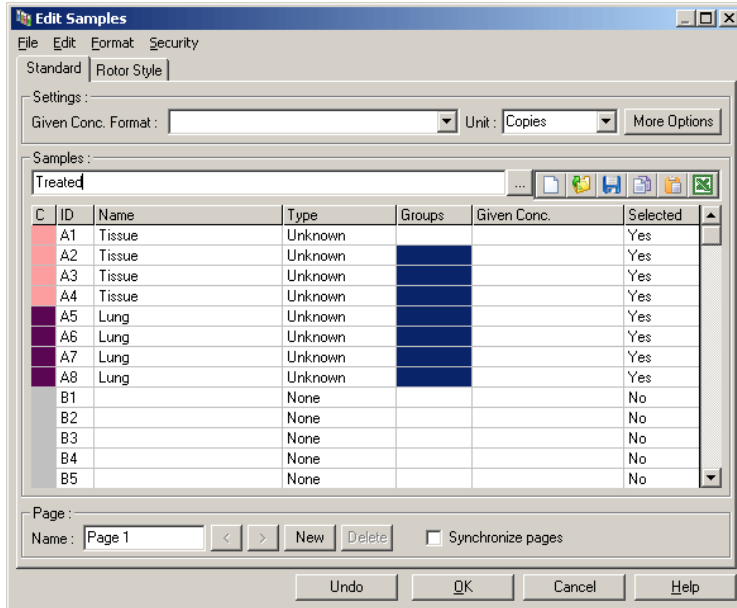


Remarque : lorsque vous configurez un dosage, créez toutes les pages d'échantillons ainsi que l'applicabilité des pages d'échantillons, puis enregistrez-les comme modèle. Cela réduit la configuration requise pour chaque cycle d'exécution.

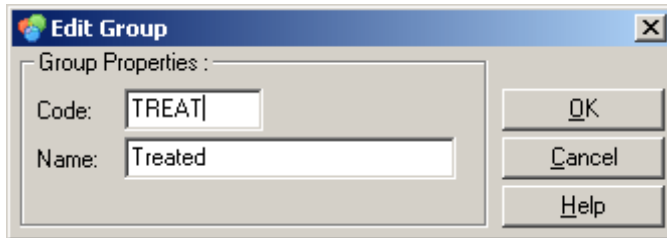
## Groupes

Les groupes d'échantillons permettent de calculer les statistiques concernant un ensemble arbitraire d'échantillons. Contrairement aux réplicats, qui doivent avoir des noms identiques, les échantillons peuvent porter n'importe quel nom, être placés n'importe où dans le rotor et faire partie de plusieurs groupes.

1. Pour définir un groupe, saisissez son nom complet en regard d'un échantillon puis appuyez sur ENTRÉE.



2. La fenêtre Edit Group (Modifier le groupe) apparaît.

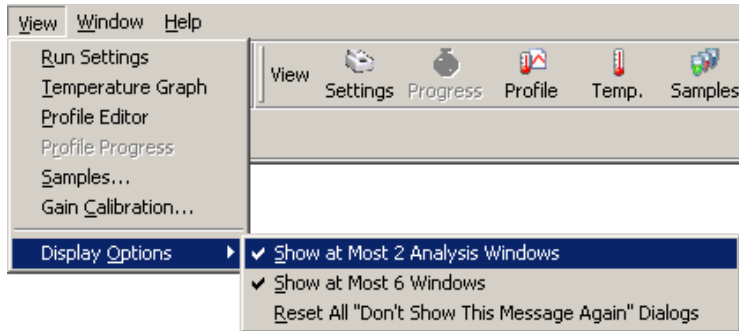


3. Définissez une abréviation adaptée puis cliquez sur OK. Désormais l'abréviation peut être utilisée pour configurer des groupes. Des résultats globaux, comme la valeur moyenne et les intervalles de confiance de 95 %, sont calculés automatiquement pour les groupes dans n'importe quelle analyse.

No.	Name	Type	Ct	Given Conc [Cop]	Calc Conc [Copie]	% Var	Rep. Ct	Rep. Ct Stc	Rep. Ct (95% CI)	Rep.
A1	Tissue	Unknown	18.82				18.75	0.17	[18.48, 19.02]	
A2	Tissue	Unknown	18.75							
A3	Tissue	Unknown	18.92							
A4	Tissue	Unknown	18.52							
A5	Lung	Unknown	18.73				18.70	0.09	[18.55, 18.85]	
A6	Lung	Unknown	18.62							
A7	Lung	Unknown	18.81							
A8	Lung	Unknown	18.63							
A1-A8	Treated	Group					18.72	0.13	[18.62, 18.83]	

### 6.8.5 Options d'affichage

Le menu Display Options (Options d'affichage) est illustré ci-dessous.



Show at Most 2 Analysis Windows (Afficher 2 fenêtres d'analyse maximum) :

Si cette option est cochée, il n'y aura pas plus de 2 fenêtres d'analyse affichées à la fois. Si vous ouvrez plusieurs fenêtres, cela peut compromettre la lisibilité. Cochez cette option pour fermer la première fenêtre d'analyse et la remplacer par la dernière fenêtre ouverte. Si l'option est décochée, vous pouvez afficher plus de 2 fenêtres d'analyse.

Show at Most 6 Windows (Afficher 6 fenêtres maximum) :

Pour améliorer la lisibilité, le logiciel ferme les fenêtres non utilisées dès qu'une nouvelle fenêtre est ouverte. Cette option est activée par défaut, car elle garantit la lisibilité de l'écran du logiciel Rotor-Gene Q. Si vous devez visualiser plus de 6 fenêtres à la fois, décochez cette option.

Reset All "Don't Show This Message Again" Dialogs (Réinitialiser toutes les boîtes de dialogue « Ne plus afficher ce message ») :

Si vous sélectionnez cette option, le logiciel affiche de nouveau toutes les boîtes de dialogue dans lesquelles la case Do not display this message again (Ne plus afficher ce message) a été cochée. Il s'agit entre autres de messages sur des paramètres suspects que vous avez pu choisir de ne plus afficher. Cela peut être utile pour un nouvel utilisateur qui ne maîtrise pas le Rotor-Gene Q MDx ou le logiciel Rotor-Gene Q.

## 6.9 Protection de l'accès au logiciel Rotor-Gene Q

Remarque : ce chapitre décrit la protection de l'accès au logiciel Rotor-Gene Q. Consultez le *Manuel d'utilisation de Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application* ou le *Manuel d'utilisation de Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application* pour plus d'informations sur le logiciel Rotor-Gene AssayManager.

Le logiciel Rotor-Gene Q comprend des fonctionnalités qui permettent de l'utiliser de façon sûre. S'il est correctement configuré, le logiciel Rotor-Gene Q peut assurer les actions suivantes :

- L'accès au Rotor-Gene Q MDx ou au logiciel d'analyse est limité aux groupes d'utilisateurs
- Les modifications apportées aux fichiers de cycle d'exécution sont consignées
- Les modifications non autorisées sont détectées (signatures)
- Les modèles utilisés pour les cycles d'exécution sont consignés
- Les noms des échantillons sont protégés

## Intégration à la sécurité de Windows

Pour un niveau élevé de responsabilité, le logiciel Rotor-Gene Q ne gère pas la sécurité en interne. Les comptes, les groupes et les mots de passe sont tous gérés à l'aide du modèle de sécurité intégré à Windows (Sécurité de Windows). L'intégration permet d'utiliser le même mot de passe pour accéder aux fichiers réseau et aux programmes afin de contrôler l'accès au logiciel Rotor-Gene Q, ce qui réduit l'administration nécessaire. Dans les établissements de grande taille, par exemple, les administrateurs réseau peuvent aisément supprimer l'accès des anciens utilisateurs grâce au modèle de sécurité centralisé.

C'est pourquoi la configuration du logiciel Rotor-Gene Q nécessite avant tout de configurer correctement les rôles de sécurité de Windows.

### Conditions préalables

Pour utiliser la sécurité, vous devez exécuter Windows 10 ou Windows 7 Professionnel. Les fonctionnalités de sécurité ne peuvent être utilisées avec Windows 10 ou Windows 7 Édition familiale, les éditions familiales ne disposent pas du modèle d'accès détaillé utilisé par le logiciel. Le logiciel doit être installé avec l'option Force authentication through Windows domain (Forcer l'authentification via le domaine Windows).

Remarque : le menu Security (Sécurité) n'apparaît pas si vous êtes connecté à un domaine Samba Linux. Vous devez utiliser une connexion locale ou un serveur Windows pour pouvoir utiliser les fonctionnalités de sécurité.

#### 6.9.1 Configuration pour Windows 7

Cette section décrit comment configurer le système en toute sécurité pour exécuter le logiciel Rotor-Gene Q.

Pour pouvoir utiliser les fonctionnalités de sécurité, le logiciel doit être installé avec l'option Force authentication through Windows domain (Forcer l'authentification via le domaine Windows). Le domaine Windows est interrogé sur votre niveau d'accès et vos informations d'identification et c'est essentiel pour les fonctionnalités de responsabilité et de sécurité.

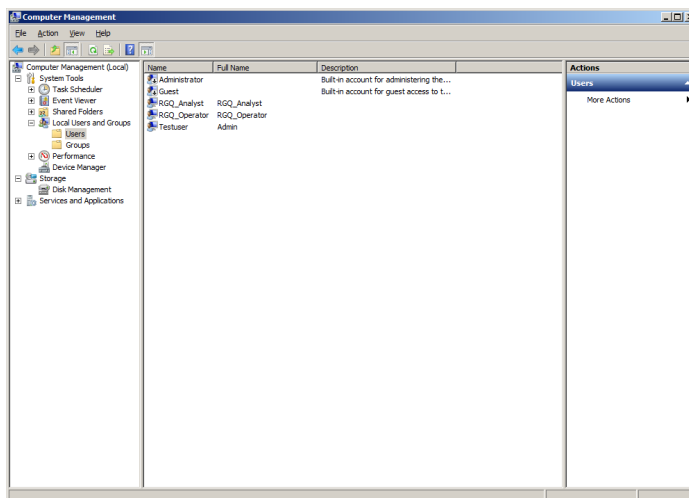
## Exécution en tant qu'administrateur

Bon nombre d'utilisateurs utilisent leurs ordinateurs en tant qu'administrateur, sans mot de passe. Même si c'est pratique, cela ne permet pas de déterminer qui utilise l'ordinateur. Cela élimine toute responsabilité et empêche l'activation de nombreuses mesures de sécurité du logiciel Rotor-Gene Q. Avec l'exécution en tant qu'administrateur, toutes les fonctionnalités logicielles sont activées. Ainsi, les utilisateurs qui n'ont pas besoin des fonctionnalités de sécurité peuvent accéder à toutes les fonctionnalités logicielles.

## Création d'un nouveau compte d'utilisateur

Créez des comptes d'utilisateurs pour chaque utilisateur du logiciel. Pour chacun d'eux, répétez les étapes ci-après jusqu'à avoir créé tous les comptes.

1. Pour créer un nouvel utilisateur, sélectionnez Start/Control Panel/Administrative Tools/Computer Management (Démarrer/Panneau de configuration/Outils d'administration/Gestion de l'ordinateur) puis allez à Local Users and Groups (Utilisateurs et groupes locaux) à gauche.
2. Dans la fenêtre qui s'ouvre, sélectionnez le dossier Users (Utilisateurs). Faites un clic droit sur la fenêtre de droite puis sélectionnez New User (Nouvel utilisateur).



3. Saisissez un nom d'utilisateur ainsi qu'un mot de passe. Par défaut, l'utilisateur est créé avec des privilèges d'accès classiques. Cela signifie qu'il peut exécuter le logiciel, mais pas installer de nouveaux programmes ni modifier les paramètres système.

The image shows a 'New User' dialog box with the following fields and options:

- User name: newuser
- Full name: New User
- Description: (empty)
- Password: (masked with dots)
- Confirm password: (masked with dots)
- User must change password at next logon
- User cannot change password
- Password never expires
- Account is disabled

Buttons: Help, Create, Close

4. Cliquez sur Create (Créer). Vous pouvez à présent vous connecter avec les identifiants de ce nouvel utilisateur.

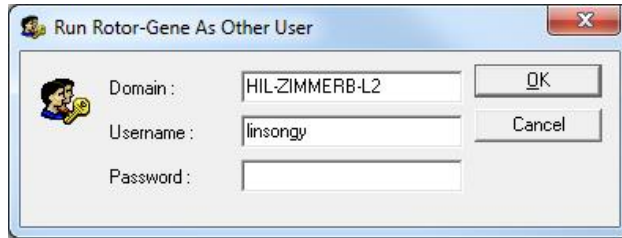
### Attribution de rôles à chaque utilisateur

Vous devez maintenant attribuer des rôles à chaque utilisateur. L'accès est réparti comme suit :

- Opérateur de Rotor-Gene Q : peut lancer des cycles d'exécution, mais pas générer de rapports ni effectuer d'analyses
- Analyste de Rotor-Gene Q : peut analyser les données des cycles d'exécution et générer des rapports, mais pas lancer de nouveaux cycles d'exécution
- Opérateur et analyste de Rotor-Gene Q : bénéficie des privilèges des deux rôles
- Administrateur : peut déverrouiller les noms des échantillons et effectuer toutes les opérations des analystes et des opérateurs
- Aucun : l'accès au logiciel est refusé

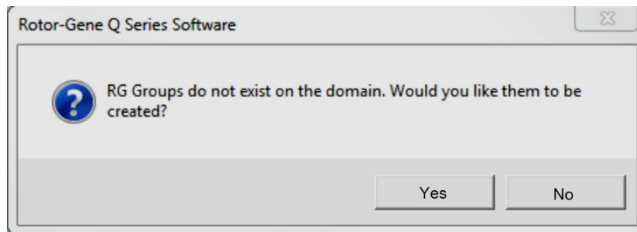
Pour attribuer des rôles :

1. Connectez-vous à Windows en tant qu'administrateur ou utilisez l'icône Rotor-Gene Q Software Login (Connexion au logiciel Rotor-Gene Q) pour ouvrir le logiciel et vous y connecter.

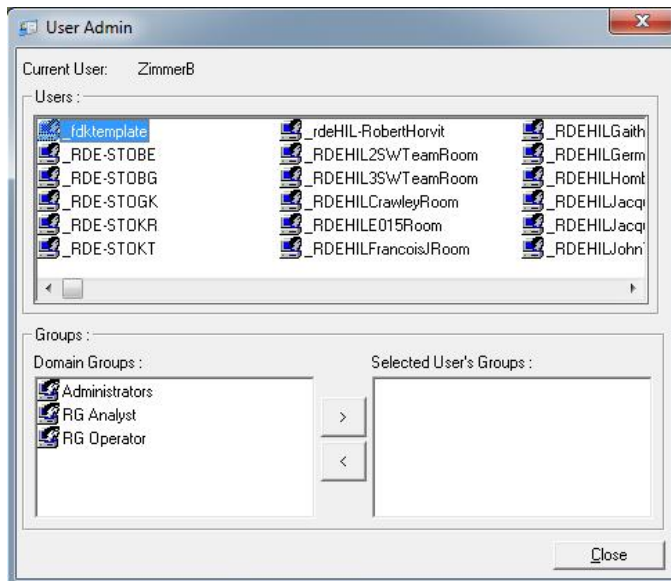


Remarque : pour pouvoir créer les groupes RG avec le logiciel Rotor-Gene Q, il est nécessaire d'exécuter le logiciel avec des droits d'administration. Pour cela, faites un clic droit sur l'icône du bureau et choisissez Run as administrator (Exécuter en tant qu'administrateur) dans le menu contextuel.

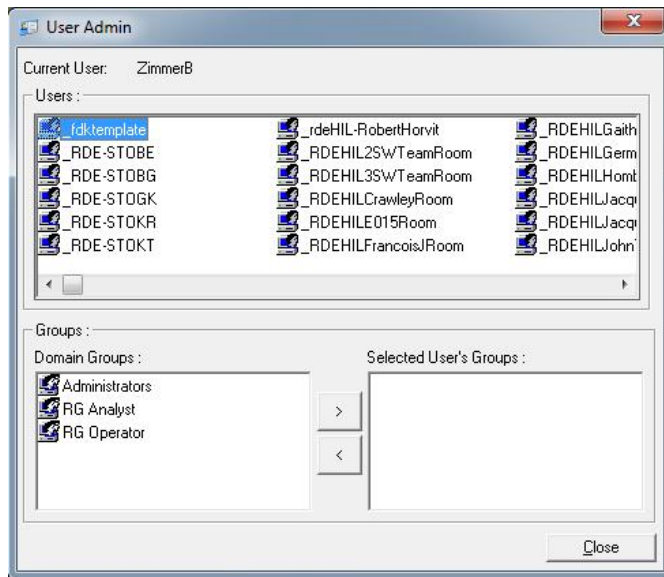
2. Une fois le logiciel ouvert, cliquez sur le menu Security (Sécurité). La première fois que vous accédez au menu Security (Sécurité), le logiciel Rotor-Gene Q configure un certain nombre de groupes système qui contrôleront l'accès au logiciel.



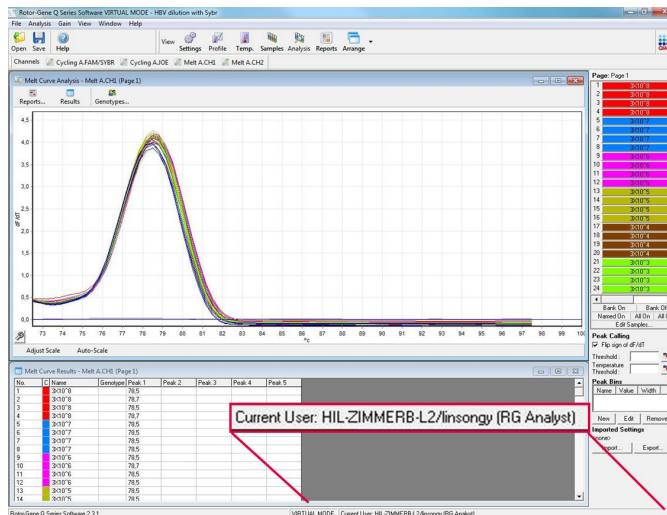
3. Cliquez sur Yes (Oui). La fenêtre User Admin (Administrateur d'utilisateurs) apparaît. Dans le volet supérieur figurent tous les utilisateurs de l'ordinateur. Certains comptes sont utilisés par le système et vous semblent donc inconnus. Le volet inférieur affiche les groupes auxquels l'utilisateur est affecté.



4. Pour affecter un utilisateur à un groupe, sélectionnez le nom de l'utilisateur dans la liste. Le volet inférieur est actualisé. Si l'utilisateur n'a aucun groupe, il ne peut pas lancer le logiciel.
5. Sur l'exemple suivant, l'utilisateur linsongy est affecté au groupe RG Analyst (Analyste RG) en sélectionnant le groupe à gauche puis en cliquant sur le bouton >. Vous pouvez retirer des groupes en les sélectionnant puis en cliquant sur le bouton <.

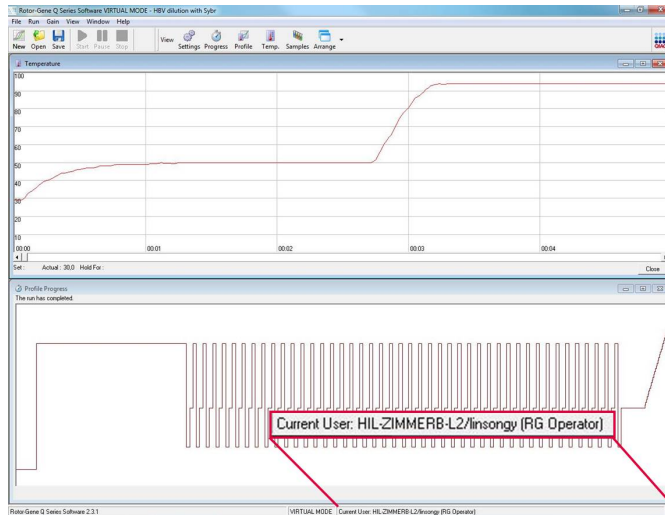


6. À présent, connectez-vous avec les identifiants de cet utilisateur. Pour un analyste RG, le menu Run (Cycle d'exécution) et le bouton Profile (Profil) ne sont pas disponibles. Mais les fichiers existants peuvent être ouverts et analysés, comme illustré sur la capture d'écran suivante. La barre d'état indique que l'utilisateur linsongy est un RG Analyst (Analyste RG).

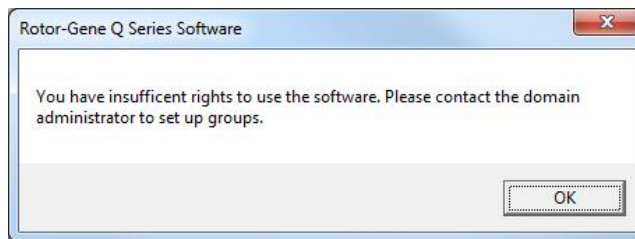




7. Si vous vous reconnectez en tant qu'administrateur, vous pouvez attribuer des droits de RG Operator (Opérateur RG) à linsongy et retirer les droits de RG Analyst (Analyste RG). Il est ensuite nécessaire de relancer le logiciel. Cette fois, le menu Analysis (Analyse) et le bouton Reports (Rapports) sont manquants et le menu Run (Cycle d'exécution) est activé. La barre d'état indique que l'utilisateur linsongy fait partie du groupe RG Operator (Opérateur RG).



8. Si vous vous connectez en tant qu'administrateur et supprimez tous les groupes de l'utilisateur linsongy, le message suivant apparaît dès que linsongy ouvre le logiciel.



## 6.9.2 Configuration pour Windows 10

Cette section décrit comment configurer le système en toute sécurité pour exécuter le logiciel Rotor-Gene Q.

Pour pouvoir utiliser les fonctionnalités de sécurité, le logiciel doit être installé avec l'option Force authentication through Windows domain (Forcer l'authentification via le domaine Windows). Le domaine Windows est interrogé sur votre niveau d'accès et vos informations d'identification et c'est essentiel pour les fonctionnalités de responsabilité et de sécurité.

## Exécution en tant qu'administrateur

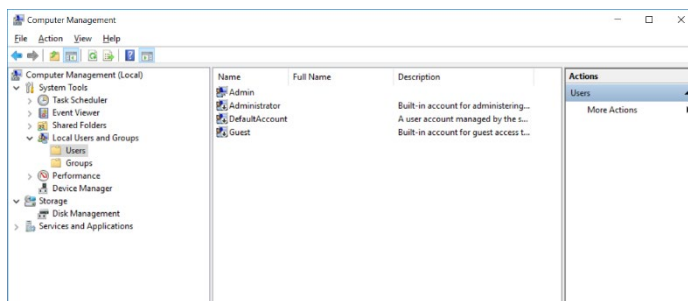
Bon nombre d'utilisateurs utilisent leurs ordinateurs en tant qu'administrateur, sans mot de passe. Même si c'est pratique, cela ne permet pas de déterminer qui utilise l'ordinateur. Cela élimine toute responsabilité et empêche l'activation de nombreuses mesures de sécurité du logiciel Rotor-Gene Q.

Avec l'exécution en tant qu'administrateur, toutes les fonctionnalités logicielles sont activées. Ainsi, les utilisateurs qui n'ont pas besoin des fonctionnalités de sécurité peuvent accéder à toutes les fonctionnalités logicielles.

## Création d'un nouveau compte d'utilisateur

Créez des comptes d'utilisateurs pour chaque utilisateur du logiciel. Pour chacun d'eux, répétez les étapes ci-après jusqu'à avoir créé tous les comptes.

1. Pour créer un nouvel utilisateur, sélectionnez Start (Démarrer), allez à Computer Management (Gestion de l'ordinateur), appuyez sur Entrée puis allez à Local Users and Groups (Utilisateurs et groupes locaux) à gauche.
2. Dans la fenêtre qui s'ouvre, sélectionnez le dossier Users (Utilisateurs). Faites un clic droit sur la fenêtre de droite puis sélectionnez New User... (Nouvel utilisateur...).



3. Saisissez un nom d'utilisateur ainsi qu'un mot de passe. Par défaut, les utilisateurs sont créés avec des privilèges d'accès classiques. Cela signifie qu'il peut exécuter le logiciel, mais pas installer de nouveaux programmes ni modifier les paramètres système.

New User

User name: newuser

Full name: New User

Description:

Password: ●●●●●●

Confirm password: ●●●●●●

User must change password at next logon

User cannot change password

Password never expires

Account is disabled

Help Create Close

4. Cliquez sur Create (Créer). Vous pouvez à présent vous connecter avec les identifiants de ce nouvel utilisateur.

### Attribution de rôles à chaque utilisateur

Vous devez maintenant attribuer des rôles à chaque utilisateur. L'accès est réparti comme suit :

- Opérateur de Rotor-Gene Q : peut lancer des cycles d'exécution, mais pas générer de rapports ni effectuer d'analyses
- Analyste de Rotor-Gene Q : peut analyser les données des cycles d'exécution et générer des rapports, mais pas lancer de nouveaux cycles d'exécution
- Opérateur et analyste de Rotor-Gene Q : bénéficie des privilèges des deux rôles
- Administrateur : peut déverrouiller les noms des échantillons et effectuer toutes les opérations des analystes et des opérateurs
- Aucun : l'accès au logiciel est refusé

Remarque : dans Microsoft Windows 10, il n'est pas possible de créer des groupes d'utilisateurs avec le logiciel Rotor-Gene Q. Il faut qu'un administrateur de domaine crée les groupes dans le domaine et affecte les utilisateurs à un groupe spécifique. Le menu Run (Cycle d'exécution) est activé. La barre d'état indique que l'utilisateur linsongy fait partie du groupe RG Operator (Opérateur RG).

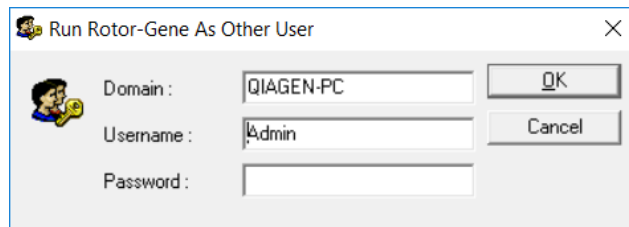
### 6.9.3 Utilisation d'un même ordinateur par plusieurs utilisateurs

Pour permettre l'utilisation du logiciel Rotor-Gene Q par plusieurs utilisateurs, créez un compte d'utilisateur qui n'a pas accès au logiciel Rotor-Gene Q. Connectez-vous à Windows avec ce compte afin que les utilisateurs ne puissent pas accéder anonymement au Rotor-Gene Q MDx.

1. À l'aide de l'icône Rotor-Gene Q Software Login (Connexion au logiciel Rotor-Gene Q), les utilisateurs peuvent ouvrir leur compte d'utilisateur dans le logiciel Rotor-Gene Q.



2. Saisissez le nom d'utilisateur et le mot de passe (obligatoire) dans la boîte de dialogue qui apparaît.



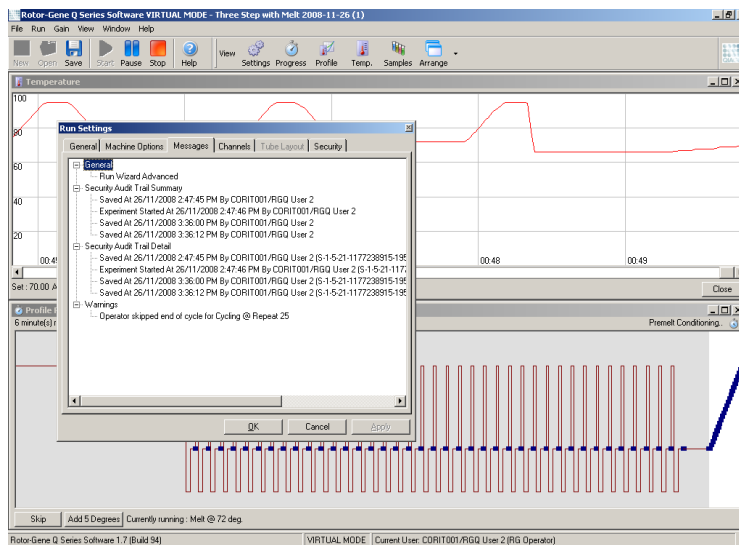
3. Le domaine est l'ordinateur sur lequel vous vous êtes connecté ou le nom de votre réseau local, ainsi que le nom d'hôte. Consultez votre administrateur réseau si vous ne savez pas quel domaine saisir dans ce champ.

Remarque : après la connexion, tous les fichiers utilisateur sont à la disposition de l'utilisateur connecté. Chaque utilisateur peut enregistrer des fichiers dans sa propre zone. Cela assure un haut niveau de sécurité.

Remarque : chaque utilisateur doit se déconnecter une fois son cycle d'exécution terminé afin d'empêcher d'autres utilisateurs de lancer un cycle d'exécution en son nom.

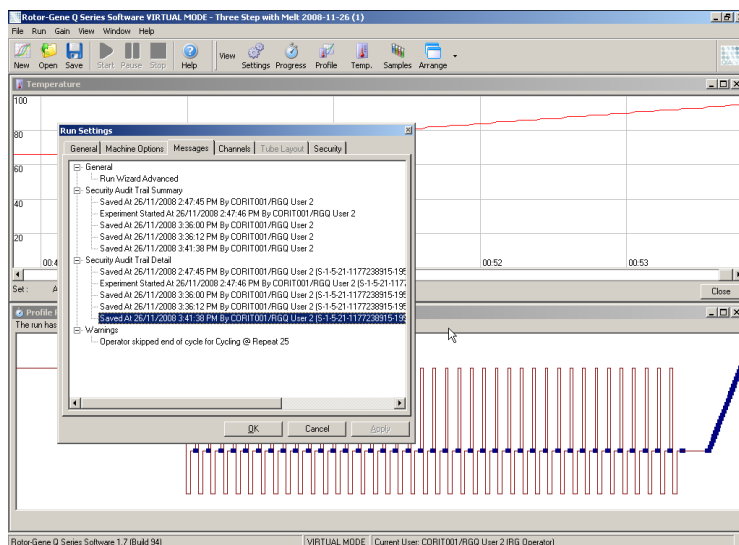
### 6.9.4 Pistes d'audit

Chaque fois qu'un utilisateur enregistre un fichier, les détails du fichier sont consignés dans Run Settings (Paramètres du cycle d'exécution) sous l'onglet Messages, sous Security Audit Trail Summary (Synthèse de la piste d'audit de sécurité) et Security Audit Trail Detail (Détails de la piste d'audit de sécurité).



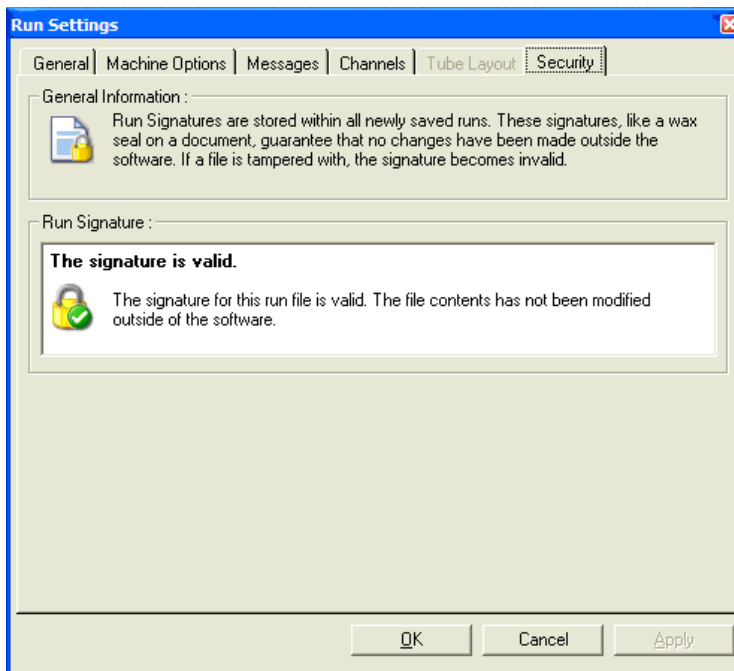
Cela peut permettre de savoir qui a modifié le contenu d'un fichier. La partie Security Audit Trail Detail (Détails de la piste d'audit de sécurité) affiche davantage de détails, comme l'identifiant unique de l'utilisateur. Cet identifiant est important pour empêcher un utilisateur de créer un compte avec le même nom sur un autre ordinateur et donc de se faire passer pour un autre utilisateur. Dans ce cas, les noms d'utilisateur sont identiques, mais les identifiants du compte sont différents.

L'identifiant S-1-5-21-1177238915-195 pour le compte CORIT001/RGQ User 2 (CORIT001/RGQ Utilisateur 2) figure dans les détails.

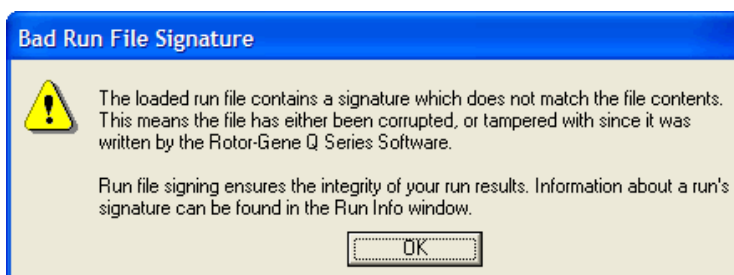


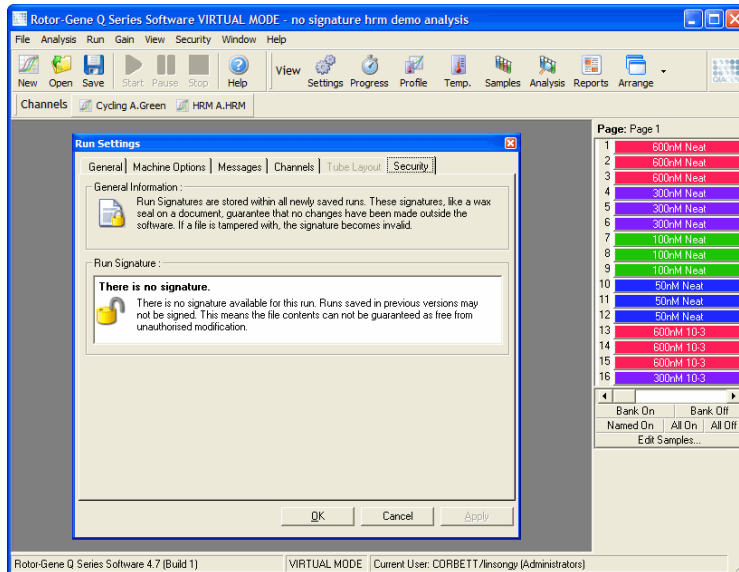
## 6.9.5 Signatures des cycles d'exécution

La piste d'audit est enregistrée dans le fichier de cycle d'exécution Rotor-Gene Q. Pour éviter toute modification non souhaitée de ces fichiers, ils doivent être conservés sur un emplacement sûr, accessible uniquement pour les comptes Windows désignés. Mais si ces fichiers sont enregistrés sur un emplacement partagé, les signatures des cycles d'exécution offrent une sécurité supplémentaire. La capture d'écran suivante montre l'onglet Security (Sécurité) dans Run Settings (Paramètres du cycle d'exécution) pour un fichier avec signature des cycles d'exécution.



La signature des cycles d'exécution est une formule longue générée à chaque enregistrement du fichier et liée à son contenu. Par exemple, la signature de ce fichier est 517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081. Si le fichier est ouvert dans Notepad et qu'une modification y est apportée (p. ex. la date du cycle d'exécution est avancée de 3 jours), le message ci-dessous apparaît à l'ouverture suivante du fichier.





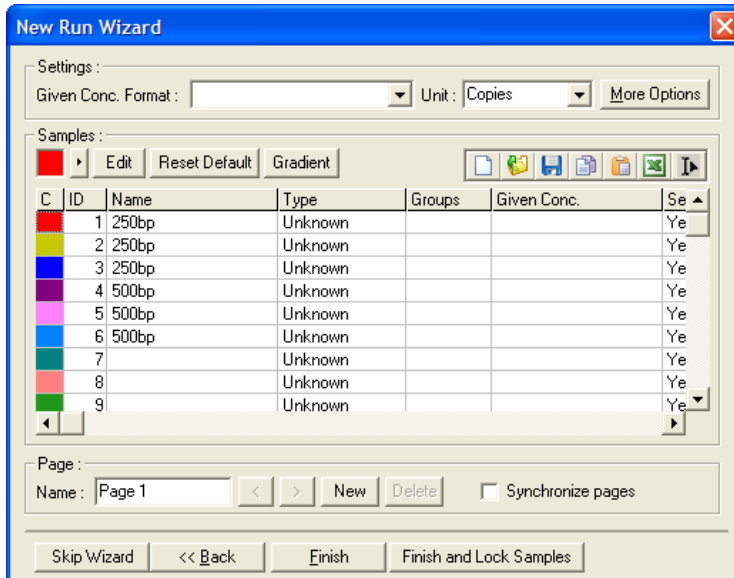
Remarque : si vous envoyez des fichiers par e-mail, le processus de chiffrement peut invalider la signature. Pour éviter cela, zippez le fichier avant de l'envoyer.

### 6.9.6 Verrouillage d'échantillon

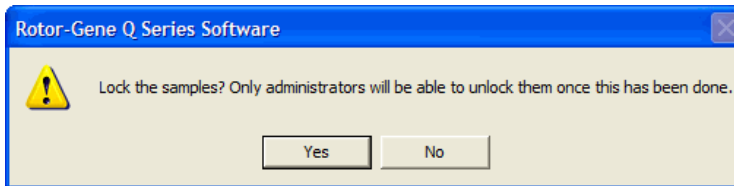
Il est important de s'assurer que les noms des échantillons ne sont pas malencontreusement ou intentionnellement modifiés une fois qu'un utilisateur a lancé un cycle d'exécution. C'est la raison d'être du verrouillage d'échantillon du logiciel Rotor-Gene Q. Les noms des échantillons peuvent être verrouillés par n'importe quel utilisateur, mais ne peuvent être déverrouillés que par un administrateur. Cette option n'est pas très pertinente pour les utilisateurs qui utilisent leur ordinateur en mode d'administrateur. Pour utiliser cette option, l'ordinateur doit être configuré de façon sûre comme indiqué dans les sections précédentes.

Remarque : si vous voulez verrouiller des échantillons, n'exécutez pas le logiciel en tant qu'administrateur. Créez un compte avec les groupes RG Operator (Opérateur RG) et RG Analyst (Analyste RG), et ne divulguez pas le mot de passe administrateur. Les utilisateurs devront ainsi demander l'autorisation de l'administrateur pour déverrouiller des fichiers.

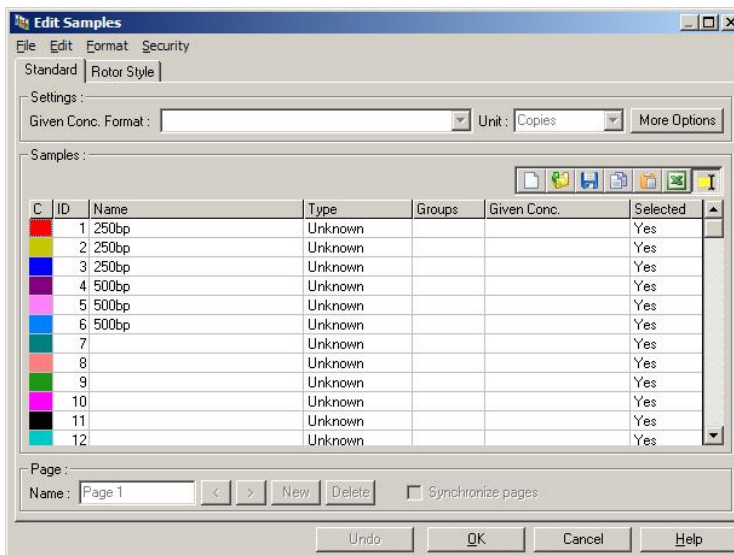
Vous pouvez verrouiller des échantillons avant de démarrer un cycle d'exécution à l'aide de l'assistant avancé, en cliquant sur Finish and Lock Samples (Terminer et verrouiller les échantillons).



L'avertissement suivant apparaît. Cliquez sur Yes (Oui) pour confirmer.



Une fois les échantillons verrouillés, il n'est plus possible de les modifier dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons).





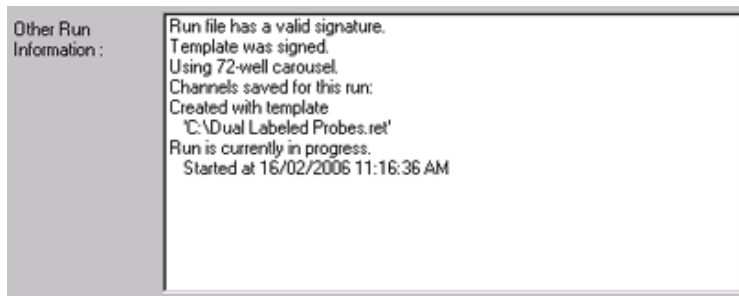
Vous pouvez aussi verrouiller et déverrouiller des échantillons dans la fenêtre Edit Samples (Modifier les échantillons). Mais seul un administrateur peut déverrouiller des échantillons verrouillés.



Toute modification non autorisée apportée à un fichier invalide la signature des cycles d'exécution.

### 6.9.7 Modèles verrouillés

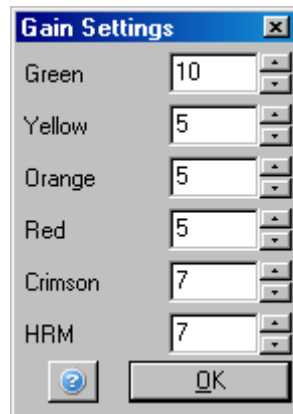
Pour le moment, il n'est pas possible pour l'utilisateur de créer des modèles en lecture seule à l'aide du logiciel Rotor-Gene Q. Mais s'il le souhaite, il peut exiger que tous les cycles d'exécution soient effectués avec un fichier de modèle spécifique. Afin d'assurer un accès en lecture seule à ce modèle, il doit être enregistré sur un lecteur réseau sur lequel les utilisateurs ne peuvent modifier les données. Les utilisateurs peuvent quand même exécuter et modifier leurs propres profils, mais le modèle sur un lecteur réseau est protégé. Pour pouvoir suivre les modèles qui ont été utilisés, le logiciel Rotor-Gene Q enregistre le nom du fichier de modèle qui a été exécuté. Ces informations sont accessibles en cliquant sur le bouton Settings (Paramètres), qui ouvre la fenêtre Run Settings (Paramètres du cycle d'exécution). Les informations sur le modèle sont enregistrées dans Other Run Information (Autres informations sur le cycle d'exécution).



### 6.10 Menu Gain

Cliquez sur le menu Gain pour voir les Gain Settings (Paramètres de gain) du cycle d'exécution en cours. Cela vous permet de définir le gain du canal spécifié avant un cycle d'exécution. Les paramètres de gain sont conservés d'un cycle d'exécution à l'autre. Ils peuvent être modifiés si le cycle d'exécution n'a pas encore commencé ou au cours des cycles initiaux. Utilisez les flèches vers le haut/le bas dans chaque champ de texte pour modifier les champs. Cliquez ensuite sur OK.

Il est possible de modifier le gain au cours des cycles initiaux. Une ligne rouge apparaît sur le canal concerné pour indiquer où le gain a été modifié. Les cycles antérieurs à la modification du gain sont exclus de l'analyse.



## 6.11 Menu Fenêtre

Ce menu permet de disposer les fenêtres en mosaïque verticale ou horizontale, ou même en cascade. D'autres options sont accessibles en cliquant sur la flèche à droite du bouton Arranger (Organiser).

## 6.12 Fonction Aide

Lorsque vous utilisez le bouton Help (Aide) ou le menu Help (Aide), le menu déroulant suivant s'ouvre.

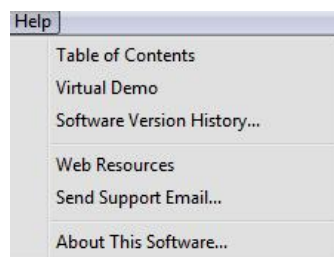


Table of Contents  
(Table des matières) :

Permet d'accéder à la fonction Help (Aide).

Virtual Demo  
(Démonstration virtuelle) :

Permet d'ouvrir une page du site web de QIAGEN présentant une démonstration interactive du logiciel.

Software Version History...  
(Historique des versions  
du logiciel...) :

Donne un bref aperçu des nouvelles fonctionnalités ajoutées depuis la version logicielle précédemment installée.

Web Resources (Ressources Internet) :	Permet d'ouvrir dans une nouvelle fenêtre du navigateur une page du site web de QIAGEN qui présente des informations récentes utiles sur les instruments Rotor-Gene Q MDx et les réactifs correspondants.
About This Software... (À propos du logiciel...) :	Donne des informations sur la machine connectée, le numéro de série du Rotor-Gene Q MDx et la version du logiciel.

### 6.12.1 Envoyer un e-mail au support technique

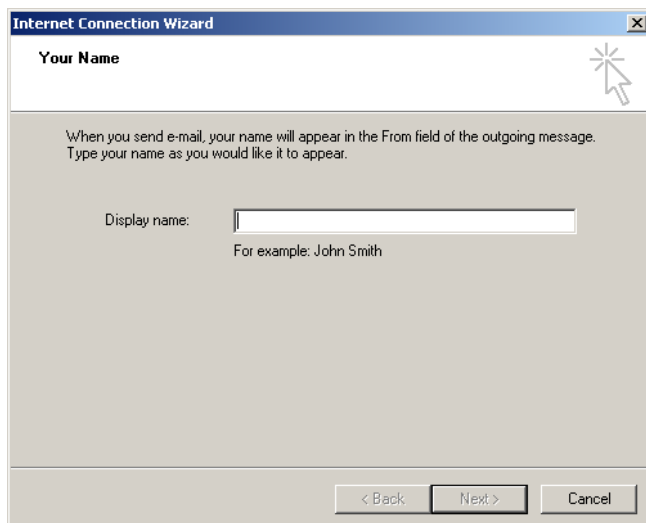
L'option Send Support Email (Envoyer un e-mail au support technique) du menu Help (Aide) vous permet d'adresser au support technique de QIAGEN un e-mail contenant toutes les informations pertinentes d'un cycle d'exécution. L'option Save As (Enregistrer sous) permet d'enregistrer toutes les informations dans un fichier que vous pouvez copier sur un support ou sur un réseau si vous n'avez pas accès à une messagerie électronique sur l'ordinateur connecté au Rotor-Gene Q MDx.

La première fois que vous utilisez la fonction d'e-mail au support technique sur l'ordinateur portable fourni avec le Rotor-Gene Q MDx (en option, selon le pays), vous devez configurer vos paramètres de messagerie électronique.

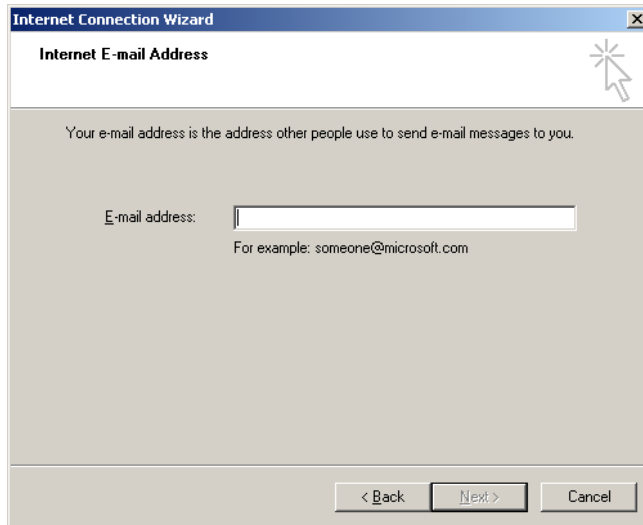
Remarque : vous pouvez suivre les consignes du responsable informatique de votre établissement.

#### Configurer les paramètres de messagerie électronique

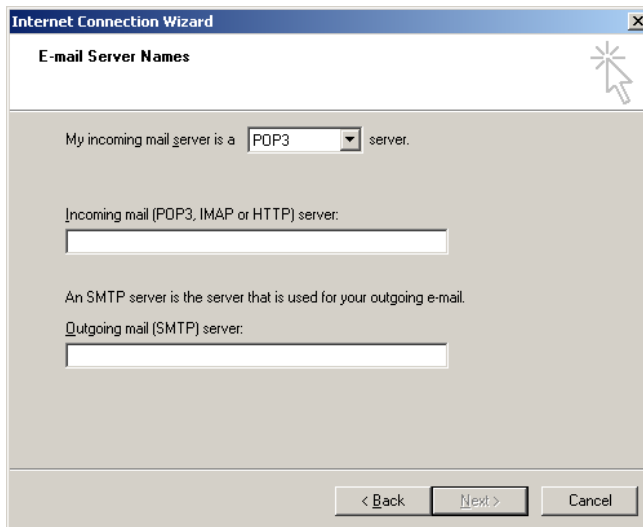
Cliquez sur l'option Send Support Email... (Envoyer un e-mail au support technique...). La fenêtre suivante s'ouvre.



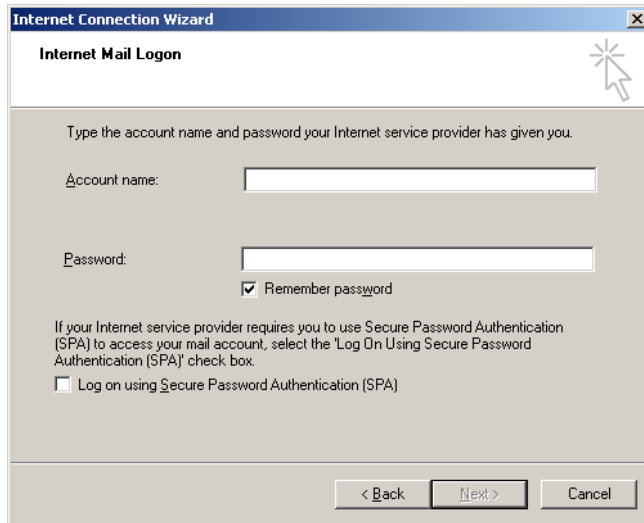
1. Saisissez votre nom puis cliquez sur Next (Suivant). La fenêtre Internet E-mail Address (Adresse de messagerie Internet) s'ouvre.



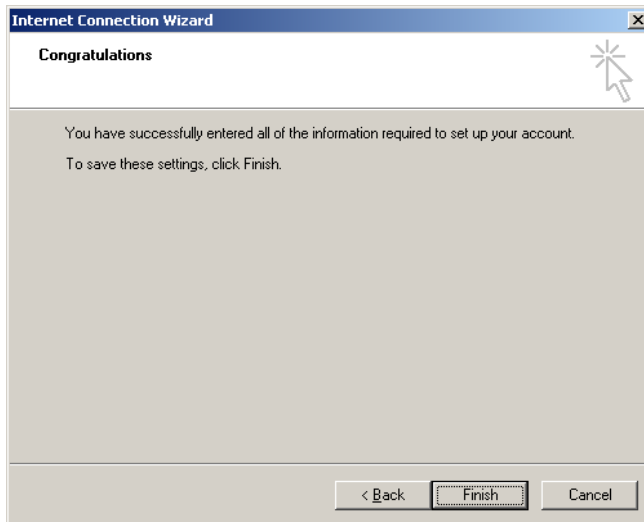
2. Saisissez votre adresse e-mail et appuyez sur Next (Suivant). La fenêtre E-mail Server Names (Noms des serveurs de messagerie électronique) s'ouvre.



3. Sélectionnez le type de serveur de messagerie électronique pour les courriers entrants et indiquez les noms des serveurs pour les courriers entrants et sortants. Appuyez ensuite sur Next (Suivant). La fenêtre Internet Mail Logon (Connexion à la messagerie Internet) s'ouvre.



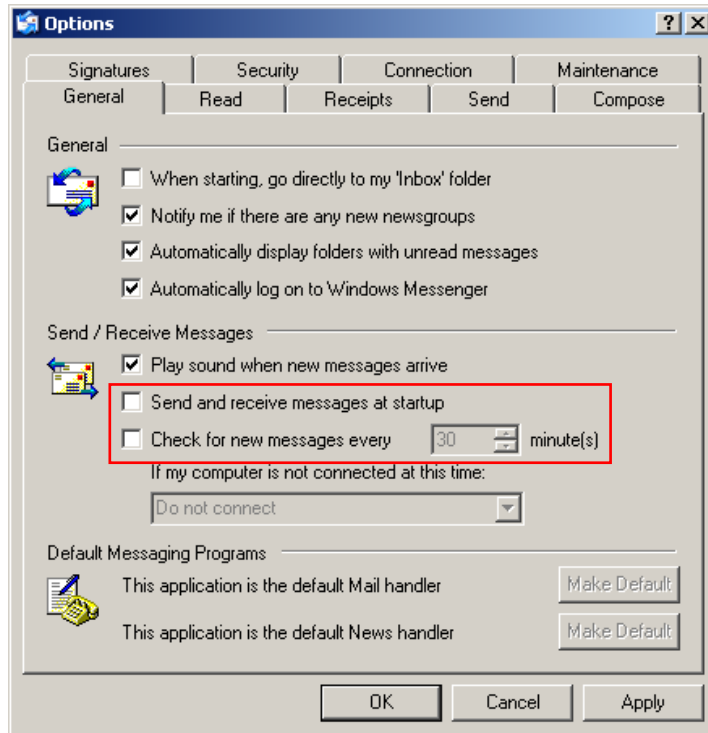
4. Saisissez le nom de votre compte de messagerie électronique ainsi que le mot de passe, si votre serveur utilise une authentification par mot de passe sécurisé. Cliquez ensuite sur Next (Suivant). La fenêtre Congratulations (Félicitations) s'ouvre.



5. Confirmez avec Finish (Terminer) pour terminer la configuration du compte de messagerie électronique.

### Configuration dans Outlook

1. Ouvrez Outlook Express à partir du menu Start (Démarrer) (Start [Démarrer] > All programs [Tous les programmes] > Outlook Express).
2. Sélectionnez Tools (Outils) puis Options. La fenêtre suivante apparaît.



Important : afin d'éviter toute récupération de courrier en cours de cycle de PCR, désactivez les entrées par défaut sur l'écran Send/Receive Messages (Envoyer/Recevoir des messages).

3. Désactivez Send and receive messages at startup (Envoyer et recevoir les messages au démarrage).
4. Désactivez Check for new messages every 30 minutes (Vérifier l'arrivée de nouveaux messages toutes les 30 minutes).
5. Confirmez les modifications avec OK.

## 7 Fonctions supplémentaires

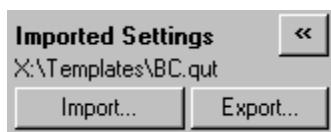
### 7.1 Modèles d'analyse

Certaines analyses impliquent que l'utilisateur définisse des seuils ainsi que des paramètres de normalisation et de génotype. Bien souvent, ces paramètres sont réutilisés pour plusieurs expériences.

Les modèles d'analyse permettent à l'utilisateur d'enregistrer et de réutiliser ces paramètres. Cela lui évite de les saisir de nouveau et limite ainsi le risque d'erreur.

L'analyse quantitative, l'analyse de fusion, l'analyse de discrimination allélique, l'analyse du graphique de dispersion et l'analyse en point final prennent en charge les modèles d'analyse. Ces analyses permettent à l'utilisateur d'exporter un modèle unique, propre à l'analyse (p. ex. l'analyse quantitative permet d'exporter et d'importer les fichiers \*.qut qui contiennent les paramètres de quantification).

Une fois qu'un modèle d'analyse est importé ou exporté, le nom de fichier du modèle est affiché à des fins de référence.

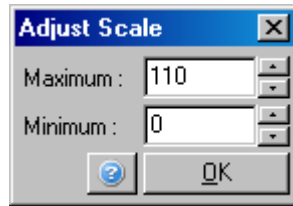


### 7.2 Ouverture d'un deuxième cycle d'exécution

Pendant l'exécution d'un cycle, il est possible d'ouvrir et d'analyser des cycles d'exécution antérieurs. Plusieurs fonctions, telles que les boutons New (Nouveau) ou Start Run (Démarrer le cycle), ne sont pas activées dans la deuxième fenêtre. Vous pouvez démarrer un nouveau cycle d'exécution à partir de la première fenêtre une fois le premier cycle terminé.

### 7.3 Options de mise à l'échelle

Pour accéder à Adjust Scale (Ajuster l'échelle), cliquez sur Adjust Scale... (Ajuster l'échelle...) au bas de la fenêtre principale ou faites un clic droit sur le graphique puis sélectionnez Adjust Scale... (Ajuster l'échelle...) dans le menu qui apparaît. Vous pouvez saisir manuellement une échelle dans la fenêtre qui apparaît.



Pour accéder à Auto-Scale (Mise à l'échelle automatique), cliquez sur Auto-Scale... (Mise à l'échelle automatique...) au bas de la fenêtre principale ou faites un clic droit sur le graphique puis sélectionnez Auto-Scale... (Mise à l'échelle automatique...) dans le menu qui apparaît. Auto-Scale (Mise à l'échelle automatique) essaie d'ajuster l'échelle des données aux valeurs maximale et minimale.

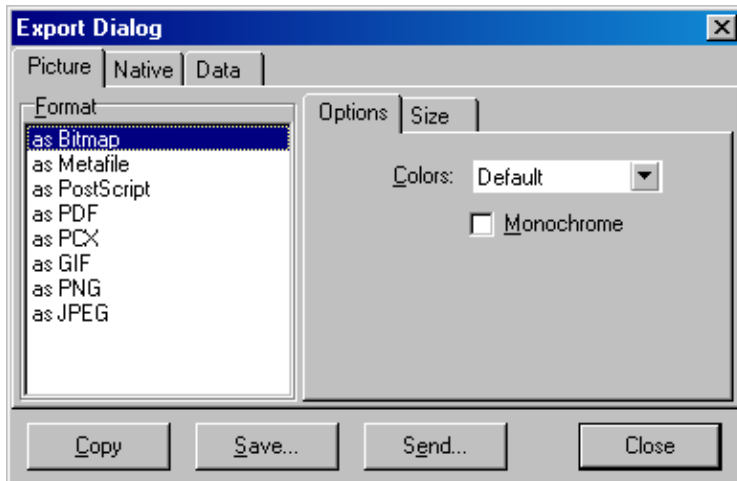
Pour accéder à Default Scale (Échelle par défaut), cliquez sur Default Scale... (Échelle par défaut...) au bas de la fenêtre principale ou faites un clic droit sur le graphique puis sélectionnez Default Scale... (Échelle par défaut...) dans le menu qui apparaît. Default Scale (Échelle par défaut) permet de réinitialiser l'échelle pour afficher de 0 à 100 unités de fluorescence.

## 7.4 Exportation de graphiques

### Exportation d'image

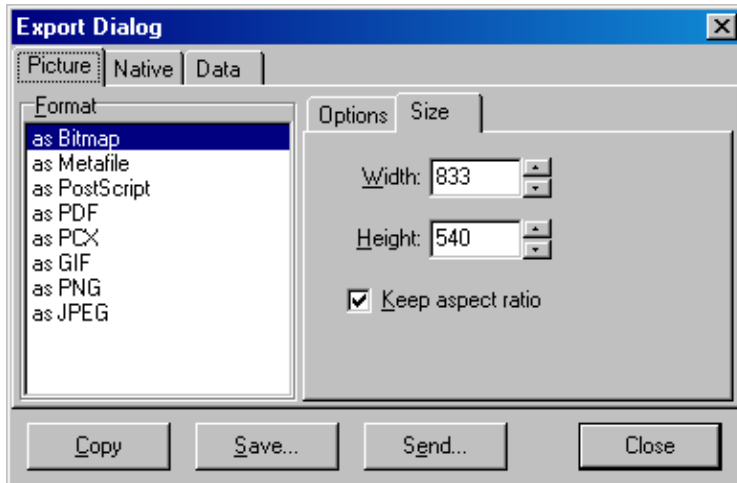
Les étapes suivantes décrivent comment enregistrer une image.

1. Faites un clic droit sur l'image puis sélectionnez Export (Exporter) dans le menu qui apparaît.
2. La fenêtre Export Dialog (Boîte de dialogue d'exportation) apparaît. Sélectionnez le format de votre choix dans la liste Format.



3. Sélectionnez l'onglet Size (Taille) et indiquez la taille souhaitée.





4. Cochez la case Keep aspect ratio (Conserver les proportions) pour conserver les proportions correctes de l'image lorsque sa taille est ajustée.
5. Cliquez sur Save (Enregistrer) puis sélectionnez un nom de fichier et un emplacement pour le fichier dans la boîte de dialogue qui s'ouvre.

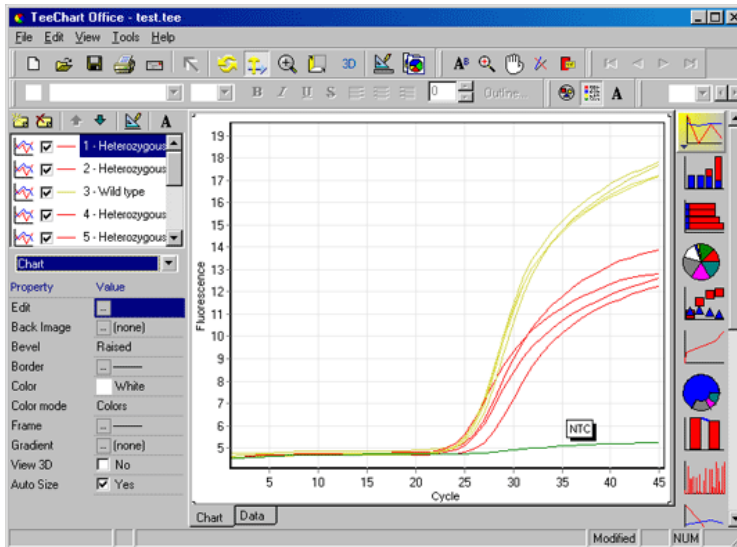
S'il vous faut une résolution d'image supérieure, nous vous recommandons d'augmenter la taille de l'image jusqu'à obtenir la résolution souhaitée ou d'enregistrer le graphique en métafichier (\*.emf, \*.wmf). Il s'agit d'un format vectoriel qui peut être ouvert dans un logiciel de type Adobe® Illustrator®, cela permet à l'utilisateur de créer une image de n'importe quelle résolution.

### Exportation d'un format natif

Dans le logiciel Rotor-Gene Q, les graphiques utilisent le composant tiers TeeChart® développé par Steema Software. Pour enregistrer un graphique au format natif, sélectionnez l'onglet Native (Natif) dans la fenêtre Export Dialog (Boîte de dialogue d'exportation) (voir la capture d'écran précédente) puis cliquez sur Save (Enregistrer). Le format natif est le format de fichier TeeChart standard. Cela permet à l'utilisateur d'utiliser TeeChart Office de Steema Software. TeeChart Office est un logiciel gratuit, il est installé dans le cadre du package logiciel Rotor-Gene Q. Pour accéder à ce logiciel, cliquez sur l'icône TeeChart sur le bureau.

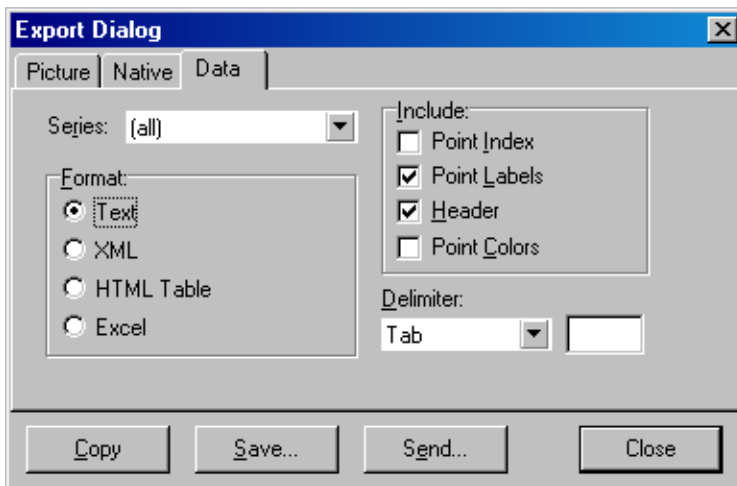


TeeChart Office permet de manipuler des graphiques exportés, notamment changer les couleurs des courbes, ajouter des annotations, modifier la police et ajuster les points de données.




### Exportation de données

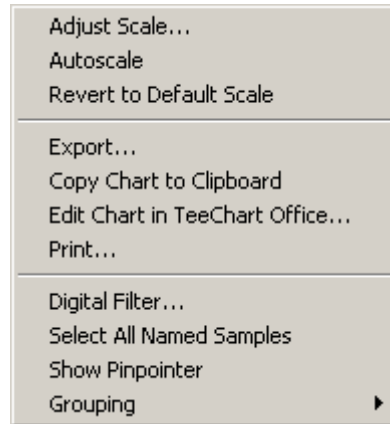
Pour exporter des données en divers formats, sélectionnez l'onglet Data (Données) dans la fenêtre Export Dialog (Boîte de dialogue d'exportation). Le fichier exporté contient les points de données brutes utilisés sur le graphique.



Vous pouvez aussi exporter des données brutes et des données d'analyse en sélectionnant Save As (Enregistrer sous) dans le menu File (Fichier) (consultez la section 6.5).

## 7.5 Icône de clé à molette

L'icône de clé à molette  apparaît en bas à gauche de la fenêtre principale. Cliquez dessus pour accéder à plusieurs options. Ces options sont également accessibles en faisant un clic droit sur le graphique.



Adjust Scale (Ajuster l'échelle),  
Autoscale (Mise à l'échelle  
automatique), Revert to Default Scale  
(Revenir à l'échelle par défaut) :

Consultez la section 7.3.

Export... (Exporter...) :

Permet d'enregistrer le graphique dans divers formats (consultez la section 6.4).

Copy Chart to Clipboard  
(Copier le graphique dans  
le Presse-papiers) :

Permet de copier l'image du graphique dans le Presse-papiers.

Edit Chart in TeeChart Office...  
(Modifier le graphique dans  
TeeChart Office...) :

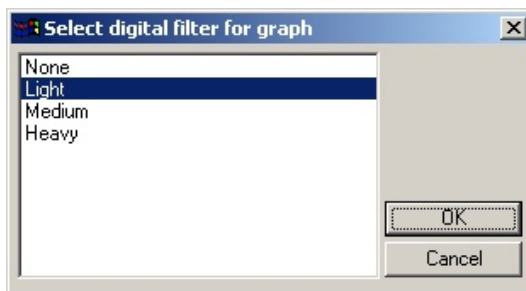
Permet d'ouvrir le graphique directement dans TeeChart Office à des fins de modification (consultez la section 6.4).

Print (Imprimer) :

Permet d'imprimer le graphique.

Digital Filter... (Filtre numérique...) :

Permet de modifier le filtre numérique sélectionné pour le graphique. Le filtre numérique permet de lisser les données grâce à une fenêtre de points dynamique.



Show Pinpointer (Afficher l'outil  
d'identification) :

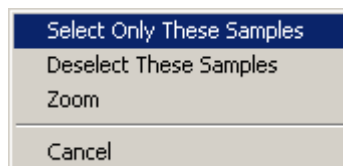
Permet d'ouvrir une fenêtre qui affiche les coordonnées exactes de la position du pointeur de la souris.

Grouping (Regroupement) :

Permet de regrouper visuellement des échantillons de mêmes noms. Cela peut être utile pour les cycles d'exécution de rotor plein. La sélection de cette option n'a aucune incidence sur les valeurs calculées.

## 7.6 Options de la zone sélectionnée

Vous pouvez sélectionner une zone d'un graphique en cliquant puis en faisant glisser le pointeur de la souris. Les options suivantes apparaissent.



Select Only These Samples  
(Sélectionner uniquement ces échantillons) :

Les échantillons situés dans la zone sélectionnée sont désélectionnés.

Select Only These Samples  
(Sélectionner uniquement ces échantillons) :

Les échantillons situés dans la zone sélectionnée sont désélectionnés.

Zoom :

Permet d'agrandir la zone du graphique sélectionnée. Cliquez sur le bouton Default Scale (Échelle par défaut) pour réduire.

## 8 Maintenance

Il n'est pas difficile d'entretenir le bon fonctionnement du Rotor-Gene Q MDx. Pour les performances optiques, assurez-vous que les lentilles, situées au niveau des sources d'émission et de détection, sont propres. Pour ce faire, passez délicatement sur les lentilles un coton-tige humidifié d'éthanol ou d'isopropanol\*.

Remarque : nettoyez les lentilles au moins une fois par mois, en fonction de votre utilisation. Profitez-en pour nettoyer aussi la chambre du rotor.

Veillez à ce que la paillasse reste propre et sans poussières ni feuilles de papier. L'entrée d'air du Rotor-Gene Q MDx se trouve en bas, des matières légères comme du papier ou des poussières peuvent s'y introduire et compromettre les performances.



Pour éviter l'accumulation de poussière, laissez le capot du Rotor-Gene Q MDx fermé lorsque l'instrument n'est pas utilisé.

Remarque : utilisez exclusivement les composants fournis par QIAGEN.

### 8.1 Nettoyage de la surface du Rotor-Gene Q MDx

Les surfaces extérieures du Rotor-Gene Q MDx peuvent être nettoyées avec les produits communément disponibles au sein des laboratoires.

\* Lorsque vous manipulez des produits chimiques, portez toujours une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consultez les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur des produits.

---

## 8.2 Décontamination de la surface du Rotor-Gene Q MDx

En cas de contamination de la chambre du rotor, vous pouvez nettoyer les surfaces avec un chiffon non pelucheux humidifié (pas imbibé) avec une solution à base d'eau de Javel à 0,1 % (V/V).\* Ensuite, passez dans la chambre un chiffon non pelucheux humidifié avec une eau de qualité PCR afin d'éliminer les résidus d'eau de Javel.

## 8.3 Réparation de Rotor-Gene Q

Pour tout(e) réparation ou entretien de Rotor-Gene Q, contactez les services techniques QIAGEN sur <https://www.qiagen.com/service-and-support/technical-support/technical-support-form/>.

\* Lorsque vous manipulez des produits chimiques, portez toujours une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consultez les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur des produits.

## 9 Vérification de la température optique

La vérification de la température optique (Optical Temperature Verification, OTV) est une méthode de vérification de la température interne des tubes dans le Rotor-Gene Q MDx. La validation de la température interne des tubes peut être une procédure importante dans les laboratoires agréés. La vérification de la température optique s'effectue à l'aide d'un Rotor-Disc OTV Kit (consultez la section 16). Le présent document ne donne qu'une brève introduction au principe de la vérification de la température optique. Cette procédure est expliquée dans le logiciel du Rotor-Gene Q MDx. Pour une description plus détaillée de la procédure de vérification de la température optique, y compris un guide de dépannage, consultez le *Manuel de Rotor-Disc OTV*.

### 9.1 Principe de la vérification de la température optique

La vérification de la température optique utilise les propriétés optiques de 3 cristaux liquides thermochromiques (Thermochromatic liquid crystal, TLC)\* comme référence absolue de température. Lorsqu'ils sont chauffés, ces cristaux liquides opaques deviennent transparents à des températures très précises (50, 75 et 90 °C). Ils ne sont pas en soi fluorescents. Il est donc nécessaire de recouvrir la source d'excitation avec un insert fluorescent pour que les points de transition des cristaux liquides thermochromiques puissent être détectés par le système optique du Rotor-Gene Q MDx. Les cristaux liquides thermochromiques qui sont en deçà de la température de transition sont opaques et reflètent la lumière. Une partie de la lumière reflétée se diffuse en direction du détecteur, ce qui accroît la fluorescence. Lorsque la température interne des tubes atteint le point de transition d'un cristal liquide thermochromique, celui-ci devient transparent et la lumière traverse l'échantillon au lieu d'être reflétée en direction du détecteur, ce qui diminue la fluorescence. Le changement de fluorescence permet de déterminer avec précision la température de transition de chaque cristal liquide thermochromique. La température de transition est comparée à la température figurant dans le fichier d'étalonnage d'usine pour l'OTV Rotor-Disc afin de vérifier si le Rotor-Gene Q MDx est dans les spécifications de température.

### 9.2 Composants du Rotor-Disc OTV Kit

Les composants suivants sont nécessaires pour une vérification de la température optique :

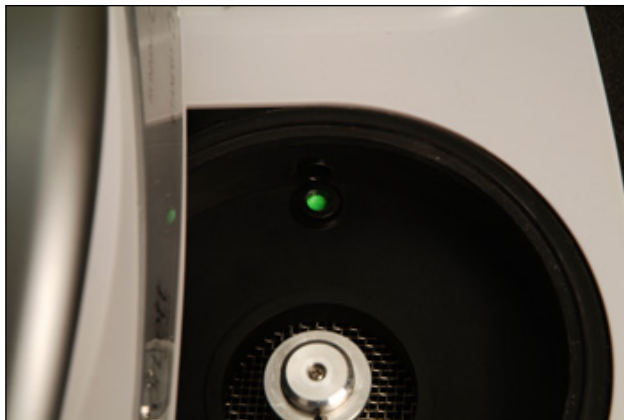
- Un Rotor-Disc OTV Kit, contenant :

\* Lorsque vous manipulez des produits chimiques, portez toujours une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consultez les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur des produits.

- Un Rotor-Disc 72 OTV Rotor étanche (qui contient les cristaux liquides thermochromiques)
- Un insert fluorescent (instrument Rotor-Gene 3000 ou instruments Rotor-Gene Q/6000)
- Un support amovible contenant les fichiers suivants : fichier de numéro de série et date d'expiration du rotor de vérification de la température optique (\*.txt) ; fichier de modèle de test de vérification de la température optique (\*.ret) ; fiche technique (\*.pdf) ; fichier d'étalonnage d'usine (\*.rex)
- Une fiche technique
- Logiciel Rotor-Gene version 1.7 ou supérieure, qui contient l'assistant pour le rotor de vérification de la température optique, facile à utiliser
- Rotor-Disc 72 Rotor
- Rotor-Disc 72 Locking Ring

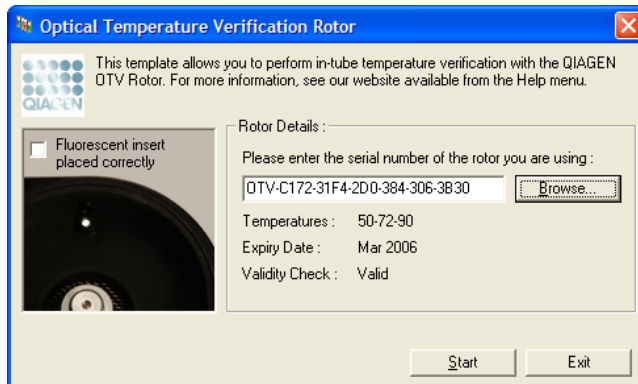
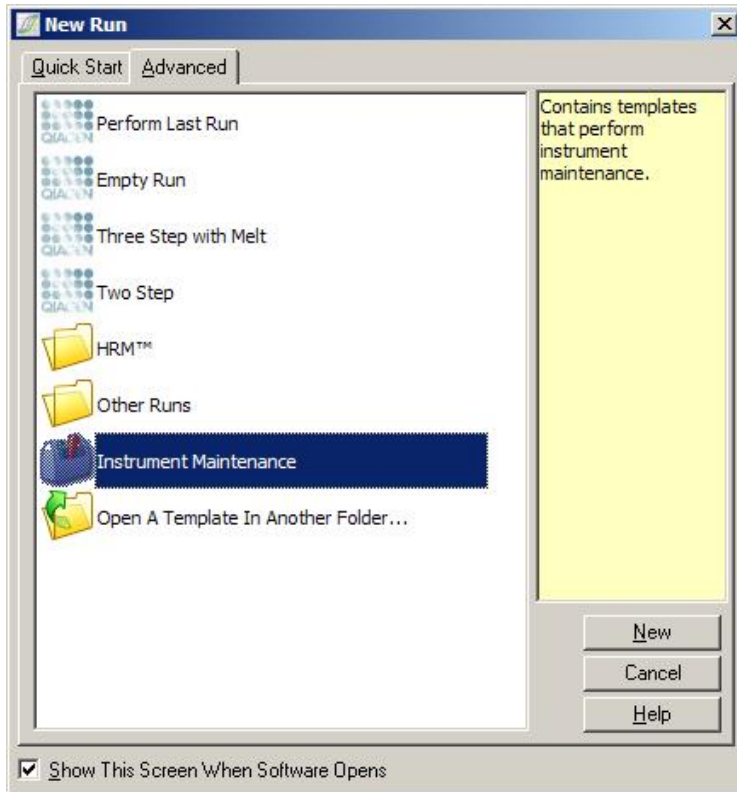
### 9.3 Effectuer une vérification de la température optique

1. Placez l'insert fluorescent sur la lentille d'émission au bas de la chambre du Rotor-Gene Q MDx.
2. Placez l'OTV Rotor-Disc dans le Rotor-Disc 72 Rotor. Stabilisez le tout à l'aide d'une Rotor-Disc 72 Locking Ring. Placez l'ensemble dans le Rotor-Gene Q MDx et encliquez-le. Fermez le capot du Rotor-Gene Q MDx.

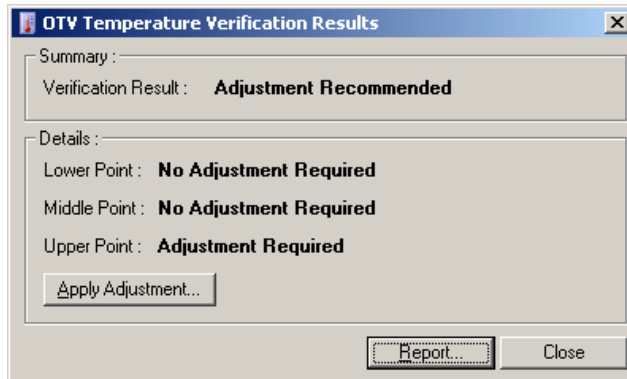


3. Ouvrez l'assistant avancé en sélectionnant l'onglet Advanced (Avancé) dans la fenêtre New Run (Nouveau cycle). Dans l'assistant avancé, cliquez sur Instrument maintenance (Maintenance de l'instrument) puis sur OTV (Vérification de la température optique). L'assistant demande le numéro de série de vérification de la température optique, qui figure sur la bague de vérification de la température optique. Cliquez ensuite sur Start (Démarrer).





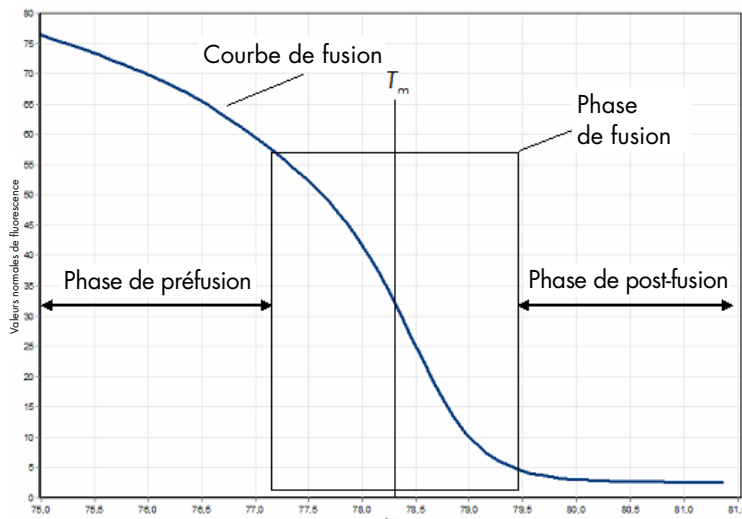
4. Le logiciel demande un nom de fichier pour le cycle d'exécution. Puis le cycle d'exécution commence.
5. Le cycle d'exécution effectue une série de fusions qui déterminent les caractéristiques thermiques du Rotor-Gene Q MDx.



6. Au terme du cycle d'exécution, le logiciel indique si le Rotor-Gene Q MDx est dans les spécifications.
7. Si un ajustement est nécessaire, l'utilisateur doit cliquer sur Apply Adjustment (Procéder à un ajustement). Le logiciel invite l'utilisateur à lancer un cycle d'exécution de vérification. Une fois ce cycle d'exécution de vérification terminé, aucun ajustement ne devrait être nécessaire. Si un ajustement supplémentaire est nécessaire, contactez votre distributeur.
8. Si le Rotor-Gene Q MDx est dans les spécifications, vous pouvez consulter et imprimer un rapport du cycle d'exécution.

## 10 Analyse de fusion haute résolution

L'analyse de fusion haute résolution (High Resolution Melt, HRM) est une technique innovante basée sur l'analyse de la fusion de l'ADN. La HRM permet de caractériser les échantillons d'ADN en fonction de leur comportement de dissociation lorsqu'ils passent de l'ADN double brin (ADNdb) à l'ADN simple brin (ADNsb) avec l'augmentation de la température (voir la figure ci-dessous). Un instrument de HRM recueille les signaux de fluorescence avec une précision optique et thermique particulièrement élevée, créant ainsi de multiples possibilités d'applications.



Tracé de HRM type. La courbe de fusion illustre la transition de la fluorescence élevée en phase de préfusion initiale à la diminution de la fluorescence en phase de fusion puis au niveau de base de la fluorescence en phase de post-fusion. La fluorescence diminue lorsque le colorant intercalant de l'ADN est libéré par l'ADNdb tandis qu'il fusionne en simples brins. Le point médian de la phase de fusion, auquel le taux de variation de la fluorescence est maximal, définit la température de fusion ( $T_m$ ) de l'ADN analysé.

Avant une analyse de HRM, vous devez amplifier la séquence cible à un grand nombre de copies. On procède généralement par PCR avec un colorant fluorescent intercalant de l'ADNdb. Le colorant n'interagit pas avec l'ADNsb, mais s'intercale activement avec l'ADNdb et devient vivement fluorescent une fois intercalé. La variation de fluorescence peut permettre de mesurer l'augmentation de la concentration d'ADN pendant la PCR puis de mesurer directement la fusion thermique de l'ADN par HRM. Pendant la HRM, la fluorescence est élevée au début parce que l'échantillon initial est de l'ADNdb. La fluorescence diminue avec l'augmentation de la température et l'ADN se dissocie en simples brins. Le comportement de fusion observé est propre à un échantillon d'ADN spécifique.

Grâce à la HRM, le Rotor-Gene Q MDx peut caractériser les échantillons d'après la longueur de la séquence, le taux de GC et la complémentarité des séquences d'ADN. La HRM peut être utilisée dans des applications de génotypage, telles que l'analyse des insertions/délétions ou des polymorphismes mononucléotidiques (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP), ou pour dépister des mutations génétiques inconnues.

---

Elle peut aussi être utilisée dans des applications d'épigénétique pour la détection et l'analyse de la méthylation de l'ADN. Elle peut également permettre la détection quantitative d'une petite quantité d'ADN variant dans un bruit de fond de séquence de type sauvage à des sensibilités proches de 5 %. Cela peut permettre, par exemple, d'étudier les mutations ou variations somatiques dans la méthylation des îlots CpG.

La HRM sur le Rotor-Gene Q MDx facilite de nombreuses applications, notamment :

- Identification des gènes candidats de prédisposition
- Études d'association (comparant des cas et des contrôles, du génotype au phénotype)
- Détermination de la prévalence allélique au sein d'une population ou d'un sous-groupe
- Dépistage et validation des SNP
- Dépistage d'une perte d'hétérozygoté
- Profilage génétique
- Caractérisation de blocs d'haplotypes
- Analyse de méthylation de l'ADN
- Cartographie génétique
- Identification d'espèces
- Découverte de mutation
- Détermination du taux de mutations somatiques
- Typage HLA

La HRM est plus facile et plus rentable que les dosages de génotypage avec sonde et, contrairement aux méthodes conventionnelles, il s'agit d'un système à tubes fermés qui empêche toute contamination par les produits de PCR. Les résultats sont comparables aux méthodes conventionnelles de type polymorphisme de conformation des ADN simples brins (Single strand conformation polymorphism, SSCP), chromatographie liquide haute performance sur gel dénaturant (Denaturing high performance liquid chromatography, DHPLC), polymorphisme de restriction (Restriction fragment length polymorphism, RFLP) et séquençage d'ADN.

## 10.1 Instruments

Voici les fonctions thermo-optiques en temps réel de pointe, requises pour la HRM, du Rotor-Gene Q MDx.

- Illumination haute intensité
- Détection optique haute sensibilité

- Acquisition de données rapide
- Température d'échantillon parfaitement contrôlée
- Variation thermique et optique minimale d'un échantillon à l'autre

## 10.2 Analyse chimique

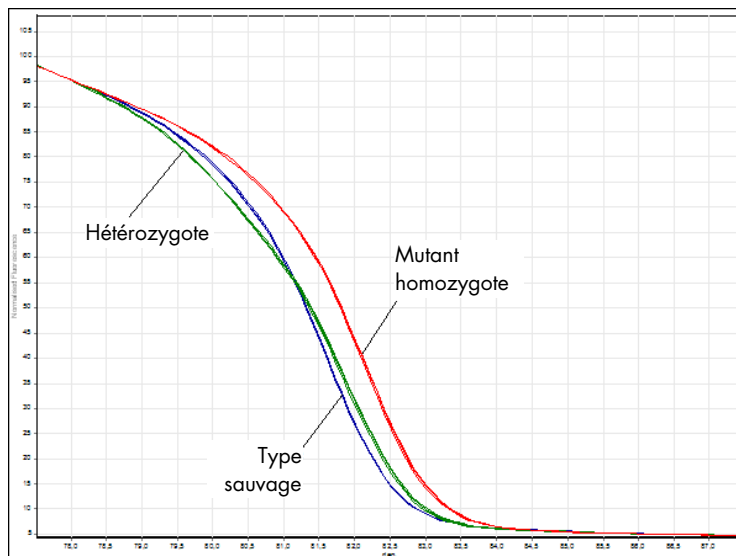
QIAGEN propose le Type-it® HRM PCR Kit pour l'analyse des SNP et des mutations avec HRM et l'EpiTect® HRM PCR Kit pour l'analyse de méthylation. Ces deux kits contiennent le colorant fluorescent intercalant de troisième génération EvaGreen. Les kits associent un tampon de HRM optimisé et la HotStarTaq® Plus DNA Polymerase pour éviter les produits d'amplification non spécifiques et donner des résultats fiables.

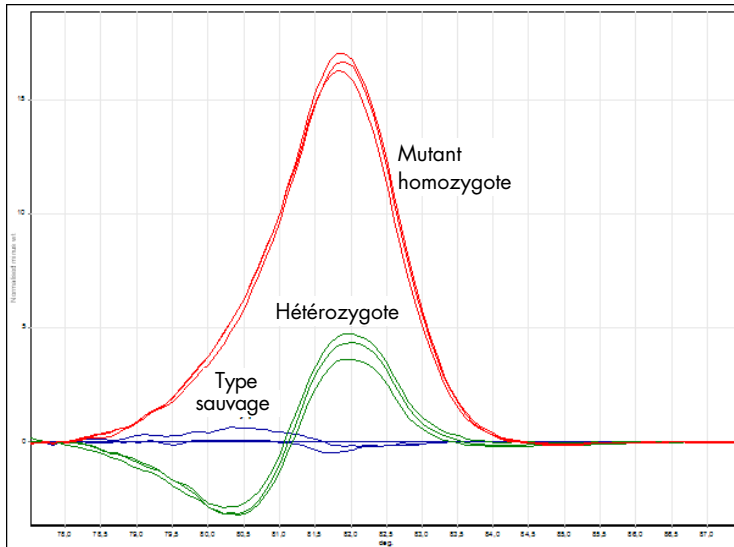
Remarque : tous les kits et réactifs de HRM QIAGEN doivent être utilisés exclusivement avec les instruments Rotor-Gene Q pour les applications décrites dans les manuels des kits QIAGEN correspondants.

## 10.3 Exemple de génotypage de SNP

Sur l'exemple suivant, le Type-it HRM PCR Kit a été utilisé pour une analyse de HRM afin de différencier les formes de type sauvage homozygote, mutante homozygote et hétérozygote du SNP humain rs60031276. Pour tout détail technique, consultez le *Manuel de Type-it HRM PCR*.

A



**B****C**

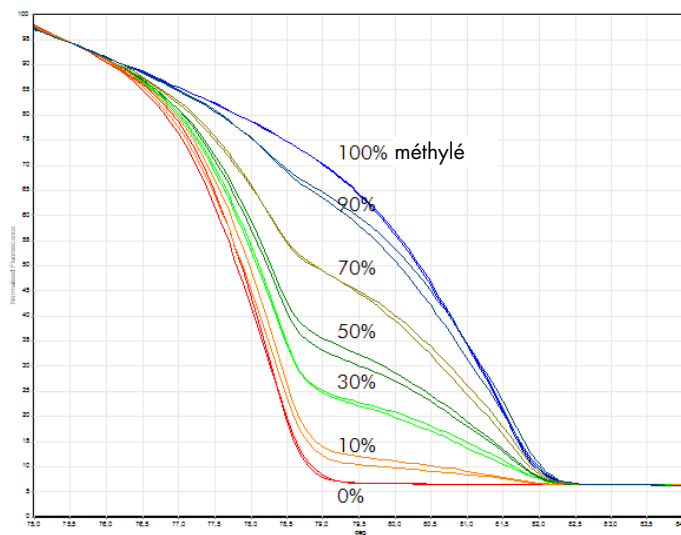
HRM Results - HRM A.HRM (Page 1)				
No.	C	Name	Genotype	Confidence %
22	AA	Human SNP rs60031276	homo AA	100,00
23	unknown		homo AA	99,49
24	unknown		homo AA	99,76
28	AG	Human SNP rs60031276	hetero AG	100,00
29	unknown		hetero AG	99,49
30	unknown		hetero AG	98,47
34	GG	Human SNP rs60031276	homo GG	100,00
35	unknown		homo GG	98,80
36	unknown		homo GG	99,53

Génotypage de SNP par HRM. Le SNP humain rs60031276 (substitution de A à G) dans le gène PPP1R14B (protéine-phosphatase 1, sous-unité régulatrice 14B [inhibiteur]) a été analysé sur le Rotor-Gene Q avec 10 ng d'ADN génomique de différents génotypes et le Type-it HRM Kit. Les échantillons de type sauvage homozygote (AA), mutant homozygote (GG) et hétérozygote (AG) apparaissent sur l'illustration **A** sous forme de courbe de fusion normalisée standard et sur l'illustration **B** sous forme de tracé de différence normalisé par rapport aux échantillons de type sauvage. Sur l'illustration **C**, le logiciel Rotor-Gene Q a attribué les génotypes pour les échantillons inconnus.

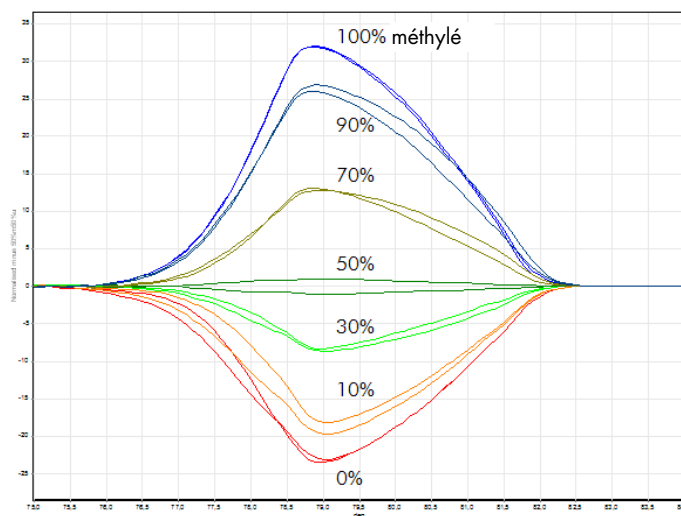
## 10.4 Exemple d'analyse de méthylation

Sur l'exemple suivant, l'EpiTect HRM PCR Kit a été utilisé pour une analyse de HRM afin de distinguer divers taux d'ADN méthylé et non méthylé. Pour tout détail technique, consultez le *Manuel d'EpiTect HRM PCR*.

**A**



**B**



Analyse de méthylation quantitative par HRM. Divers taux d'ADN-APC (adenomatosis polyposis coli) méthylé et non méthylé ont été analysés et soumis à une analyse de méthylation par HRM sur le Rotor-Gene Q avec l'EpiTect HRM Kit. Sur l'illustration **A**, on observe une courbe de fusion normalisée standard et sur l'illustration **B** un tracé de différence normalisé par rapport à l'échantillon méthylé à 50 %.

## 10.5 Recommandations pour une analyse de HRM réussie

La réussite d'une analyse de HRM dépend en grande partie de la séquence spécifique qui est analysée. Certains motifs de séquence, tels que les boucles en épingle à cheveux ou autres structures secondaires, les régions localisées ayant un taux de GC anormalement élevé ou faible ou les séquences répétées, peuvent affecter les résultats. De plus, en utilisant les kits standardisés et les protocoles optimisés de QIAGEN, vous pouvez surmonter bon nombre des obstacles éventuels. Voici quelques recommandations simples pour vous aider à réussir votre analyse.

### **Analyser de petits fragments d'ADN**

Vous pouvez analyser des fragments de l'ordre de 250 pb environ. Vous pouvez analyser sans problème des produits de taille supérieure, mais la résolution est généralement moindre. À titre d'exemple, une seule variation de base a un effet plus important sur le comportement de fusion d'un amplicon de 100 pb que sur un amplicon de 500 pb.

### **S'assurer que la PCR contient uniquement le produit spécifique**

Des échantillons contaminés par des artefacts post-PCR, comme les dimères d'amorce ou les produits non spécifiques, peuvent compliquer l'interprétation des résultats de la HRM. Les kits de QIAGEN pour l'analyse de HRM garantissent une spécificité maximale sans aucune optimisation nécessaire.

### **Utiliser une matrice de préamplification suffisante**

L'analyse des données de real-time PCR peut se révéler très utile lors du dépannage des analyses de HRM. Les tracés d'amplification doivent avoir une valeur de  $C_T$  (cycle seuil) inférieure ou égale à 30 cycles. Les produits qui amplifient ultérieurement (en raison d'une matrice de départ de faible quantité ou d'une dégradation de la matrice) donnent en général des résultats de HRM variables compte tenu des artefacts de PCR.

### **Normaliser la concentration de la matrice**

La quantité de matrice ajoutée à la réaction doit être homogène. Normalisez les concentrations de départ de sorte que tous les tracés d'amplification soient à moins de 3 valeurs de  $C_T$  les uns des autres. Cela garantit des concentrations de départ dans une plage de  $\times 10$ .



### **Vérifier les tracés d'amplification aberrants**

Avant d'effectuer une HRM, examinez attentivement les données des tracés d'amplification pour détecter une éventuelle forme anormale. Les tracés qui présentent une phase log-linéaire non abrupte, qui sont irréguliers ou qui atteignent un plateau de signal faible par rapport à d'autres réactions peuvent indiquer une amplification médiocre ou un signal de fluorescence trop faible (cela peut se produire si la concentration de l'amorce était trop faible). Les réactions médiocres peuvent être dues à des inhibiteurs de réaction ou à une préparation incorrecte de la réaction. Les données de HRM issues de tels échantillons peuvent être non concluantes ou de faible résolution. Pour éviter des résultats non fiables, nous recommandons les kits QIAGEN pour la préparation des échantillons et l'analyse de HRM.

### **Conserver des concentrations d'échantillons post-amplification similaires**

La concentration d'un fragment d'ADN a une incidence sur sa température de fusion ( $T_m$ ). C'est pourquoi les concentrations d'ADN de l'échantillon doivent rester similaires autant que possible. Lorsque vous analysez des produits de PCR, assurez-vous que chaque réaction a amplifié jusqu'à la phase de plateau. Au niveau du plateau, toutes les réactions doivent avoir amplifié de façon similaire, quelle que soit la quantité de départ. Notez toutefois que les réactions médiocres peuvent ne pas atteindre le plateau avec la même quantité amplifiée en raison, par exemple, d'une configuration de dosage incorrecte (p. ex. la concentration d'amorce était trop faible).

### **Veiller à l'uniformité d'un échantillon à l'autre**

Tous les échantillons doivent être de volume égal et contenir la même concentration de colorant. Le comportement de fusion de l'ADN est perturbé par les sels dans le mélange réactionnel, il est donc important que la concentration de tampon, Mg et autres sels soit aussi uniforme que possible dans tous les échantillons. De même, utilisez uniquement des tubes de réaction identiques d'un même fabricant pour éviter les variations dues à l'épaisseur du plastique et aux propriétés d'autofluorescence.

### **Permettre une collecte de données suffisante pour les phases de préfusion et post-fusion**

Capturez les points de données de HRM sur une plage d'environ 10 °C, centrée autour de la  $T_m$  observée (voir la figure page 10). Cela vous donnera une base de points de données suffisante pour une normalisation de courbe efficace, cela permettra aussi des répliquats plus reproductibles et facilitera l'interprétation des données.

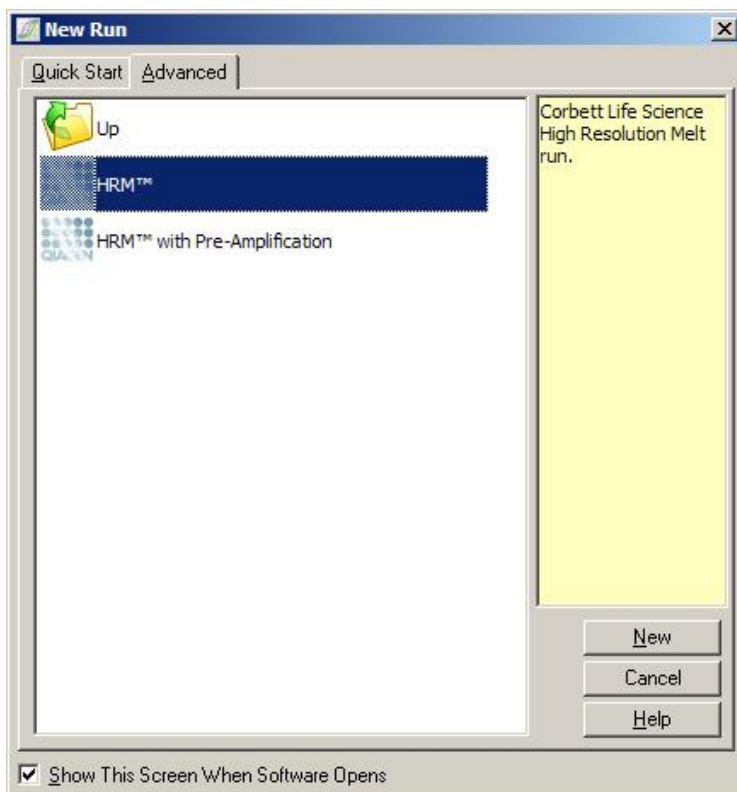
## 10.6 Préparation des échantillons

Vous devez éviter toute dégradation des échantillons au cours de la purification et de la conservation. Évitez les quantités excessives d'inhibiteurs, en raison d'un transfert d'éthanol par exemple. Pour améliorer les résultats de HRM, nous vous recommandons d'utiliser à peu près la même quantité de matrice d'un échantillon à l'autre. L'analyse spectrophotométrique est recommandée pour déterminer la concentration et la pureté de l'ADN. Nous vous recommandons les kits QIAGEN pour la préparation des échantillons.

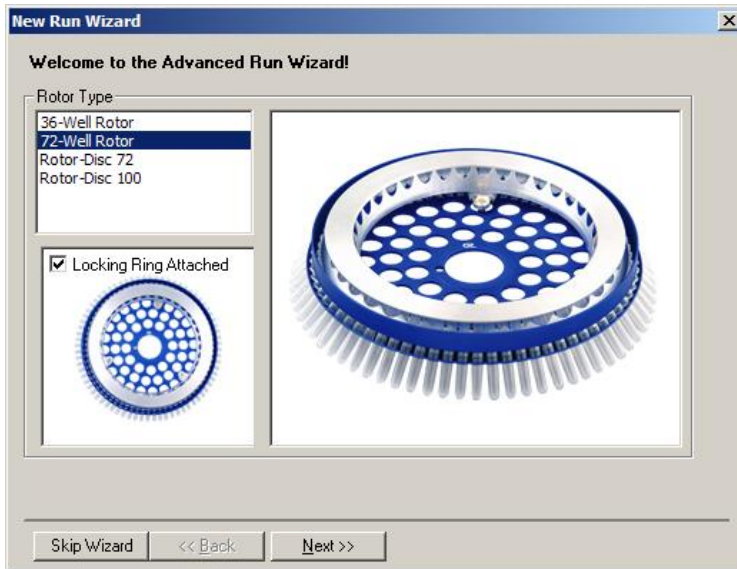
Remarque : à 260 nm, une unité d'absorbance est égale à 50 µg d'ADN/ml. L'ADN pur donne un ratio de 260 nm à 280 nm de 1,8.

## 10.7 Configuration du logiciel

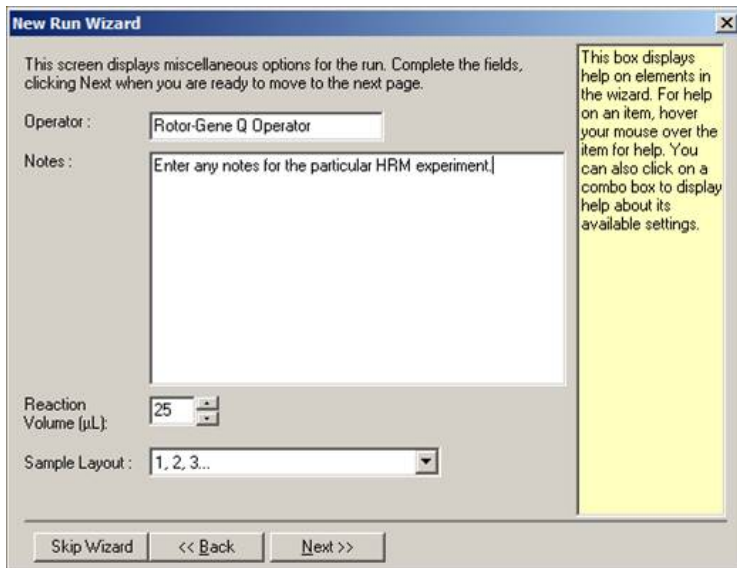
1. Ouvrez un nouveau fichier de cycle d'exécution en sélectionnant New... (Nouveau...) dans le menu File (Fichier). Dans l'assistant avancé, sélectionnez HRM.



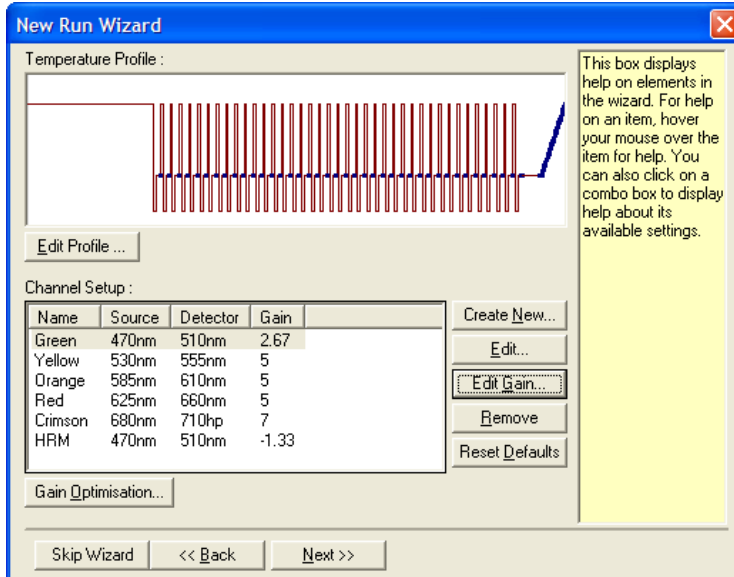
2. Définissez le type de rotor (sur cet exemple, le 72-Well Rotor est utilisé). Assurez-vous que la bague de verrouillage est bien en place et que la case Locking Ring Attached (Bague de verrouillage posée) est cochée avant de passer à l'étape suivante.



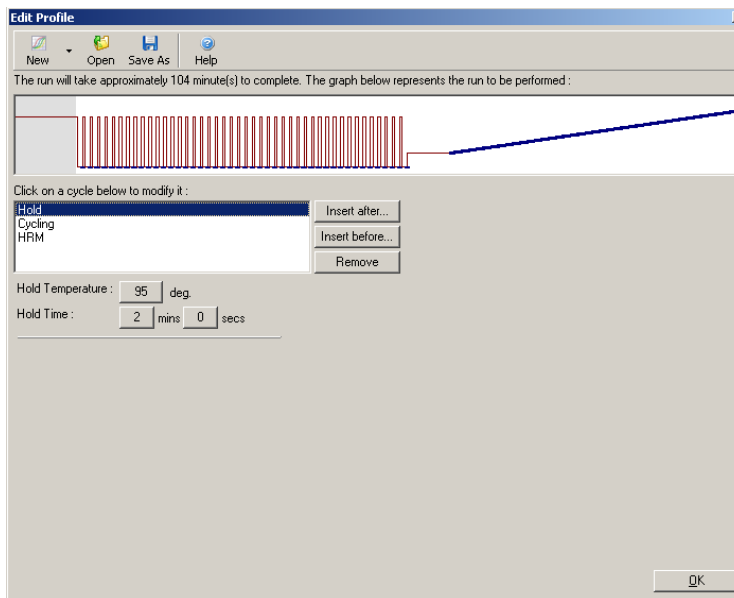
3. Définissez les détails du cycle d'exécution. Saisissez le nom de l'opérateur (facultatif) et ajoutez d'éventuelles remarques sur l'expérience (facultatif). Sélectionnez le volume réactionnel (obligatoire) ainsi que la disposition des échantillons souhaitée.



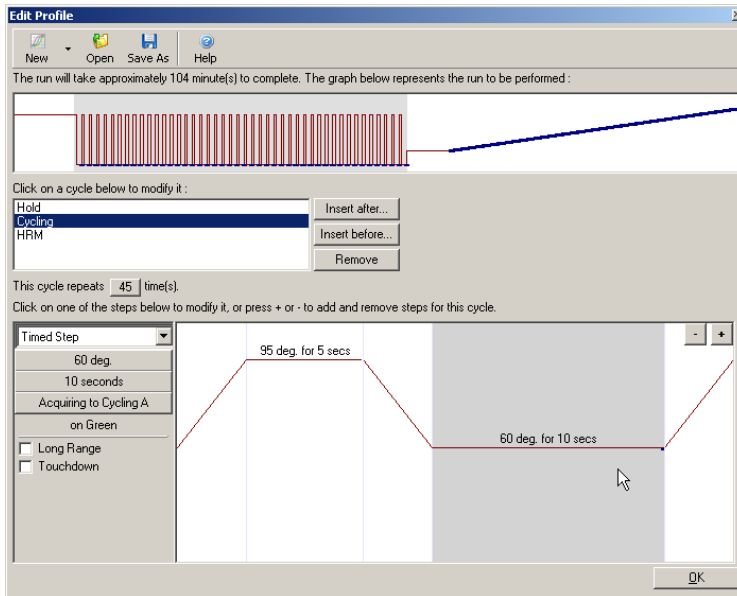
4. Cliquez sur le bouton Edit Profile... (Modifier le profil...) pour modifier les durées et les températures de la réaction.



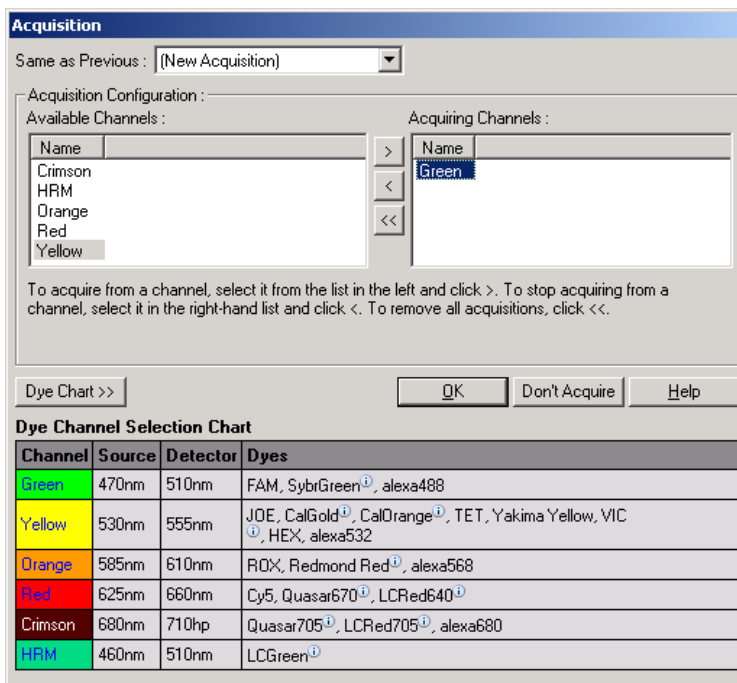
5. Définissez une durée de maintien initiale adaptée. Cette durée dépend du type d'ADN polymérase utilisé. Le Type-it HRM PCR Kit et l'EpiTect HRM PCR Kit nécessitent une durée d'activation de 5 minutes. La durée d'activation par défaut est de 10 minutes.



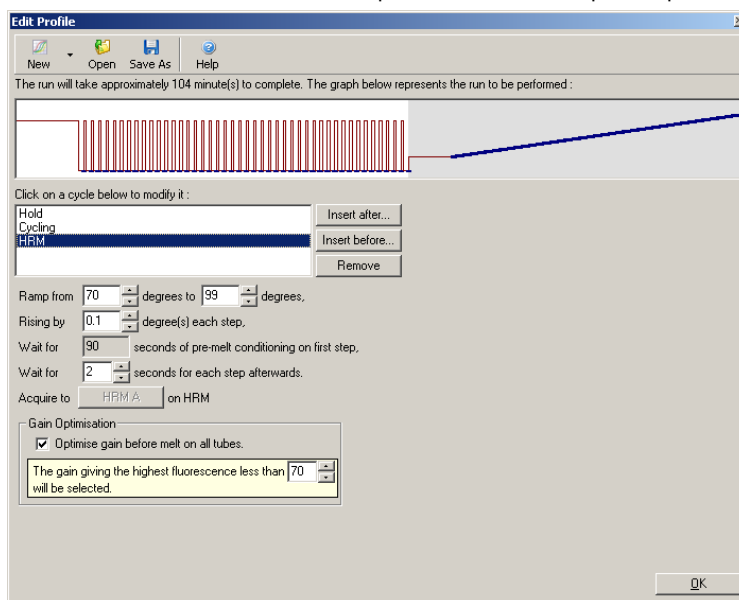
6. Modifiez les cycles par rapport à l'amplicon.



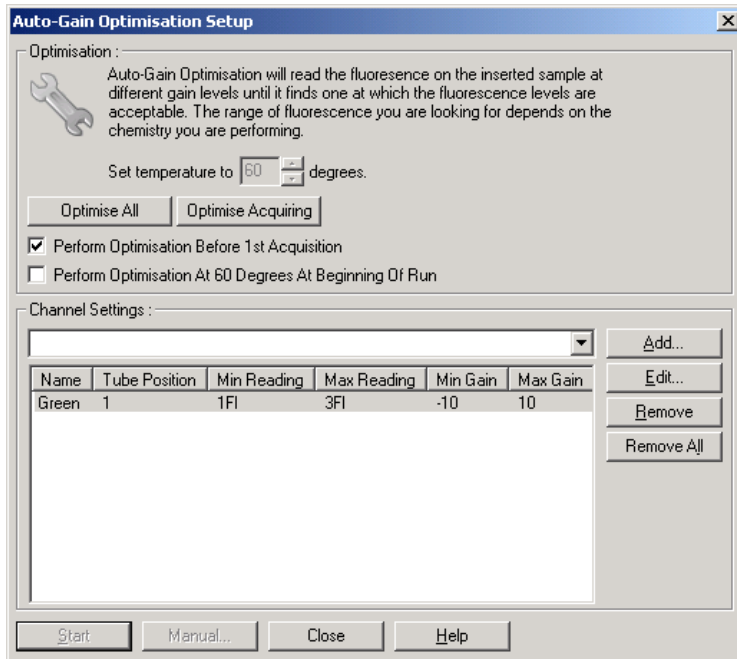
7. Veillez à pouvoir acquérir les données de fluorescence. Acquérez les données sur le canal vert à la fin du palier de renaturation.



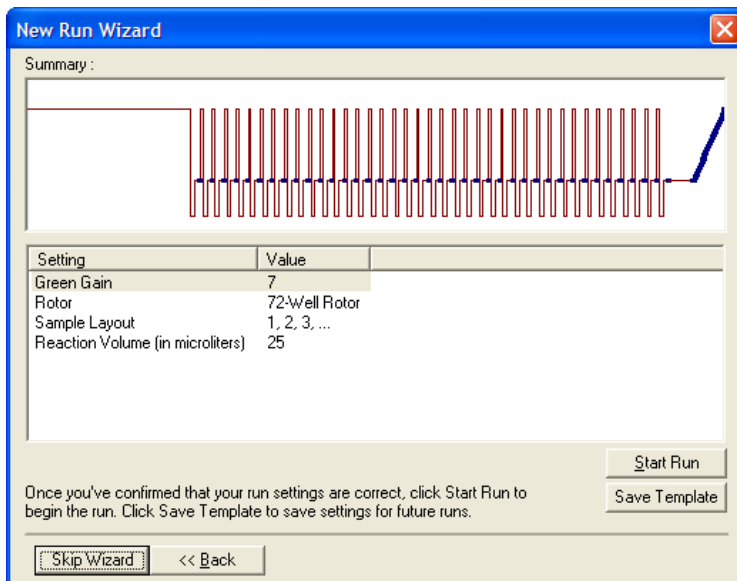
8. Définissez les conditions du cycle d'exécution de HRM. Modifiez les conditions par rapport à l'amplicon. Pour la première série d'expériences, laissez un large domaine de fusion. Utilisez la  $T_m$  théorique pour définir une plage adaptée. Une fois que vous avez déterminé où le produit va fusionner, réduisez le domaine de fusion à 10 °C maximum. Veillez à ce que le début de la fusion survienne à 5 °C avant la première transition de la fusion. La rampe par défaut est définie à 0,1 °C avec un maintien de 2 s à chaque palier. La transition de rampe minimale est de 0,05 °C avec un second maintien à chaque palier. Les données sont automatiquement acquises sur le canal de HRM. L'optimisation du gain automatique est réalisée par défaut. Le logiciel recherche le paramètre de gain optimal afin que la valeur de fluorescence maximale rapportée ne dépasse pas 70 unités sur une échelle de 100. Notez que cette dernière ne peut dépasser 100.



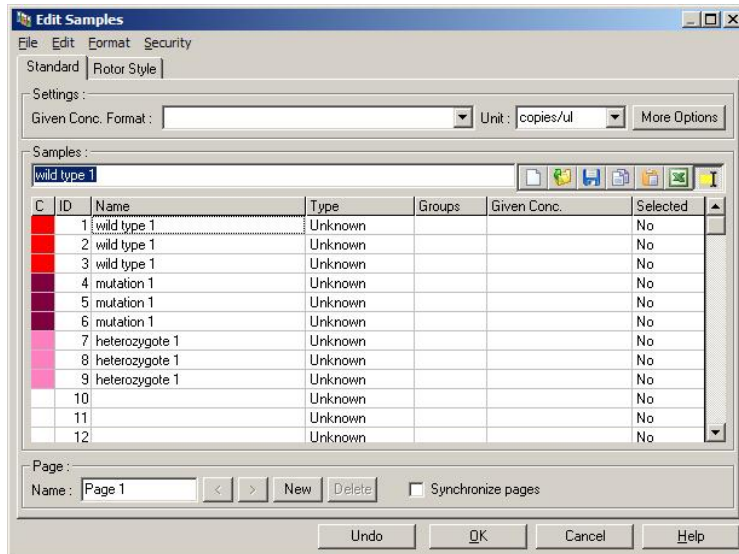
9. Facultatif : définissez l'optimisation du gain automatique. Cela ne s'applique qu'au palier d'amplification en temps réel et est défini pour le canal vert. Cliquez sur le bouton Optimize Acquiring (Optimiser l'acquisition) (pour optimiser uniquement les canaux utilisés par un cycle d'exécution). L'optimisation est optimale si elle est effectuée juste avant la première acquisition, cochez pour cela la case Perform Optimization Before First Acquisition (Effectuer l'optimisation avant la première acquisition). La plage de fluorescence de fond recommandée pour les colorants intercalants est entre 1 et 3 unités de fluorescence. Pour changer ce paramètre, cliquez sur le nom du canal à sélectionner dans la liste puis cliquez sur le bouton Edit (Modifier).



10. Démarrez le cycle d'exécution en cliquant sur Start Run (Démarrer le cycle) puis enregistrez le fichier du cycle d'exécution sur votre ordinateur.



1. Modifiez les noms des échantillons (facultatif). Vous pouvez modifier les noms des échantillons pendant ou après un cycle d'exécution.

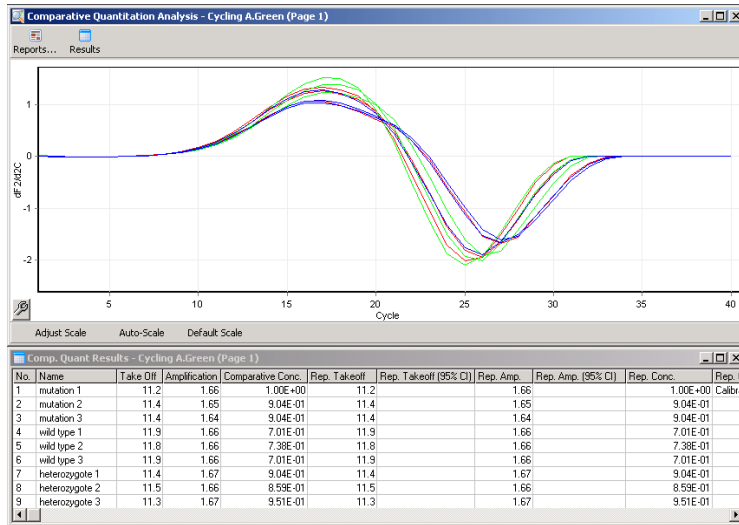


## 10.8 Analyse des données de real-time PCR

Il est intéressant d'analyser les données de real-time PCR avant d'analyser les données de HRM. Les données de real-time PCR peuvent mettre en évidence des dosages peu performants. En identifiant ces valeurs aberrantes et en les écartant de l'analyse de HRM à venir, vous améliorez nettement l'efficacité globale de l'analyse de HRM, car l'analyse d'un produit de PCR de qualité médiocre donnera des résultats de HRM médiocres. Nous vous recommandons d'analyser les données de real-time PCR quantitative comme suit.

1. Analysez les données en temps réel à l'aide de l'option Quantitation (Quantification) dans la fenêtre Analysis (Analyse). Si l'une des valeurs de  $C_T$  est d'au moins 30, on considère que les réactions correspondantes ont amplifié trop tard. Vous devez analyser ces échantillons avec méfiance ou les éliminer de l'analyse en tant que valeurs aberrantes. L'amplification tardive est souvent due à une quantité de matrice de départ trop faible et/ou à des niveaux élevés de dégradation de l'échantillon.
2. Évaluez le niveau de fluorescence finale. Si la fluorescence finale sur l'un des tracés d'amplification est faible comparée à la plupart des tracés de la série de données, éliminez ces échantillons de l'analyse même si leur valeur de  $C_T$  est inférieure à 30. Une fluorescence finale faible peut indiquer une quantité incorrecte de colorant, des taux incorrects de composants réactionnels (comme les amorces) ou l'action d'inhibiteurs.
3. Utilisez l'option Comparative Quantitation (Quantification comparative) dans la fenêtre Analysis (Analyse) pour obtenir l'efficacité de la réaction de chaque échantillon. Si l'efficacité n'est pas similaire à d'autres réactions de l'expérience ou si elle est inférieure à 1,4 environ, éliminez la réaction en tant que valeur aberrante.





Résultats de la quantification comparative. L'efficacité de la réaction apparaît dans la colonne « Amplification » sous forme de score sur 2 (2 = 100 % d'efficacité).

Remarque : si vous suspectez la présence de dimères d'amorce ou de produits non spécifiques, évaluez les réactions en réalisant un tracé de dérivée à l'aide de l'option Melt (Fusion) dans la fenêtre Analysis (Analyse). Assurez-vous qu'il y a un pic unique, qui indique un produit unique. Si possible, exécutez un gel pour vérifier qu'il y a un seul produit d'amplification. S'il y en a plusieurs, vous devez répéter la réaction ou l'optimiser de nouveau.

## 10.9 Analyse des données de HRM

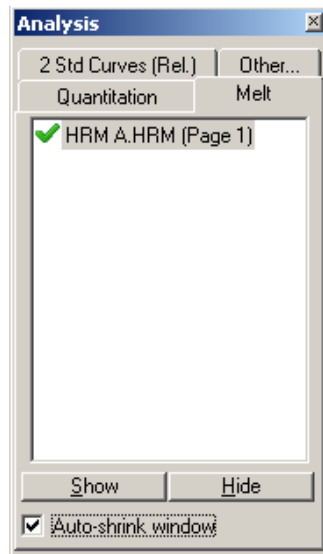
L'analyse de HRM permet d'appeler visuellement et automatiquement des génotypes. Les résultats peuvent être visualisés sous forme de tracé de fusion normalisé ou de tracé de différence. Les courbes normalisées offrent la représentation de base des différents génotypes en fonction du déplacement de la courbe (pour les homozygotes) et du changement de forme de la courbe (pour les hétérozygotes).

Les tracés de différence permettent une interprétation visuelle. Ils représentent la différence de fluorescence d'un échantillon par rapport à un contrôle sélectionné à chaque transition de la température. Les tracés de différence proposent une autre visualisation des différences entre les transitions de la courbe de fusion.

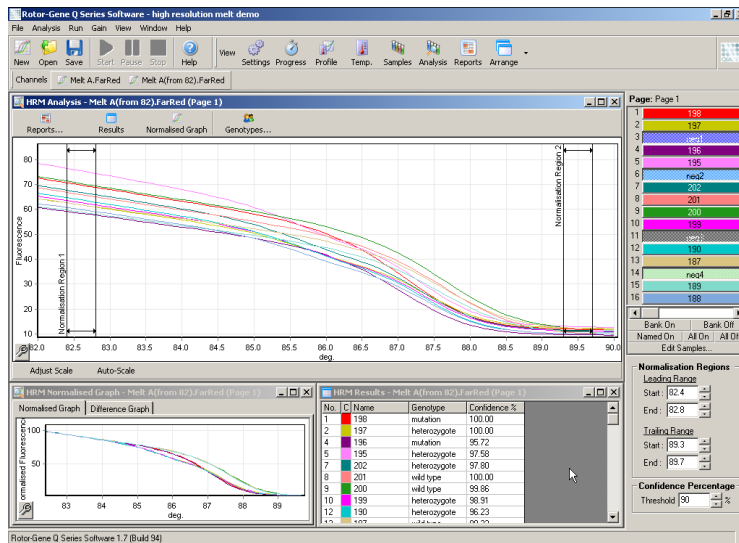
Remarque : l'analyse de courbe de fusion de dérivée première (utilisée par l'option standard Melt [Fusion] dans la fenêtre Analysis [Analyse]) est considérée comme inadaptée à l'analyse de HRM. C'est parce que toute dérivation des données ajoute un bruit artificiel et complique l'interprétation des données.

Les étapes suivantes décrivent l'analyse des résultats de HRM avec le logiciel Rotor-Gene Q.

1. Sélectionnez l'option HRM dans la fenêtre Analysis (Analyse).

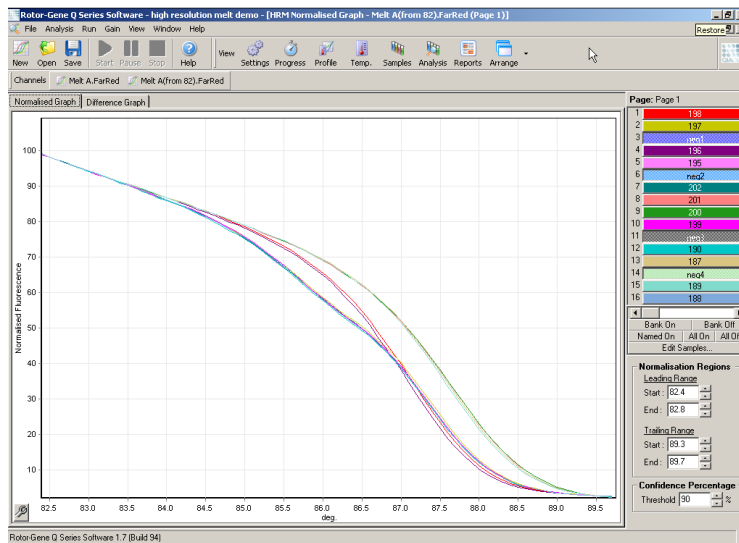


2. Des fenêtres affichant les données brutes, le graphique normalisé et les résultats apparaissent. La fenêtre des données brutes permet d'ajuster les régions de normalisation. La normalisation vous permet de comparer toutes les courbes avec le même niveau de signal de fluorescence de début et de fin, ce qui facilite l'interprétation et l'analyse. Deux curseurs par région sont proposés, ils se trouvent par défaut aux extrémités de la courbe. Les points de données dans les régions permettent de normaliser la fluorescence (axe y seulement) pour le début (région 1) et la fin (région 2) du tracé de fusion. Les données extérieures aux régions définies sont ignorées. Adaptez les régions pour qu'elles englobent les données de base représentatives pour les phases de préfusion et de post-fusion. En élargissant les régions (en cliquant et en faisant glisser), vous permettez au logiciel d'ajuster la pente de la ligne de base. Pour vous assurer que les courbes sont efficacement normalisées, évitez d'élargir les régions de normalisation dans la phase de fusion.

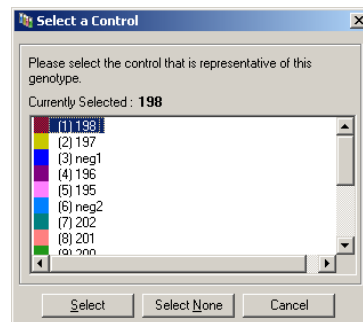
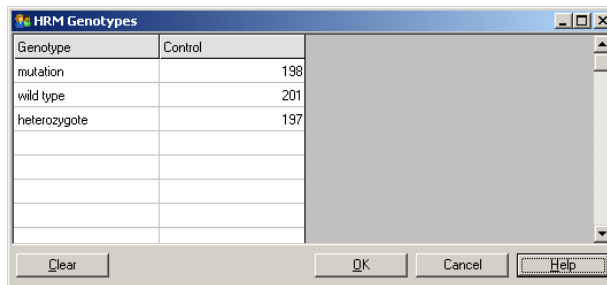


Remarque : nous vous recommandons de ne déplacer les curseurs que si vous voulez éviter des zones de la courbe de fusion. Tout déplacement des curseurs vers les transitions de la phase de fusion peut affecter les tracés de soustraction et les pourcentages de confiance.

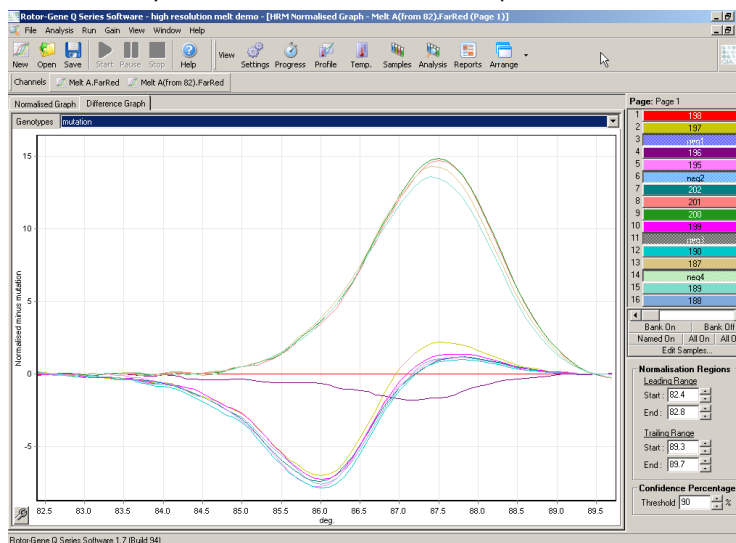
3. La fenêtre Normalised Graph (Graphique normalisé) affiche les courbes de fusion normalisées. Vous pouvez aussi visualiser les échantillons sous forme de tracé de différence par rapport à l'un des contrôles.



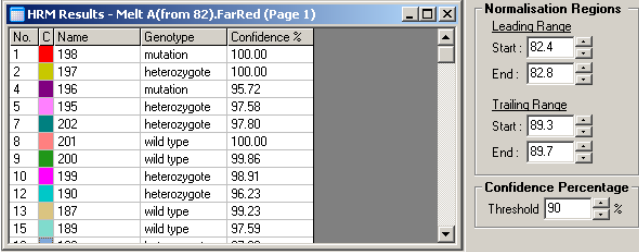
4. Cliquez sur le bouton Genotypes... (Génotypes...) pour définir les génotypes. Saisissez le nom de chaque catégorie de génotype puis sélectionnez un échantillon représentatif pour chacune d'elles dans la liste des échantillons.



5. Affichez le tracé de différence en sélectionnant l'onglet Difference Graph (Graphique de différence). Sélectionnez ensuite le génotype auquel vous souhaitez comparer tous les autres échantillons à l'aide du menu déroulant en haut de la fenêtre. Sur l'exemple suivant, tous les échantillons sont représentés déduits d'un tracé de moyenne de tous les échantillons marqués Mutation 1.



6. Le logiciel appelle automatiquement les génotypes dans la fenêtre Results (Résultats). Une valeur de confiance est affichée, comme une vérification de l'intégrité des résultats appelés automatiquement. Vous pouvez modifier la valeur de seuil, au-dessus de laquelle les appels sont effectués automatiquement. Les échantillons inférieurs au seuil défini sont marqués comme variation à des fins de recherche ou de test supplémentaire.



The screenshot shows the 'HRM Results - Melt A(from 82).FarRed (Page 1)' window. It contains a table with columns for 'No.', 'C', 'Name', 'Genotype', and 'Confidence %'. To the right of the table is a 'Normalisation Regions' panel with 'Leading Range' and 'Trailing Range' settings, and a 'Confidence Percentage' threshold set to 90%.

No.	C	Name	Genotype	Confidence %
1		198	mutation	100.00
2		197	heterozygote	100.00
4		196	mutation	95.72
5		195	heterozygote	97.58
7		202	heterozygote	97.80
8		201	wild type	100.00
9		200	wild type	99.86
10		199	heterozygote	98.91
12		190	heterozygote	96.23
13		187	wild type	93.23
15		189	wild type	97.59

**Normalisation Regions**

Leading Range  
Start: 82.4  
End: 82.8

Trailing Range  
Start: 89.3  
End: 89.7

**Confidence Percentage**  
Threshold 90 %

# 11 Dépannage

Cette section fournit des informations sur la marche à suivre en cas d'erreur lors de l'utilisation du Rotor-Gene Q MDx System.

Si vous avez besoin d'une aide supplémentaire, contactez les services techniques QIAGEN en utilisant les coordonnées ci-dessous :

Site Internet : [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com)

Si vous contactez les services techniques QIAGEN pour signaler une erreur survenue avec le Rotor-Gene Q MDx, notez les étapes ayant précédé l'erreur et les informations qui s'affichent dans les boîtes de dialogue. Ces informations aideront les services techniques QIAGEN à résoudre le problème.

Rassemblez les informations suivantes avant de contacter les services techniques QIAGEN :

- Numéro de série, type et version du Rotor-Gene Q MDx
- Version du logiciel (s'il y a lieu)
- Date et heure à laquelle l'erreur s'est produite pour la première fois
- Fréquence de l'erreur (c.-à-d. erreur occasionnelle ou permanente)
- Description détaillée des circonstances de l'erreur
- Photo de l'erreur, si possible
- Copie des fichiers journaux

Ces informations permettront au technicien des services techniques QIAGEN de vous aider à régler le problème avec le maximum d'efficacité.

Remarque : les informations sur les dernières versions de logiciel et de protocole se trouvent sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Dans certains cas, des mises à jour répondant à certains problèmes sont disponibles.

## 11.1 Archives consignées

Le logiciel conserve une trace intacte de chaque cycle d'exécution, ainsi que les informations de diagnostic, dans son registre d'archives consignées. En utilisant l'option Help (Aide), Send Support Email (Envoyer un e-mail au support technique), vous pouvez envoyer aux services techniques QIAGEN un e-mail contenant toutes les informations de diagnostic nécessaires (consultez la section 6.12.1).

Pour économiser de l'espace disque, conservez uniquement les archives des 60 cycles d'exécution les plus récents. Les archives consignées des cycles plus anciens sont remplacées par les nouvelles.

## 11.2 Erreurs matérielles et logicielles

### 11.2.1 Dépannage de la HRM

#### Commentaires et suggestions

---

#### Impossible d'effectuer la HRM

Le modèle Rotor-Gene Q MDx n'est pas équipé pour la HRM

Contactez votre représentant QIAGEN local.

#### Aucune donnée de HRM obtenue

Configuration incorrecte

Vérifiez les paramètres de filtre.  
Vérifiez si le type de rotor est correct.  
Vérifiez si les réactifs utilisés sont les bons.  
Vérifiez si la réaction a été configurée correctement.  
Effectuez une expérience avec contrôle positif (autrement dit un dosage connu pour donner des résultats).

#### Les tracés semblent irréguliers

Amplification faible ou nulle

Vérifiez si les protocoles et réactifs utilisés sont les bons. Nous vous recommandons les kits QIAGEN pour l'analyse de HRM.  
Vérifiez si la réaction a été configurée correctement.  
Vérifiez les conditions de cycle.  
Vérifiez la qualité et la quantité de départ de la matrice. Nous vous recommandons les kits QIAGEN pour la préparation des échantillons.

#### Les tracés d'amplification ou de fusion sont saturés

Gain défini trop haut

Utilisez Auto-Gain Optimisation (Optimisation du gain automatique) (voir page 64).

#### Les pourcentages de confiance ont changé

Les régions de normalisation ont été déplacées par cliquer-glisser

Déplacez les régions de normalisation uniquement si nécessaire pour éviter certaines parties de la courbe de fusion.

#### Valeurs aberrantes dans les données

Préparation de la réaction incohérente

Vérifiez si les réactifs utilisés sont les bons.  
Vérifiez que les tubes utilisés sont uniformes.

Inhibiteurs présents dans l'échantillon

Vérifiez que le même mélange principal a été utilisé pour tous les échantillons.

Matrice insuffisante ou dégradée

Vérifiez la qualité et la quantité de départ de la matrice.

## 11.3 Messages d'erreur et d'avertissement

### 11.3.1 Erreurs générales de l'instrument

Messages d'erreur	Commentaires et suggestions
<b>Can't open the serial port</b> <COMPORT> (Impossible d'ouvrir le port série <COMPORT>)	Cette erreur survient au démarrage du logiciel si ce dernier ne parvient pas à communiquer avec l'instrument via le port COM configuré. Les causes les plus courantes sont les câbles défectueux, les câbles lâches, les ports série défectueux, les ports USB défectueux, un problème de pilote USB ou un problème de pilote du convertisseur USB vers série.  Reconnectez ou remplacez le câble. Réinstallez les pilotes qui conviennent. Démarrez le logiciel en Virtual Mode (Mode virtuel) puis sélectionnez le bouton Setup/Auto-Detect (Configuration/Détection automatique) dans le menu File (Fichier) pour réinitialiser le port COM configuré.
<b>Chamber lid open</b> (Capot de la chambre ouvert)  Could not continue run; the chamber lid was opened during a run. Please reset the machine, and restart the software. (Impossible de poursuivre le cycle d'exécution, le capot de la chambre a été ouvert en cours de cycle. Réinitialisez la machine puis redémarrez le logiciel.)	Cette erreur survient lorsque le logiciel détecte l'ouverture du capot en cours de cycle d'exécution.  Réinitialisez la machine puis redémarrez le logiciel.
<b>Chamber lid open</b> (Capot de la chambre ouvert)  The instrument chamber lid is open. Please close the lid and then click Continue. (Le capot de la chambre de l'instrument est ouvert. Fermez le capot puis cliquez sur Continuer.)	Cette erreur survient lorsque l'utilisateur essaie de lancer un cycle d'exécution alors que le capot de l'instrument est ouvert.  Fermez le capot de la chambre de l'instrument puis cliquez sur Continue (Continuer).
<b>Communication corrupted</b> (Communication corrompue)	Cette erreur survient lorsque les données reçues de l'instrument ne correspondent pas à ce qui était prévu.  Un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN doit effectuer des recherches supplémentaires pour diagnostiquer le problème avec l'instrument. Contactez votre distributeur ou les services techniques QIAGEN.
<b>Communication out of sequence</b> (Communication hors séquence)  Instrument has received data from the machine that is out of sequence. (L'instrument a reçu de la machine des données hors séquence.)	Cette erreur survient lorsque les données reçues de l'instrument ne sont pas dans le bon ordre.  Un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN doit effectuer des recherches supplémentaires pour diagnostiquer le problème avec l'instrument. Contactez votre distributeur ou les services techniques QIAGEN.
<b>Communication protocol error</b> (Erreur de protocole de communication)  A communication protocol error occurred with this run. (Une erreur de protocole de communication est survenue avec ce cycle d'exécution.)	Cette erreur survient lorsque le protocole de communication configuré dans le micrologiciel n'est pas le protocole prévu.  Un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN doit effectuer des recherches supplémentaires pour diagnostiquer le problème avec le protocole de communication ou l'instrument.
<b>Detector motor jam, stopped machine</b> (Le moteur du détecteur s'est grippé, machine arrêtée)	Cette erreur survient lorsque le Rotor-Gene Q MDx est démarré immédiatement après la livraison dans une zone climatique froide.  Dans ce cas, laissez l'instrument revenir à température ambiante pendant au moins une heure avant de le mettre sous tension.  Si l'erreur persiste, contactez votre distributeur ou les services techniques QIAGEN.



Messages d'erreur	Commentaires et suggestions
<p><b>Fatal hardware malfunction</b> (Défaillance matérielle fatale)</p> <p>The instrument detected that there was a fatal hardware malfunction. Do not attempt to re-use the machine until the machine has been serviced by your distributor. (L'instrument a détecté une défaillance matérielle fatale. N'essayez pas de réutiliser la machine tant qu'elle n'a pas été réparée par votre distributeur.)</p>	<p>Cette erreur survient lorsque le logiciel détecte une défaillance matérielle fatale et lance une procédure d'autoprotection permettant de mettre la machine hors tension.</p> <p>Mettez immédiatement l'instrument hors tension et contactez votre distributeur ou les services techniques QIAGEN.</p>
<p><b>Machine error</b> (Erreur machine)</p> <p>This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from. Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file. (Ce cycle d'exécution a été arrêté en raison d'erreurs machine irrécupérables. Contactez votre distributeur si ces erreurs surviennent de nouveau, en joignant un fichier d'archive.)</p>	<p>Cette erreur survient lorsque le logiciel détecte des erreurs sur la machine qui ne peuvent être récupérées. Le logiciel arrête le cycle d'exécution.</p> <p>Essayez un nouveau cycle d'exécution. Si le problème persiste, contactez votre distributeur ou les services techniques QIAGEN et joignez un fichier d'archive.</p>
<p><b>Machine unplugged</b> (Machine débranchée)</p> <p>The instrument is not responding and failed with the message &lt;ERROR MESSAGE &gt;. This is an unrecoverable failure, please reset the instrument and restart the software. (L'instrument ne répond pas, le message &lt;MESSAGE D'ERREUR&gt; est affiché. Il s'agit d'une erreur irrécupérable, réinitialisez l'instrument et redémarrez le logiciel.)</p>	<p>Cette erreur survient si l'instrument ne parvient pas à communiquer avec le logiciel après un délai déterminé. Cela est souvent dû à une défaillance de l'instrument ou à une activité excessive du PC, qui entraîne la perte d'un paquet.</p> <p>Les causes courantes liées au logiciel incluent notamment les tâches exigeant d'importantes ressources processeur, comme la protection antivirus résidente ou les analyses antivirus programmées, les cartes sans fil ou les cartes infrarouges.</p> <p>Désactivez ou désinstallez le logiciel/la tâche exigeant d'importantes ressources processeur.</p> <p>Réinitialisez l'instrument puis redémarrez le logiciel.</p> <p>Contactez votre distributeur ou les services techniques QIAGEN si le problème persiste.</p>
<p><b>Machine unplugged</b> (Machine débranchée)</p> <p>The instrument is not connected to your computer on &lt;PORT NAME&gt;. Reconnect the serial cable to the back of the computer and then click Continue. (L'instrument n'est pas connecté à l'ordinateur via &lt;NOM DU PORT&gt;. Rebranchez le câble série à l'arrière de l'ordinateur puis cliquez sur Continuer.)</p>	<p>Cette erreur survient lorsque la communication série ou USB avec l'instrument est perdue.</p> <p>Rebranchez le câble série ou USB à l'arrière de l'ordinateur puis cliquez sur le bouton Continuer (Continuer).</p>
<p><b>Object variable or with block variable not set</b> (Variable objet ou variable de bloc With non définie)</p>	<p>Cette erreur survient au démarrage du logiciel si le fichier de modèle d'expérience par défaut est corrompu. Cela peut arriver si vous arrêtez le logiciel/l'ordinateur sans le fermer correctement, par exemple lors d'une panne de courant.</p> <p>Supprimez le fichier C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret puis redémarrez le logiciel.</p>
<p><b>Rotor speed failure</b> (Problème de vitesse du rotor)</p> <p>Time out while setting the rotor speed. (Dépassement du délai lors du réglage de la vitesse du rotor.)</p>	<p>Cette erreur survient lorsque le logiciel essaie de régler la vitesse du rotor et échoue à régler la vitesse cible dans le délai imparti.</p> <p>Un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN doit effectuer des recherches supplémentaires pour diagnostiquer le problème avec l'instrument.</p> <p>Contactez votre distributeur ou les services techniques QIAGEN.</p>

## Messages d'erreur

## Commentaires et suggestions

### **Serial port in use** (Port série déjà utilisé)

The serial port is currently being used by another application. Close any applications such as communications or synchronization software and then retry. (Le port série est déjà utilisé par une autre application. Fermez toutes les applications de type logiciel de communication ou de synchronisation puis réessayez.)

### **Shutdown timeout** (Délai d'attente d'arrêt)

The instrument has exceeded the expected time to shutdown. Please reset the machine, and reset the software. (L'instrument a dépassé le délai d'attente prévu pour l'arrêt. Réinitialisez la machine puis le logiciel.)

### **Temperature protection activated** (Protection de la température activée)

The instrument detected that the chamber temperature increased above a safe level. It has therefore entered a self-protection mode. Please turn off the instrument and contact your distributor if the problem persists. (L'instrument a détecté une augmentation de la température de la chambre supérieure au seuil de sécurité. Il est donc passé en mode d'autoprotection. Mettez l'instrument hors tension et contactez votre distributeur si le problème persiste.)

### **Thermistor is open**

(Thermistance ouverte)

The instrument detected that the thermistor is open, and so to prevent damage to the machine, it has been turned off. Please contact your distributor if this occurs again. (L'instrument a détecté l'ouverture de la thermistance, la machine a donc été mise hors tension pour empêcher tout dommage. Contactez votre distributeur si ce problème survient de nouveau.)

### **Unrecoverable errors occurred**

(Des erreurs irrécupérables se sont produites)

This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from. Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file. (Ce cycle d'exécution a été arrêté en raison d'erreurs machine irrécupérables. Contactez votre distributeur si ces erreurs surviennent de nouveau, en joignant un fichier d'archive.)

Cette erreur survient lorsque le logiciel essaie de se connecter à la machine sur le port COM configuré alors que celui-ci est déjà utilisé par un autre logiciel.

Fermez toutes les applications de type logiciel de communication ou de synchronisation puis réessayez.

Cette erreur survient lorsque le logiciel lance une commande d'arrêt pour arrêter l'instrument, mais que la machine continue à renvoyer des données après un délai prévu.

Réinitialisez la machine puis redémarrez le logiciel.

Cette erreur survient lorsque le logiciel détecte une augmentation de la température de la chambre supérieure au seuil de sécurité et active en conséquence une procédure d'autoprotection.

Mettez immédiatement l'instrument hors tension et contactez votre distributeur ou les services techniques QIAGEN.

Cette erreur survient lorsque le logiciel détecte que la thermistance est ouverte et ne peut donc pas lire la température. Le logiciel active en conséquence une procédure d'autoprotection permettant de mettre la machine hors tension.

Mettez immédiatement l'instrument hors tension et contactez votre distributeur ou les services techniques QIAGEN.

Cette erreur survient en cours de cycle d'exécution après que le logiciel a tout tenté pour récupérer, en vain.

Un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN doit effectuer des recherches supplémentaires pour diagnostiquer le problème avec l'instrument.

Contactez votre distributeur ou les services techniques QIAGEN.

### 11.3.2 Messages du logiciel Rotor-Gene Q

Voici une liste de messages d'utilisation, d'avertissement et d'autres types susceptibles d'apparaître dans le logiciel Rotor-Gene lors de l'utilisation du matériel et du logiciel. Toute partie du message qui est une variable, comme les descriptions des erreurs caractéristiques, est indiquée entre crochets (p. ex. <ERROR DESCRIPTION> (<DESCRIPTION DE L'ERREUR>)).

---

#### Énoncé du message

##### Messages généraux

- 1 A raw channel already exists for this page. If you would like to recreate this page, you must first delete the raw channel via the Options button and then try again. (Un canal brut existe déjà pour cette page. Si vous voulez recréer cette page, vous devez d'abord supprimer le canal brut via le bouton Options avant de réessayer.)
- 2 A serious problem has occurred which requires shutting down the software. After you click OK, your current work will be saved, and the machine will be turned off, if possible. If this problem persists, please contact your distributor. (Un problème grave nécessitant l'arrêt du logiciel est survenu. Une fois que vous aurez cliqué sur OK, votre travail en cours sera enregistré et la machine sera mise hors tension, si possible. Si ce problème persiste, contactez votre distributeur.)
- 3 Cannot delete this page. There must always be at least one sample page. (Impossible de supprimer cette page. Il doit toujours y avoir au moins une page d'échantillon.)
- 4 Can't connect to instrument on serial port <COMPORT>. Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry. (Impossible de se connecter à l'instrument via le port série <PORT COM>. Vérifiez si la machine est correctement branchée à l'arrière de l'ordinateur puis réessayez.)
- 5 Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument. Check you do not have any communications software open, then retry. (Impossible d'ouvrir le port série <PORT COM> pour se connecter à l'instrument. Assurez-vous qu'il n'y a aucun logiciel de communication ouvert puis réessayez.)
- 6 Could not save to run because some data on the form was invalid. Please check your entries then try again. (Impossible d'enregistrer le cycle d'exécution, certaines données du formulaire ne sont pas valides. Vérifiez vos entrées puis réessayez.)
- 7 Couldn't save file. Confirm the disk has enough space and that it is free of errors. (Impossible d'enregistrer le fichier. Confirmez que l'espace disque est suffisant et que le disque ne contient pas d'erreurs.)
- 8 E-mail application could not be started. Confirm that it has been correctly installed on your computer. (Impossible de démarrer l'application de messagerie. Confirmez qu'elle a été correctement installée sur l'ordinateur.)
- 9 Encountered an error during run: <ERROR DESCRIPTION>. The run will continue, and a message will be logged in the messages tab of Run Info. (Erreur survenue en cours de cycle d'exécution : <DESCRIPTION DE L'ERREUR>. Le cycle d'exécution va se poursuivre et un message sera consigné sous l'onglet des messages dans Informations sur le cycle d'exécution.)
- 10 Instrument was not detected. Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on. (Instrument non détecté. Assurez-vous d'avoir correctement connecté l'instrument et vérifiez qu'il est sous tension.)
- 11 Logging is currently disabled due to a previous error. Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted. (La journalisation est actuellement désactivée en raison d'une erreur antérieure. Les journaux archivés ne peuvent être affichés tant que le logiciel n'a pas redémarré.)
- 12 Not all samples could be normalised as the fluorescent level was too low. (Tous les échantillons n'ont pas pu être normalisés, car le niveau de fluorescence était trop faible.)
- 13 Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported. (Seuls les cycles d'exécution effectués avec un rotor identique à celui du cycle en cours peuvent être importés.)
- 14 Please note that log files for the current run will not be available until it has completed. (Notez que les fichiers journaux du cycle d'exécution en cours ne sont pas disponibles avant la fin du cycle.)
- 15 Please type valid number of times to repeat. It should be more than 0. (Saisissez un nombre de répétitions valide. Il doit être supérieur à 0.)
- 16 Problem encountered while updating log data. Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run. (Problème rencontré pendant la mise à jour des données de journal. La journalisation a été désactivée, mais sera réactivée au cycle d'exécution suivant.)

## Énoncé du message

- 17 Run file signing ensures the integrity of your run results. Information about a run's signature can be found in the Run Info window. (La signature des fichiers de cycle d'exécution assure l'intégrité de vos résultats de cycle. Vous trouverez des informations sur la signature d'un cycle d'exécution dans la fenêtre Informations sur le cycle d'exécution.)
- 18 Sample ID is locked. Cannot paste over locked samples. (L'ID d'échantillon est verrouillé. Impossible de coller sur des échantillons verrouillés.)
- 19 TeeChart Office has not been installed on this computer. Please re-install the Rotor-Gene software. (TeeChart Office n'a pas été installé sur cet ordinateur. Réinstallez le logiciel Rotor-Gene.)
- 20 The COM port configured for the instrument is not selected. You must select a COM port. (Le port COM configuré pour l'instrument n'est pas sélectionné. Vous devez sélectionner un port COM.)
- 21 The loaded run file contains a signature which does not match the file contents. This means the file has either been corrupted, or tampered with since it was written by the Rotor-Gene software. (Le fichier de cycle d'exécution chargé contient une signature qui ne correspond pas au contenu du fichier. Cela signifie que le fichier est corrompu ou a été modifié depuis qu'il a été écrit par le logiciel Rotor-Gene.)
- 22 The loaded run file has no signature. The contents of this file cannot be guaranteed. (Le fichier de cycle d'exécution chargé n'a aucune signature. Le contenu de ce fichier ne peut être garanti.)
- 23 The Machine serial number is not valid. Serial numbers must be at least 6 digits long. (Le numéro de série de la machine n'est pas valide. Les numéros de série doivent contenir au moins 6 chiffres.)
- 24 The machine will now be cooled to <TEMPERATURE> degrees. The chamber and surfaces will still be very hot when opening the machine. Please exercise due caution and wear protective gloves if touching any of the surfaces or tubes. (La machine va à présent refroidir jusqu'à <TEMPÉRATURE> degrés. La chambre et les surfaces seront encore très chaudes à l'ouverture de la machine. Soyez prudent et portez des gants de protection pour toucher les surfaces ou les tubes.)
- 25 The regional settings for your computer are conflicting. Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching. (Les paramètres régionaux de votre ordinateur sont en conflit. Assurez-vous que les espaces réservés de monnaie et de numération décimale correspondent.)
- 26 The serial number entered in the welcome screen <SERIAL NUMBER1> does not match the serial number stored in the attached machine <SERIAL NUMBER2>. The computer's serial number has now been updated to match the connected machine. (Le numéro de série saisi sur l'écran de bienvenue <NUMÉRO DE SÉRIE 1> ne correspond pas à celui enregistré dans la machine connectée <NUMÉRO DE SÉRIE 2>. Le numéro de série de l'ordinateur a été mis à jour pour correspondre à la machine connectée.)
- 27 There was a problem communicating with the communication board. You should reboot the computer and then retry. (Il y a eu un problème de communication avec la carte de communication. Vous devez redémarrer l'ordinateur et réessayer.)
- 28 There was a timeout attempting to talk to the instrument. Check it is correctly plugged in. (Lors de la tentative de communication avec l'instrument, le délai d'attente a expiré. Vérifiez s'il est correctement branché.)
- 29 This feature cannot be used in virtual mode. (Cette fonctionnalité ne peut être utilisée en mode virtuel.)
- 30 This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Ce fichier de profil a été créé dans une version du logiciel Rotor-Gene plus récente. Certains aspects pourraient ne pas se charger correctement.)
- 31 This run file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the run may not load correctly. (Ce fichier de cycle d'exécution a été créé dans une version du logiciel Rotor-Gene plus récente. Certains aspects du cycle d'exécution pourraient ne pas se charger correctement.)
- 32 This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects may not load correctly. (Ce fichier d'échantillon a été créé dans une version du logiciel Rotor-Gene plus récente. Certains aspects pourraient ne pas se charger correctement.)
- 33 This software will perform basic simulation of a machine for training and demonstration purposes. You can disable this setting via the Setup screen, accessible from the File menu. (Ce logiciel va réaliser une simulation de base sur une machine à des fins de formation et démonstration. Vous pouvez désactiver ce paramètre via l'écran Configuration, accessible par le menu Fichier.)
- 34 This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software. Certain aspects of the template may not load correctly. (Ce modèle a été créé dans une version du logiciel Rotor-Gene plus récente. Certains aspects du modèle pourraient ne pas se charger correctement.)
- 35 Unable to load this sample file as tube layouts do not match. Load these samples before starting the run. (Impossible de charger ce fichier d'échantillon, les dispositions des tubes ne correspondent pas. Chargez ces échantillons avant de lancer le cycle d'exécution.)

### Énoncé du message

- 36 Unable to open communications with the machine because another application is already using <COMPORT>. Check you do not have any applications running that use the same serial port, then retry. (Impossible de communiquer avec la machine, car une autre application utilise déjà <PORT COM>. Assurez-vous qu'aucune application utilisant le même port série n'est en cours d'exécution puis réessayez.)
- 37 Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file. The file was not loaded. (Des erreurs irrécupérables se sont produites lors de la tentative de chargement du fichier. Le fichier n'a pas été chargé.)
- 38 You cannot stop the program while the run is in progress. (Vous ne pouvez pas arrêter le programme en cours de cycle d'exécution.)
- 39 You have insufficient rights to use the software. Please contact the domain administrator to set up groups. (Vous ne disposez pas de droits suffisants pour utiliser le logiciel. Contactez l'administrateur de domaine pour configurer des groupes.)
- 40 You must have performed a quantitation analysis to export samples. (Vous devez effectuer une analyse quantitative avant d'exporter des échantillons.)
- 41 You must select a COM port before continuing. (Vous devez sélectionner un port COM avant de poursuivre.)
- 42 Your run could not be saved to its default location. On the following window, select an alternative location to save your run. (Votre cycle d'exécution n'a pu être enregistré sur son emplacement par défaut. Dans la fenêtre suivante, sélectionnez un autre emplacement sur lequel enregistrer votre cycle d'exécution.)
- 43 Your settings have been saved. Click OK to close the software. (Vos paramètres ont été enregistrés. Cliquez sur OK pour fermer le logiciel.)
- 44 You must select a rotor before continuing. (Vous devez sélectionner un rotor avant de poursuivre.)
- 45 You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached. (Vous ne pouvez pas démarrer le cycle d'exécution avant d'avoir coché la case confirmant que la bague de verrouillage est bien en place.)

### Messages d'ajustement du gain automatique

- 46 Manual gain adjustment uses the channels you have defined in your profile. As you have not defined any acquisition points in your profile, you cannot perform manual gain adjustment. (L'ajustement manuel du gain utilise les canaux que vous avez définis dans votre profil. Comme vous n'avez défini aucun point d'acquisition dans votre profil, vous ne pouvez pas effectuer l'ajustement manuel du gain)
- 47 The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine. Enter a valid temperature. (La température saisie n'a pas été enregistrée, car elle était hors de la plage de la machine. Saisissez une température valide.)

### Messages de l'éditeur

- 48 Please enter a valid group code. Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas. (Saisissez un code de groupe valide. Les codes de groupe doivent comporter au maximum 5 caractères et ne contenir ni espaces ni virgules.)
- 49 Please enter a valid group name. Group names cannot contain commas or be empty. (Saisissez un nom de groupe valide. Les noms de groupe ne peuvent pas contenir de virgules ni rester vides.)

### Messages d'étalonnage de la dénaturation optique

- 50 Unable to set as optical denature point due to calibration failure. Please enter a valid number of seconds to hold. It should be a positive value. (Impossible de définir comme point de dénaturation optique en raison d'un échec de l'étalonnage. Saisissez un nombre de secondes valide pour le maintien. Ce doit être une valeur positive.)
- 51 A melt peak could not be detected during Optical Denature Calibration. This may be because the incorrect tube was selected for calibration, or that an inappropriate chemistry was used for this sample. A timed step profile was run instead. (Aucun pic de fusion n'a pu être détecté au cours de l'étalonnage de la dénaturation optique. Peut-être parce qu'un tube incorrect a été sélectionné pour l'étalonnage ou qu'un produit inapproprié a été utilisé pour cet échantillon. Un profil de palier automatique a été exécuté à la place.)

### Messages de vérification de la température optique

- 52 You must enter a valid OTV serial number to perform the run. (Vous devez saisir un numéro de série de vérification de la température optique valide pour pouvoir effectuer le cycle d'exécution.)
- 53 This temperature verification file has been corrupted. Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error. (Ce fichier de vérification de la température est corrompu. Désinstallez puis réinstallez le logiciel Rotor-Gene afin de corriger cette erreur.)
- 54 This run file is not correctly signed. Results cannot be displayed. (Ce fichier de cycle d'exécution n'est pas correctement signé. Les résultats ne peuvent être affichés.)

### Énoncé du message

55 You cannot start until you tick the checkbox to confirm that the fluorescent insert has been placed correctly. (Vous ne pouvez pas démarrer avant d'avoir coché la case confirmant que l'insert fluorescent a été placé correctement.)

56 This rotor has expired. Please contact your distributor to obtain a replacement. (Ce rotor a expiré. Contactez votre distributeur pour un remplacement.)

### Messages du menu Sécurité

57 Could not open the Windows user/group manager. (Impossible d'ouvrir le gestionnaire des utilisateurs/des groupes de Windows.)

58 Could not create groups. (Impossible de créer des groupes.)

59 Cannot modify access of inbuilt accounts. (Impossible de modifier l'accès à des comptes intégrés.)

### Menu Analyse

60 You have only selected one channel for analysis. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window. (Vous n'avez sélectionné qu'un seul canal pour l'analyse. Pour sélectionner plusieurs canaux, tracez un rectangle autour des canaux que vous souhaitez afficher dans la fenêtre de sélection pour l'analyse.)

61 You have selected multiple channels for analysis. This analysis technique only allows single channels to be analysed. (Vous avez sélectionné plusieurs canaux pour l'analyse. Cette technique d'analyse ne permet d'analyser que des canaux individuels.)

### Messages de mesure de la concentration

62 Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position. Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position. (La mesure de la concentration effectue l'optimisation du gain automatique sur la première position du rotor. Veillez à ce que l'étalon de concentration maximale se trouve dans la première position du rotor.)

### Messages d'analyse en point final

63 To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel. To define these controls click OK. (Pour pouvoir utiliser l'analyse en point final, vous devez avoir des contrôles positifs et négatifs sur chaque canal. Pour définir ces contrôles, cliquez sur OK.)

64 You have not defined any positive controls. You must define positive controls for each channel you are analysing. (Vous n'avez défini aucun contrôle positif. Vous devez définir des contrôles positifs pour chaque canal à analyser.)

65 You have not defined any negative controls. You must define negative controls for each channel you are analysing. (Vous n'avez défini aucun contrôle négatif. Vous devez définir des contrôles négatifs pour chaque canal à analyser.)

66 You have not defined any NTC controls. You must define NTC controls for each group. (Vous n'avez défini aucun contrôle sans matrice. Vous devez définir des contrôles sans matrice pour chaque groupe.)

### Messages d'analyse de HRM

67 Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined. (Le génotype <NOM DU GÉNOTYPE> n'a aucun contrôle défini.)

68 Duplicate genotype combinations are not allowed. (Les combinaisons de génotypes en double ne sont pas autorisées.)

69 High resolution melts are not supported on this instrument. Please contact your distributor for more information. (Les fusions haute résolution ne sont pas prises en charge sur cet instrument. Contactez votre distributeur pour plus d'informations.)

### Messages d'analyse de fusion

70 The genotypes can not be defined until bins have been placed. Please define all bins and then try again. (Les génotypes ne peuvent être définis avant que les ensembles aient été placés. Définissez tous les ensembles puis réessayez.)

71 You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype. (Vous devez saisir une abréviation pour le génotype <NOM DU GÉNOTYPE>.)

### Messages d'analyse du diagramme de dispersion

72 Scatter plot analysis requires exactly 2 channels to be selected. To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window, or click while holding the SHIFT key on each channel. (L'analyse du diagramme de dispersion nécessite de sélectionner précisément 2 canaux. Pour sélectionner plusieurs canaux, tracez un rectangle autour des canaux que vous souhaitez afficher dans la fenêtre de sélection pour l'analyse ou cliquez sur chaque canal en maintenant la touche Maj enfoncée.)

---

**Énoncé du message****Messages d'analyse quantitative**

- 73 The auto-find threshold feature requires that you have defined at least 2 selected standards. To set this up, right-click on the sample list and select "Edit Samples..." (La fonctionnalité Déterminer automatiquement le seuil nécessite de définir au moins 2 étalons sélectionnés. Pour la configuration, faites un clic droit sur la liste des échantillons et sélectionnez « Modifier les échantillons... ».)

## 12 Glossaire

Terme	Description
Acquisition	L'acquisition est la collecte de données de fluorescence. Chaque acquisition (série de données de fluorescence) sur un canal est affichée dans le logiciel sous forme de données non analysées dans une fenêtre « Raw channel » (Canal brut). Vous pouvez analyser ces données à l'aide des options du menu « Analysis » (Analyse).
Ensembles	Dans une analyse de fusion, les ensembles définissent une région dans laquelle doit survenir un pic de fusion. Les génotypes peuvent être définis d'après la présence de pics dans certains ensembles ou combinaisons d'ensembles.
CE-IVD	Conformité à la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.
Canal	Un canal comprend une diode électroluminescente (DEL) dotée d'un filtre d'excitation couplé à un filtre d'émission. La DEL et le filtre d'excitation excitent les échantillons à une longueur d'onde donnée. La fluorescence émise par les échantillons traverse le filtre d'émission avant d'être détectée par un photomultiplicateur.
Gain	Le Rotor-Gene Q MDx utilise un photomultiplicateur pour collecter les photons de fluorescence et les convertit en signaux électroniques. Le gain est un paramètre qui détermine la sensibilité du photomultiplicateur. Si le réglage du gain est trop élevé, le signal est sursaturé. Si le réglage du gain est trop faible, il n'est pas possible de différencier le signal du bruit de fond.
Optimisation du gain	L'optimisation du gain est un processus qui ajuste de façon dynamique le paramètre de gain, cela permet de sélectionner un paramètre approprié et ainsi d'obtenir une détection optimale du signal.
Bloc de chargement	Les blocs de chargement sont des blocs en aluminium existant en différents formats, ils supportent les tubes ou les Rotor-Discs pendant la préparation de la réaction. Les Rotor-Disc Loading Blocks s'utilisent avec le Rotor-Disc Heat Sealer pour thermosceller les Rotor-Discs.
Bague de verrouillage	Les bagues de verrouillage sont des anneaux métalliques qui s'ajustent au rotor pour empêcher les tubes et les bouchons de se détacher pendant le fonctionnement du Rotor-Gene Q MDx. Des bouchons et des tubes qui se détachent peuvent endommager l'instrument.
Rotor	Le rotor métallique contient les tubes ou les Rotor-Discs dans le Rotor-Gene Q MDx. Il permet de centrifuger les échantillons dans la chambre de l'instrument et garantit un alignement correct des échantillons par rapport au système optique. Le rotor est maintenu par une bague de verrouillage.
Rotor-Disc	Les Rotor-Discs sont des disques circulaires contenant des puits réactionnels orientés verticalement. Les Rotor-Discs sont disponibles aux formats 72 et 100 réactions. Les Rotor-Discs sont thermoscellés à l'aide du Rotor-Disc Heat Sealing Film et du Rotor-Disc Heat Sealer.



## 13 Caractéristiques techniques

QIAGEN se réserve le droit de modifier les caractéristiques à tout moment.

### 13.1 Conditions ambiantes – Conditions de fonctionnement

Alimentation	100–240 V CA, 50–60 Hz, 520 VA (maximum) Consommation d'énergie 60 VA (en veille) Les variations de tension de l'alimentation secteur ne doivent pas dépasser 10 % des tensions d'alimentation nominales.
Fusible	F5A 250 V
Dissipation thermique/ Charge thermique	Moyenne : 0,183 kW (632 BTU/heure) Maximum : 0,458 kW (1 578 BTU/heure)
Catégorie de surtension	II
Température de l'air	18 à 30 °C
Humidité relative	10–75 % (sans condensation)
Altitude	Jusqu'à 2 000 m
Lieu de fonctionnement	Réservé exclusivement à un usage en intérieur
Niveau de pollution	2
Catégorie environnementale	3K2 (CEI 60721-3-3) 3M2 (CEI 60721-3-3)

### 13.2 Conditions de transport

Température de l'air	–25 °C à 60 °C dans l'emballage du fabricant
Humidité relative	75 % max. (sans condensation)
Catégorie environnementale	2K2 (CEI 60721-3-2)

### 13.3 Conditions de conservation

Température de l'air	15 °C à 30 °C dans l'emballage du fabricant
Humidité relative	75 % max. (sans condensation)
Catégorie environnementale	1K2 (CEI 60721-3-1)

### 13.4 Données mécaniques et caractéristiques matérielles

Dimensions	Largeur : 370 mm Hauteur : 286 mm Profondeur (sans les câbles) : 420 mm Profondeur (porte ouverte) : 538 mm
Poids	12,5 kg en configuration standard
Capacité	Jusqu'à 100 échantillons par cycle d'exécution avec un Rotor-Disc 100
Logiciel	Logiciel Rotor-Gene Q version 2.3.x (où x est ≥ 0)

## 13.5 Caractéristiques (matérielles et logicielles)

### 13.5.1 Caractéristiques thermiques

Description	Caractéristique
Plage de température	35 °C à 99 °C (50 °C à 99 °C pour les applications à cycles)
Précision de la température	± 0,5 °C (étalonnage par la procédure de vérification de la température optique Rotor-Disc)
Résolution de température	± 0,02 °C (plus petit incrément programmable)
Uniformité de la température	± 0,02 °C

### 13.5.2 Caractéristiques optiques

Description	Caractéristique
Sources d'excitation	Diodes électroluminescentes haute puissance
Détecteur	Photomultiplicateur
Durée d'acquisition	4 s

# 14 Annexe A – Mentions légales

## 14.1 Déclaration FCC

L'USFCC (« United States Federal Communications Commission » [Commission des communications fédérales des États-Unis]) a déclaré (dans 47 CRF 15. 105) que les utilisateurs de ce produit doivent être informés des faits et circonstances suivants.

« Ce dispositif est conforme à la partie 15 de la FCC : Son utilisation est soumise aux deux conditions suivantes : (1) Ce dispositif peut provoquer des interférences dangereuses et (2) ce dispositif doit accepter toutes les interférences reçues, y compris les interférences susceptibles de provoquer un dysfonctionnement. »

« Ce dispositif numérique de classe B est conforme à la norme canadienne NMB-0003. »

La déclaration suivante s'applique aux produits couverts par le présent manuel, sauf indication contraire dans les présentes. La déclaration pour d'autres produits apparaîtra dans la documentation jointe.

Remarque : cet équipement a été testé et déclaré conforme aux limites établies pour un dispositif numérique de classe B en vertu de la partie 15 des règles de la FCC. Il satisfait à l'ensemble des exigences de la norme canadienne sur le matériel brouilleur (NMB-003) applicable aux dispositifs numériques. Ces limites sont destinées à assurer une protection raisonnable contre les interférences nuisibles dans une installation résidentielle. Cet équipement génère, utilise et peut diffuser de l'énergie de radiofréquence et, s'il n'est ni installé ni utilisé conformément aux instructions, peut provoquer des interférences nuisibles aux communications radio. Cependant, il n'existe aucune garantie contre ces interférences dans une installation particulière. Si cet équipement cause des interférences nuisibles à la réception des signaux de radio ou de télévision, ce qui peut être déterminé en mettant l'équipement sous et hors tension, l'utilisateur est invité à essayer de corriger les interférences en prenant une ou plusieurs des mesures suivantes :

- Réorienter ou repositionner l'antenne de réception
- Augmenter la distance séparant l'équipement du récepteur
- Brancher l'équipement sur une prise électrique d'un circuit différent de celui auquel le récepteur est branché

Consultez un revendeur ou un technicien radio/TV expérimenté pour obtenir de l'aide.

---

## 14.2 Conformité à la norme CEI EN 61326

Le Rotor-Gene Q MDx est conforme à toutes les exigences en matière d'émissions d'interférences et d'immunité aux interférences décrites dans les normes CEI 61326-1 et CEI 61326-2-6.

QIAGEN GmbH Germany n'est responsable d'aucune interférence de radiotélévision faisant suite à des modifications non autorisées sur cet équipement ou suite à la substitution ou à la fixation de câbles et d'un équipement de connexion par d'autres moyens que ceux spécifiés par QIAGEN GmbH Germany. La correction des interférences provoquées par une telle modification, une telle substitution ou un tel raccordement non autorisé(e) incombe à l'utilisateur.

---

### 14.3 Déclaration de conformité

Nom et adresse du fabricant légal

QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1  
40724 Hilden  
Allemagne

Une déclaration de conformité actualisée peut être demandée aux services techniques QIAGEN.

## 14.4 Déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE)

Cette section fournit des informations concernant la mise au rebut des déchets d'équipements électriques et électroniques par les utilisateurs.

Le symbole de la poubelle à roulettes barrée d'une croix (voir ci-dessous) indique que ce produit ne doit pas être mis au rebut avec les autres déchets ; il doit être rapporté dans une installation de traitement agréée ou un point de collecte désigné pour y être recyclé, conformément à la législation et aux réglementations locales.

La collecte et le recyclage séparés des déchets d'équipements électroniques au moment de la mise au rebut aident à préserver les ressources naturelles et garantissent que le produit est recyclé de manière à préserver la santé humaine et l'environnement.



Le recyclage peut être effectué par QIAGEN, sur demande, moyennant un coût supplémentaire. Dans l'Union européenne et conformément aux exigences de recyclage spécifiques des DEEE, QIAGEN propose, lors de la fourniture d'un produit de remplacement, le recyclage gratuit de ses équipements électroniques portant la mention DEEE en Europe.

Pour le recyclage des équipements électroniques, contactez l'agence commerciale QIAGEN locale pour obtenir le formulaire de retour nécessaire. Une fois le formulaire renvoyé, QIAGEN contactera l'utilisateur pour lui demander des informations de suivi afin de programmer la collecte des déchets électroniques ou lui proposer un devis personnalisé.

---

## 14.5 Clause de responsabilité

QIAGEN sera déchargé de toute obligation au titre de sa garantie au cas où des réparations ou des modifications seraient effectuées par d'autres personnes que son propre personnel, à l'exception de cas où la société a donné son accord écrit pour effectuer de telles réparations ou modifications.

Tous les matériaux remplacés au titre de cette garantie ne seront garantis que pour la durée de la période de garantie d'origine, et en aucun cas au-delà de la date d'expiration initiale de la garantie d'origine, sauf si cela a fait l'objet d'une autorisation écrite par un membre de la direction de la société. Les dispositifs de mesure, les dispositifs d'interfaçage et les logiciels associés ne seront garantis que durant la période offerte par le fabricant d'origine de ces produits. Les déclarations et garanties formulées par toute personne, y compris les représentants de QIAGEN, qui sont incompatibles ou en contradiction avec les conditions de cette garantie, ne seront pas contraignantes pour la société sauf si elles sont fournies par écrit et approuvées par un responsable de QIAGEN.

---

## 14.6 Contrat de licence du logiciel

1. Dans les sections ci-après, « Qiagen » fait référence à Qiagen GmbH et ses filiales et « le logiciel » comprend les programmes et données figurant sur un support physique (p. ex. CD-ROM) ou sur Internet avec ces conditions. (En cas de doute sur un aspect quelconque du présent contrat ou si vous avez des questions, n'hésitez pas à nous contacter à [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com).) Le logiciel et tout document connexe ont été développés intégralement à l'aide de fonds privés. Ils sont fournis et proposés sous licence en tant que « logiciel informatique à usage commercial ».

### 2. Licence

Votre licence ne vous octroie aucun titre ni propriété dans le logiciel, et ne constitue pas une vente de droits quelconques dans le logiciel. Qiagen vous octroie une licence non exclusive et non cessible comme suit :

2.1 Vous utilisez un nombre illimité de copies du logiciel au sein de votre établissement, si tant est que le logiciel soit accessible uniquement pour les employés de l'établissement et que l'établissement possède un instrument Rotor-Gene Q. La mise à disposition de ce logiciel pour un usage extérieur à l'établissement constitue une violation du présent contrat.

2.2 Vous ne pouvez copier le logiciel que pour le nombre de copies nécessaires à la sauvegarde ou lorsque la copie est une étape essentielle de l'utilisation autorisée du logiciel. Pour chaque copie, vous devez reproduire l'ensemble des mentions de droits d'auteur du logiciel d'origine. Vous ne devez en aucun cas copier le logiciel sur un panneau d'affichage, un site Internet ou autre système de diffusion public ou privé similaire.

2.3 Vous ne pouvez pas proposer le logiciel à des tiers sous forme de cadeau, prêt ou location.

2.4 Vous ne pouvez pas intégrer le logiciel ni aucune de ses parties à des programmes ou systèmes informatiques développés ou utilisés par vous-même.

2.5 Vous ne pouvez pas utiliser ou créer des fichiers de données ou d'autres fichiers traités par le logiciel (excepté dans le cadre de l'utilisation normale du logiciel).

2.6 Vous ne pouvez pas désassembler, rétroconcevoir, rétrocompiler, déverrouiller ou traduire toute partie du logiciel ou tenter de découvrir son code source ou ses algorithmes sous-jacents. Vous ne pouvez modifier aucun des fichiers de données ou des autres fichiers qui constituent le logiciel (excepté dans le cadre de l'utilisation normale du logiciel).



2.7 S'agissant d'une version de démonstration ou d'essai du logiciel, votre licence ne couvre que l'utilisation à des fins d'évaluation et dans le respect des restrictions décrites (comme une limite de durée, des cycles d'exécution limités ou d'autres limites). Le logiciel peut ou non faire respecter lesdites restrictions, mais s'il ne le fait pas, cela ne vous octroie en aucun cas le droit de les outrepasser.

2.8 Vous acceptez de vous procurer toute clé d'inscription/de licence nécessaire uniquement auprès de Qiagen ou d'un distributeur agréé et de ne pas les divulguer à des tiers.

### 3. Résiliation

3.1 Si vous ne respectez pas les conditions générales de la présente licence, Qiagen peut résilier cette licence sous toutes réserves d'autres droits.

3.2 Dans les 7 jours suivant la résiliation de cette licence, vous adresserez à Qiagen un courrier attestant de la destruction de l'original et des copies du logiciel et de la destruction de toutes les copies de clé d'inscription/de licence. Vous pouvez à tout moment résilier cette licence en fournissant une telle confirmation.

### 4. Limitation de garantie/responsabilité

4.1 Qiagen garantit uniquement que :

a) Si le logiciel est fourni sur un CD-ROM, le CD-ROM est exempt de défauts matériels et de conception en conditions normales d'utilisation pour une période de quatre-vingt-dix jours à compter de l'achat. (Nous remplaçons gratuitement tout CD-ROM défectueux.)

b) S'il est utilisé correctement, le logiciel est tout à fait conforme au document qui l'accompagne ou à toute autre publication de Qiagen pour une période de quatre-vingt-dix jours à compter de l'achat.

4.2 L'entière responsabilité de Qiagen et votre recours exclusif doivent être, à la discrétion de Qiagen, une compensation de la valeur de deux cent cinquante dollars américains (250 \$) ou le remplacement du logiciel qui ne serait pas conforme à la garantie limitée.

4.3 À L'EXCEPTION DES GARANTIES MENTIONNÉES DANS LA SECTION 4.1 CI-DESSUS ET DANS LE RESPECT DE LA LÉGISLATION, QIAGEN NE DONNE AUCUNE AUTRE GARANTIE RELATIVE À CE LOGICIEL.

---

4.4 DANS LE RESPECT DE LA LÉGISLATION, EN AUCUN CAS ET CONFORMÉMENT À AUCUNE THÉORIE JURIDIQUE, AUCUN DÉLIT, CONTRAT OU AUTRE, QIAGEN NE SERA RESPONSABLE ENVERS VOUS OU QUI QUE CE SOIT D'AUTRE DE TOUT DOMMAGE INDIRECT, SPÉCIAL, FORTUIT OU IMMATÉRIEL DE QUELQUE NATURE QUE CE SOIT, Y COMPRIS NOTAMMENT, LES DOMMAGES POUR PERTE DE CLIENTÈLE, ARRÊT DE TRAVAIL, PANNE OU DYSFONCTIONNEMENT INFORMATIQUE, OU TOUT AUTRE DOMMAGE OU PERTE COMMERCIALE, MÊME SI QIAGEN A ÉTÉ INFORMÉ DE LA POSSIBILITÉ DE TELS DOMMAGES. DANS TOUS LES CAS, L'ENTIÈRE RESPONSABILITÉ DE QIAGEN CONFORMÉMENT AU PRÉSENT CONTRAT SE LIMITE AUX FRAIS DE LICENCE QUE VOUS PAYEZ POUR LE LOGICIEL. CETTE LIMITATION DE RESPONSABILITÉ NE S'APPLIQUE PAS À LA RESPONSABILITÉ EN CAS DE DÉCÈS OU DE DOMMAGES CORPORELS DANS LA MESURE OÙ LA LOI EN VIGUEUR INTERDIT UNE TELLE LIMITATION

## 15 Annexe B – Techniques mathématiques

Cette annexe décrit plus en détail les techniques mathématiques utilisées.

### 15.1 Quantification

Les concentrations calculées sont obtenues à partir d'un simple modèle de régression linéaire, avec pour valeurs connues les concentrations log (x) et pour valeurs expérimentales les valeurs de CT (y).

Les concentrations log et les valeurs de CT des étalons permettent d'établir un modèle de la forme suivante :

$$y = Mx + B$$

#### 15.1.1 Intervalles de confiance pour les concentrations calculées

On utilise l'intervalle de confiance suivant  $100(1 - \alpha)\%$  pour estimer une nouvelle observation  $x_0$  à partir de la courbe étalon.

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left( 1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Il s'agit de l'intervalle de confiance pour la concentration d'une inconnue.

Supposons maintenant que l'on a k autres observations à  $x = x_0$  et que l'on désigne leur moyenne par  $\bar{Y}_0$ . Alors,

$$\bar{Y}_0 \sim N(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k})$$

et des arguments similaires aux précédents donnent

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left( \frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Cette formule permet de déterminer les intervalles de confiance pour les concentrations d'inconnues de répliquats.

Pour l'estimation des étalons, on peut obtenir un intervalle de confiance plus restreint :

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left( \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

L'implication de cette formule est que l'ajout de réplicats à une concentration individuelle d'étalons réduit la largeur de l'intervalle pour toutes les estimations, puisque  $n$  augmente. L'ajout d'un grand nombre de réplicats à une inconnue réduit son incertitude à celle d'un seul étalon. Les réplicats supplémentaires réduisent l'incertitude, car l'inconnue ne constitue pas une partie du modèle linéaire.

### 15.1.2 Intervalles de confiance pour les valeurs de CT

Supposons que l'erreur dans les valeurs de CT des réplicats est linéaire et normalement distribuée.

On utilise donc l'intervalle de confiance  $t$  à un échantillon. Sachant que  $\mu$  est la valeur moyenne pour les valeurs de CT d'un réplicat  $(x_0 \dots x_{n-1})$ . Alors, un intervalle de confiance de  $100(1 - \alpha)\%$  pour une valeur de CT  $\mu$  donne :

$$\left( \bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Nous tenons à remercier Peter Cook du département de mathématiques de l'université de Nouvelle-Galles du Sud, à Sydney, en Australie, pour son aide très précieuse dans la vérification des approches mathématiques utilisées.

## 16 Informations de commande

### 16.1 Produits, accessoires et consommables Rotor-Gene Q MDx

Produit	Contenu	N° de réf.
Rotor-Gene Q MDx 5plex	Instrument de real-time PCR à 5 canaux (vert, jaune, orange, rouge, pourpre), ordinateur portable, logiciel, accessoires, garantie 1 an pièces et main-d'œuvre	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Instrument de real-time PCR et analyseur de fusion haute résolution à 5 canaux (vert, jaune, orange, rouge, pourpre) plus canal HRM, ordinateur portable, logiciel, accessoires, garantie 1 an pièces et main-d'œuvre	9002032
Rotor-Gene Q MDx 6plex	Instrument de real-time PCR à 6 canaux (bleu, vert, jaune, orange, rouge, pourpre), ordinateur portable, logiciel, accessoires, garantie 1 an pièces et main-d'œuvre	9002042
<b>Accessoires</b>		
Rotor-Disc 100 Starter Kit	Le kit inclut : 2 paquets de Rotor-Disc 100, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 100 Rotor avec bague de verrouillage, Rotor-Disc 100 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	Sur demande
Rotor-Disc 100 (30)	30 disques emballés individuellement pour 3 000 réactions	981311
Rotor-Disc 100 (300)	10 × 30 disques emballés individuellement pour 30 000 réactions	981313
Rotor-Disc 100 Rotor	Permet de maintenir des disques Rotor-Disc 100 dans le Rotor-Gene Q MDx, nécessite la Rotor-Disc 100 Locking Ring	9018895
Rotor-Disc 100 Locking Ring	Permet de verrouiller un Rotor-Disc 100 dans le Rotor-Disc 100 Rotor	9018896
Rotor-Disc 100 Loading Block	Bloc en aluminium pour la préparation de réaction manuelle et automatisée dans des disques Rotor-Disc 100	9018909

<b>Produit</b>	<b>Contenu</b>	<b>N° de réf.</b>
Rotor-Disc Pipetting Aid	Aide au marquage de puits pendant la préparation de réaction manuelle sur un Rotor-Disc Loading Block	9018897
Rotor-Disc Heat Sealer	Instrument de thermoscellage à utiliser avec les Rotor-Discs, nécessite le Rotor-Disc 72 ou 100 Loading Block	9018898
Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)	60 films permettant de sceller hermétiquement les disques Rotor-Disc 100 ou Rotor-Disc 72	981601
Rotor-Disc Heat Sealing Film (600)	10 × 60 films permettant de sceller hermétiquement les disques Rotor-Disc 100 ou Rotor-Disc 72	981604
Rotor-Disc 72 Starter Kit	Le kit inclut : 3 paquets de Rotor-Disc 72, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 72 Rotor avec bague de verrouillage, Rotor-Disc 72 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid	Sur demande
Rotor-Disc 72 (24)	24 disques emballés individuellement pour 1728 réactions	981301
Rotor-Disc 72 (240)	10 × 24 disques emballés individuellement pour 17 280 réactions	981303
Rotor-Disc 72 Rotor	Permet de maintenir des disques Rotor-Disc 72 dans le Rotor-Gene Q MDx, nécessite la Rotor-Disc 72 Locking Ring	9018899
Rotor-Disc 72 Locking Ring	Permet de verrouiller un Rotor-Disc 72 dans le Rotor-Disc 72 Rotor	9018900
Rotor-Disc 72 Loading Block	Bloc en aluminium pour la préparation de réaction manuelle et automatisée dans des disques Rotor-Disc 72	9018910
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 barrettes de 4 tubes avec bouchons pour 1 000 réactions	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 × 250 barrettes de 4 tubes avec bouchons pour 10 000 réactions	981106
72-Well Rotor	Permet de maintenir les Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, nécessite un Locking Ring 72-Well Rotor	9018903

Produit	Contenu	N° de réf.
Locking Ring 72-Well Rotor	Permet de verrouiller les Strip Tubes and Caps, 0.1 ml dans le 72-Well Rotor	9018904
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Bloc en aluminium pour la préparation de réaction manuelle à l'aide d'une pipette monocanal dans 72 tubes de 0,1 ml	9018901
Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel	Bloc en aluminium pour la préparation de réaction à l'aide de pipettes multicanaux dans 72 tubes de 0,1 ml	9018902
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1 000 tubes à paroi fine pour 1 000 réactions	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1 000 tubes à paroi fine pour 10 000 réactions	981008
36-Well Rotor	Permet de maintenir les PCR Tubes, 0.2 ml, nécessite la 36-Well Rotor Locking Ring	9018907
36-Well Rotor Locking Ring	Permet de verrouiller les PCR Tubes, 0.2 ml dans le 36-Well Rotor	9018906
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Bloc en aluminium pour la préparation de réaction manuelle dans le format standard 8 x 12 avec 96 tubes de 0,2 ml	9018905
Rotor-Disc OTV Kit	Kit de vérification de la température optique des systèmes Rotor-Gene, contenant un Rotor-Disc préalablement chargé avec des cristaux liquides thermochromiques, des inserts fluorescents, nécessite le Rotor-Disc 72 Rotor avec bague de verrouillage ou le Rotor-Disc 72 Starter Kit	981400
Rotor Holder	Support métallique autonome permettant de rassembler les tubes et les Rotor-Discs dans les rotors	9018908

Pour connaître les dernières licences 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 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 du distributeur local.

## 17 Historique des révisions du document

Date	Modifications
R1, février 2022	Première version



#### Contrat de licence limitée relatif au Rotor-Gene Q MDx

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit doit être utilisé uniquement avec les composants du kit, conformément aux protocoles fournis avec le produit et à ce mode d'emploi. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce kit avec tout autre composant non fourni dans ce kit, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, dans ce mode d'emploi et dans d'autres protocoles disponibles sur le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Parmi ces protocoles supplémentaires, certains ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour des utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne saurait être tenu pour responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce kit et/ou son ou ses utilisation(s) ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
3. Ce kit et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes les autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du kit consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de ce contrat de licence limitée par tout tribunal et pourra recourir tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas de procédure en application de ce contrat de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au kit et/ou à ses composants.

Pour les termes de licence mis à jour, consultez le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, EpiTect®, HotStarTaq®, Rotor-Disc®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager®, Type-it® (Groupe QIAGEN) ; Adobe®, Illustrator® (Adobe Systems, Inc.) ; Alexa Fluor®, HEX™, JOE™, Marina Blue®, ROXT™, SYBR®, SYTO®, TET™, Texas Red®, VIC® (Thermo Fisher Scientific ou ses filiales) ; CAL Fluor®, Quasar® (Biosearch Technologies, Inc.) ; Core™, Intel® (Intel Corporation) ; Cy® (GE Healthcare) ; EvaGreen® (Biotium, Inc.) ; Excel®, Microsoft®, Windows® (Microsoft Corporation) ; LC Green® (Idaho Technology, Inc.) ; LightCycler® (Groupe Roche) ; Symantec® (Symantec Corporation) ; TeeChart® (Steema Software SL) ; Yakima Yellow® (Nanogen, Inc.). Les marques déposées, marques de commerce et autres marques citées dans ce document doivent être considérées comme protégées par la loi, même si elles ne sont pas spécifiquement signalées comme telles. Les marques déposées, marques de commerce et autres marques citées dans ce document doivent être considérées comme protégées par la loi, même si elles ne sont pas spécifiquement signalées comme telles.

TeeChartOffice : copyright 2001-2013 par David Berneda. Tous droits réservés.

Pour les pays concernés :

Ce thermocycleur en temps réel fait l'objet d'une licence en vertu de droits d'un brevet américain en attente pour un appareil ou système couvrant les thermocycleurs automatisés avec détecteurs de fluorescence et d'une demande de priorité en vertu du numéro de série américain 07/695,201 ainsi que les demandes correspondantes pour tout brevet connexe à l'étranger détenu par Applied Biosystems LLC, dans tous les domaines, y compris la recherche et le développement, tous les domaines appliqués et les diagnostics in vitro chez l'être humain ou l'animal. Aucun droit n'est transmis expressément, par implication ou par préclusion, pour tout brevet couvrant des méthodes en temps réel, y compris, notamment, les dosages de nucléase 5', ou tout brevet relatif à un réactif ou à un kit. Pour plus d'informations sur l'achat de droits supplémentaires, contactez le Director of Licensing d'Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, Californie, 94404, États-Unis.

Pour les pays concernés :

L'achat de ce produit confère à son acquéreur une licence limitée non cessible en vertu d'un ou plusieurs des brevets américains n°s 6 787 338 ; 7 238 321 ; 7 081 226 ; 6 174 670 ; 6 245 514 ; 6 569 627 ; 6 303 305 ; 6 503 720 ; 5 871 908 ; 6 691 041 ; 7 387 887 ; 7 273 749 ; 7 160 998 ; des demandes de brevets américains n°s 2003-0224434 et 2006-0019253 et des demandes de brevets en vertu du PCT n° WO 2007/035806, ainsi que de toutes les demandes de prolongation et les demandes complémentaires, de même que de toutes les revendications correspondantes pour les brevets et demandes de brevets en dehors des États-Unis, détenus par l'University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Evotec Biosystems GmbH et/ou Roche Diagnostics GmbH, à des fins de diagnostics in vitro chez l'être humain ou l'animal. Aucun droit n'est transmis expressément, par implication ou par préclusion, pour tout réactif ou kit, ni en vertu de tout autre brevet ou demande de brevet détenu par l'University of Utah Research Foundation, Idaho Technology, Inc., Roche Diagnostics GmbH, ou toute autre partie. Ce produit ne peut être utilisé qu'avec des réactifs autorisés, tels que les kits et dosages QIAGEN détenant une licence complète. Pour des informations sur l'achat de licences pour les applications de diagnostics in vitro ou les réactifs, contactez Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, États-Unis.

HB-3090-001 02/2022 © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.

---

Pour commander [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Support technique [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)