

Fiche d'application QIASymphony® RGQ

Application QIASymphony RGQ kit *artus*® HBV QS-RGQ (type d'échantillon : plasma)

IVD

CE
0197



Vérifier la disponibilité de nouvelles révisions de notices électroniques à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx avant d'utiliser le test. L'état de la révision actuelle est indiqué par la date de parution (format : mois/année).

Informations générales

Kit	Kit <i>artus</i> HBV QS-RGQ, version 1, REF 4506363, 4506366
Matériel d'échantillon validé	Plasma EDTA humain
Purification initiale	Kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi (référence 937055)
Volume d'échantillon (dont volume excédentaire)	1.200 µl
Jeu de paramètres d'analyse	artus_HBV_plasma1000_V4
Jeu de témoins d'analyse par défaut	Cellfree1000_V6_DSP_artus_HBV
Volume d'éluion	60 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou supérieure
Volume du mélange principal	30 µl
Modèle de volume	20 µl
Nombre de réactions	7 à 24 ou 7 à 72*
Durée d'exécution sur le module AS	Pour 7 réactions : environ 7 minutes Pour 72 réactions : environ 35 minutes

* Pour la configuration de test spécifique au VHB, jusqu'à 216 (3 x 72) tests peuvent être configurés en un seul cycle sur le QIASymphony AS.

Mai 2012



Sample & Assay Technologies

Matériel nécessaire, mais non fourni

Kit de purification	■ QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi) (référence 937055)
Adaptateurs pour le QIASymphony SP	<ul style="list-style-type: none"> ■ Elution Microtube Rack QS (portoir pour microtubes d'élution QS) (adaptateur réfrigérant, EMT, v2, Qsym, référence 9020730) ■ Tube Insert 3B (élément d'insertion pour tube 3B, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, référence 9242083)
Consommables pour le QIASymphony SP	<ul style="list-style-type: none"> ■ Sample Prep Cartridges, 8-well (cartouches de préparation d'échantillons à 8 puits) (référence 997002) ■ 8-Rod Covers (manchons pour 8 barreaux) (référence 997004) ■ Filter-Tips, 1.500 μl (cônes munis de filtres, 1.500 μl) (référence 997024) ■ Filter-Tips, 200 μl (cônes munis de filtres, 200 μl) (référence 990332) ■ Elution Microtubes CL (microtubes d'élution CL) (référence 19588) ■ Tip disposal bags (sachets de récupération des cônes usagés) (référence 9013395) ■ Micro tubes 2.0 ml Type H ou Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubes de 2,0 ml, Type H ou microtubes de 2,0 ml, Type I (Sarstedt, références 72.693 et 72.694, www.sarstedt.com) pour une utilisation avec échantillons et témoins internes
Adaptateurs et supports pour réactif pour le QIASymphony AS	<ul style="list-style-type: none"> ■ Reagent holder 1 QS (adaptateur réfrigérant, support pour réactifs 1, Qsym, référence 9018090) ■ Reagent holder 2 QS (adaptateur réfrigérant, support pour réactifs 2, Qsym, référence 9018089) ■ RG Strip Tubes 72 QS (adaptateur réfrigérant, rangées de tubes RG, 72, Qsym, référence 9018092)
Consommables pour le QIASymphony AS	<ul style="list-style-type: none"> ■ Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (rangées de tubes et de bouchons, 0,1 ml) (référence 981103) ■ Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (tubes coniques) (référence 997102)* ou Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubes de 2,0 ml, Type I) (Sarstedt, référence 72.694.005) ■ Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (tubes coniques) (référence 997104)* ou Tubes with flat base from PP (tubes à base plate, en PP) (Sarstedt, référence 60.558.001) ■ Reagent Bottles (flacons de réactif), 30 ml, Qsym AS (référence 997108) ■ Elution Microtubes CL (microtubes d'élution CL) (référence 19588) ■ Filter-Tips, 1.500 μl (cônes munis de filtres, 1.500 μl) (référence 997024) ■ Filter-Tips, 200 μl (cônes munis de filtres, 200 μl) (référence 990332) ■ Filter-Tips, 50 μl (cônes munis de filtres, 50 μl) (référence 997120) ■ Tip disposal bags (sachets de récupération des cônes usagés) (référence 9013395)

* Veuillez vous renseigner pour connaître la disponibilité.

Manipulation et conservation des échantillons

Prélèvement l'échantillon	de	Échantillon de sang Sang EDTA, 5–10 ml Homogénéisation par retournement du tube, 8 fois — pas d'agitation ! Ne pas utiliser d'échantillons de sang humain traités avec de l'héparine
Conservation échantillons	des	Séparation : centrifugation de 20 minutes, 800–1.600 x g en l'espace de 24 heures après le prélèvement Transférer le plasma isolé dans un tube stérile en polypropylène Une congélation répétée ou une période de conservation des échantillons de longue durée peut altérer la sensibilité du test. L'ADN encapsulé du virus est stable à :* 4 °C plusieurs jours –20 °C plusieurs semaines –70 °C plusieurs mois
Transport échantillons	des	Transport en récipient incassable Expédition en l'espace de 24 heures Envoi postal selon les réglementations légales relatives au transport des agents pathogènes† Les échantillons sanguins doivent être expédiés dans des conditions réfrigérées (2 à 8 °C)
Substances interférentes		L'héparine (≥ 10 UI/ml) peut nuire à la PCR. Ne pas utiliser d'échantillons prélevés dans des tubes contenant de l'héparine comme anticoagulant, ni d'échantillons prélevés sur des patients traités avec de l'héparine.
Préparation échantillons	des	Éviter la formation de mousse dans ou sur les échantillons. Amener tous les échantillons à température ambiante (15 à 25 °C) avant de démarrer l'analyse.

* Arbeitskreis Blut, V17 (09.1997), Bundesgesundheitsblatt 11/1997, p. 452–456.

† International Air Transport Association (IATA) (Association internationale du transport aérien (AITA)).
Dangerous Goods Regulations (Règlement pour le transport des marchandises dangereuses).

Procédure

Préparation de l'ARN entraîneur et addition du témoin interne aux échantillons

L'emploi du kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi conjointement avec le kit *artus* HBV QS-RGQ nécessite l'introduction du témoin interne (HBV RG/TM IC) dans la procédure de purification pour surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'analyse en aval.

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

Le tableau montre l'addition du témoin interne au cours de l'étape d'isolement dans le rapport de 0,1 µl pour 1 µl de volume d'élution. Il est recommandé de préparer les mélanges nécessaires juste avant chaque cycle.

Composant	Volume (µl) (tubes Sarstedt®)*	Volume (µl) (tubes BD™)†
ARN entraîneur (CARRIER)	5	5
Témoin interne‡	9	9
Tampon AVE	106	106
Volume final par échantillon (hors volume mort)	120	120
Volume total pour n échantillons	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Microtubes de 2,0 ml, Type H et microtubes de 2,0 ml, Type I, Sarstedt, références 72.693 et 72.694.

† Tubes de 14 ml, 17 x 100 mm en polystyrène, à fond rond (Becton Dickinson, référence 352051).

‡ Le calcul de la quantité de témoin interne est basé sur les volumes d'élution initiaux (90 µl). Le volume mort supplémentaire dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon.

§ Un mélange de témoin interne correspondant à 3 échantillons supplémentaires (c'est-à-dire 360 µl) est nécessaire. Ne pas remplir plus de 1,92 ml de volume total (ce qui correspond à 13 échantillons au maximum. Ces volumes sont spécifiques aux microtubes de 2,0 ml, Type H ou aux microtubes de 2,0 ml, Type I, Sarstedt, références 72.693 et 72.694).

¶ Un mélange de témoin interne correspondant à 5 échantillons supplémentaires (c'est-à-dire 600 µl) est nécessaire. Ne pas remplir plus de 13,92 ml de volume total (ce qui correspond à 111 échantillons au maximum. Ces volumes sont spécifiques aux tubes de 14 ml, 17 x 100 mm en polystyrène, à fond rond, Becton Dickinson, référence 352051).

Configuration du QIASymphony SP

Tiroir « Waste » (Poubelle)

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

Tiroir « Eluate » (Éluat)

Portoir d'éluat	Utiliser l'emplacement 1, position de refroidissement
Volume d'éluat*	Volume d'éluat présélectionné : 60 μ l Volume d'éluat initial : 90 μ l

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

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

RC, positions 1 et 2	Charger 1 cartouche de réactifs (RC) pour 48 échantillons maximum ou 2 nouvelles cartouches de réactifs (RC) pour 96 échantillons maximum
Support du portoir de cônes, positions 1 à 18	Charger suffisamment de portoirs de cônes munis de filtres jetables de 200 μ l et de 1.500 μ l (voir « Matériel en plastique nécessaire pour 1 à 4 lots d'échantillons », page 6)
Support de boîte d'unités, positions 1 à 4	Charger les boîtes d'unités contenant les cartouches de préparation d'échantillons et les manchons pour 8 barreaux (voir « Matériel en plastique nécessaire pour 1 à 4 lots d'échantillons », page 6)

Tiroir « Sample » (Échantillon)

Type d'échantillon	Plasma
Volume d'échantillon (dont volume excédentaire)	1.200 μ l
Tubes d'échantillon	Micro tubes 2.0 ml Type H ou Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubes de 2,0 ml, Type H ou microtubes de 2,0 ml, Type I) (Sarstedt, références 72.693 et 72.694)
Élément d'insertion	Tube Insert 3B (élément d'insertion pour tube 3B) (référence 9242083)

Matériel en plastique nécessaire pour 1 à 4 lots d'échantillons

	Un lot, 24 échantillons*	Deux lots, 48 échantillons*	Trois lots, 72 échantillons*	Quatre lots, 96 échantillons*
Cônes munis de filtres jetables, 200 μl^{†‡}	28	52	76	100
Cônes munis de filtres jetables, 1.500 μl^{†‡}	113	206	309	402
Cartouche de préparation d'échantillons[§]	21	42	54	72
Manchons pour 8 barreaux[¶]	3	6	9	12

* L'utilisation de plusieurs tubes de solution témoin par lot et la réalisation de plusieurs inventaires nécessite davantage de cônes munis de filtres jetables.

† Il y a 32 cônes munis de filtres/portoir de cônes.

‡ Le nombre de cônes munis de filtres requis est le nombre de cônes munis de filtres nécessaires à 1 inventaire par cartouche de réactifs (RC).

§ Il y a 28 cartouches de préparation d'échantillons/boîte d'unités.

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

Configuration du QIASymphony AS

Consommables

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

Consommables	Nom sur l'écran tactile	À utiliser avec adaptateur/support pour réactif suivant
Rangées de tubes et de bouchons, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	Rangées de tubes RG, 72, QS
Tubes coniques, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Support pour réactifs 1 QS Support pour réactifs 2 QS
Tube conique, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Support pour réactifs 1 QS Support pour réactifs 2 QS
Flacons de réactifs, 30 ml, QSym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Support pour réactifs 2 QS
Microtubes d'éluion CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Portoir pour microtubes d'éluion QS

* Pour les composants du mélange principal, le mélange principal préparé par le système, et pour les étalons d'essai et les témoins d'analyse.

† Les tubes Sarstedt décrits dans la section « Matériel nécessaire, mais non fourni », page 2, peuvent également être utilisés.

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

Adaptateurs et supports pour réactif

Portoir/support pour réactif	Nom	Nombre nécessaire [§]
Portoir à échantillons	Portoir pour microtubes d'éluion QS	1
Supports pour réactif	Support pour réactifs 1 QS	1
Portoir à essais	Rangées de tubes RG, 72, QS	1

[§] Calculé pour un cycle d'analyse de 72 réactions.

Cônes munis de filtres

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

Consommable	Nom sur l'écran tactile	Quantité minimale pour 24 réactions	Quantité minimale pour 72 réactions
Cônes munis de filtres, 1.500 µl (1024)	1.500 µl	4	5
Cônes munis de filtres, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Cônes munis de filtres, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Sachets de récupération des cônes usagés	–	1	1

RT-PCR sur le Rotor-Gene Q

Veillez vous référer à la fiche de protocole spécifique au logiciel intitulée « Settings to run *artus* QS-RGQ Kits » (Configuration pour l'utilisation des kits *artus* QS-RGQ) à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.

Réglages spécifiques pour le kit *artus* HBV QS-RGQ

Le logiciel Rotor-Gene AssayManager règle automatiquement les paramètres requis pour le kit *artus* HBV QS-RGQ.

Avec la version de logiciel Rotor-Gene 2.1, les réglages spécifiques sont présentés ci-dessous.

Volume réactionnel (μl)	50
Plateau	Température de plateau : 95 degrés Durée du plateau : 10 min
Nombre de cycles	45 95 degrés pendant 15 s 55 degrés pendant 30 s 72 degrés pendant 15 s
Réglage de l'optimisation du gain	55 degrés (Échantillons : Green ; Témoin interne (IC) : Yellow)

Interprétation des résultats

Cette section décrit l'interprétation des résultats obtenus sur le Rotor-Gene Q. Passer également en revue les informations sur l'état de l'échantillon des fichiers de résultats du QIASymphony SP/AS pour analyser l'intégralité du flux de travail, de l'échantillon jusqu'au résultat. Seuls des échantillons présentant l'état valide seront utilisés.

Le logiciel Rotor-Gene AssayManager interprète automatiquement les résultats de PCR et fournit une conclusion et un résultat quantitatif.

Les sections suivantes décrivent l'interprétation des résultats en utilisant la version de logiciel Rotor-Gene 2.1 ou supérieure.

Détection du signal et conclusions

Signal dans le canal Cycling Green	Signal dans le canal Cycling Yellow	Résultat quantitatif (UI/ml)	Interprétation
Oui	Oui	< 10,22	Résultat valide : ADN de VHB détecté, < 31,6 UI/ml Quantification impossible en raison d'un résultat quantitatif inférieur à la limite de détection. La reproductibilité du résultat positif n'est pas garantie.
Oui	Oui	≥ 10,22 et < 31,6	Résultat valide : ADN de VHB détecté, < 31,6 UI/ml Quantification impossible en raison d'un résultat quantitatif inférieur à la gamme linéaire de l'analyse.
Oui	Oui	≥ 31,6 et ≤ 2 x 10 ⁷	Résultat valide : ADN de VHB détecté à la concentration calculée Le résultat quantitatif se situe dans la gamme linéaire de l'analyse.
Oui	Oui	> 2 x 10 ⁷	Résultat valide : ADN de VHB détecté, quantité > 2 x 10 ⁷ UI/ml Quantification impossible en raison d'un résultat quantitatif supérieur à la gamme linéaire de l'analyse.*
Non	Oui	–	Résultat valide : Aucun ADN de VHB détectable.†
Non	Non	–	Résultat non valide : Aucun résultat ne peut être établi.‡

* Si une quantification est requise, diluer l'échantillon avec du plasma exempt de VHB et recommencer le traitement. Multiplier le résultat quantitatif obtenu pour l'échantillon traité à nouveau par le facteur de dilution.

† Si la valeur C_T du témoin interne d'un échantillon négatif est supérieur de plus de 3 cycles à la valeur C_T du témoin interne du témoin sans matrice dans le cycle (C_T de l'IC échantillon – C_T de l'IC NTC > 3), l'échantillon doit être considéré comme non valide. Aucun résultat ne peut être établi.

‡ Pour des informations sur les sources d'erreurs et leurs solutions, consulter le chapitre « Résolution des principaux problèmes rencontrés » du *Manuel du kit artus HBV QS-RGQ*.

Réglage du seuil pour l'analyse de la PCR

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

Quantification

Les étalons de quantification (HBV RG/TM QS 1–5) du kit *artus* HBV QS-RGQ sont traités comme les échantillons précédemment purifiés et le même volume est utilisé (20 µl). Pour générer une courbe étalon sur les appareils Rotor-Gene Q, l'ensemble des 5 étalons de quantification doivent être utilisés et définis dans la boîte de dialogue « Edit Samples » (Modifier les échantillons) sur l'appareil Rotor-Gene Q comme étalons aux concentrations spécifiées (voir le manuel d'utilisation de l'appareil).

Remarque : Les étalons de quantification sont exprimés en UI/µl*. L'équation suivante doit être appliquée pour convertir les valeurs déterminées par le biais de la courbe étalon en UI/ml de matériel de prélèvement.

$$\text{Résultat (UI/ml)} = \frac{\text{Résultat (UI/}\mu\text{l)} \times \text{volume d'élution initial (90 }\mu\text{l)}^\dagger}{\text{Volume d'échantillon (ml)}}$$

Par principe, le volume initial d'échantillon doit être saisi dans l'équation ci-dessus. Il doit être pris en compte lorsque le volume d'échantillon a été modifié avant l'extraction de l'acide nucléique (par exemple, une diminution du volume par centrifugation ou une augmentation du volume par dilution nécessaire pour l'isolement).

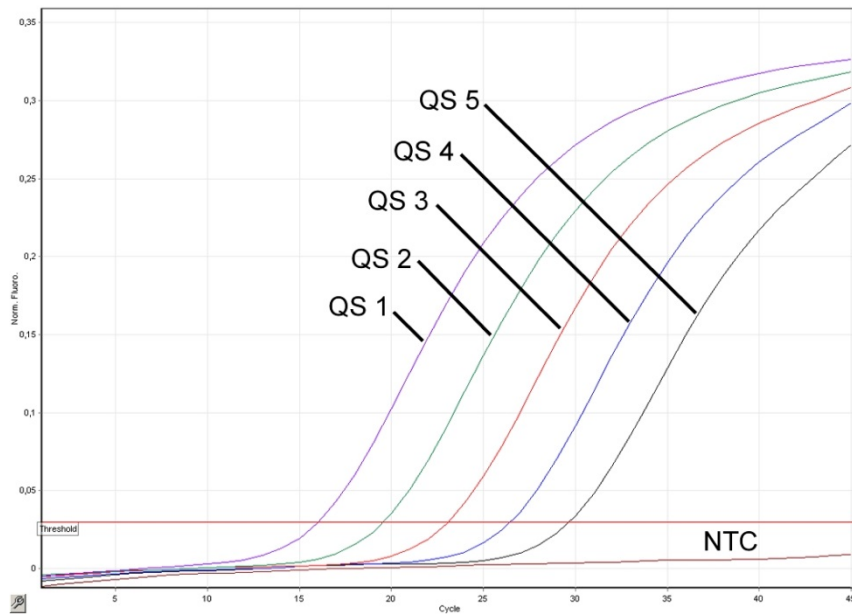
Facteur de conversion

1 UI/ml correspond à 8,21 copies/ml pour la détection d'ADN de VHB sur le Rotor-Gene Q. Le facteur de conversion est une approximation basée sur le facteur moyen déterminé sur toute la gamme dynamique de l'analyse.

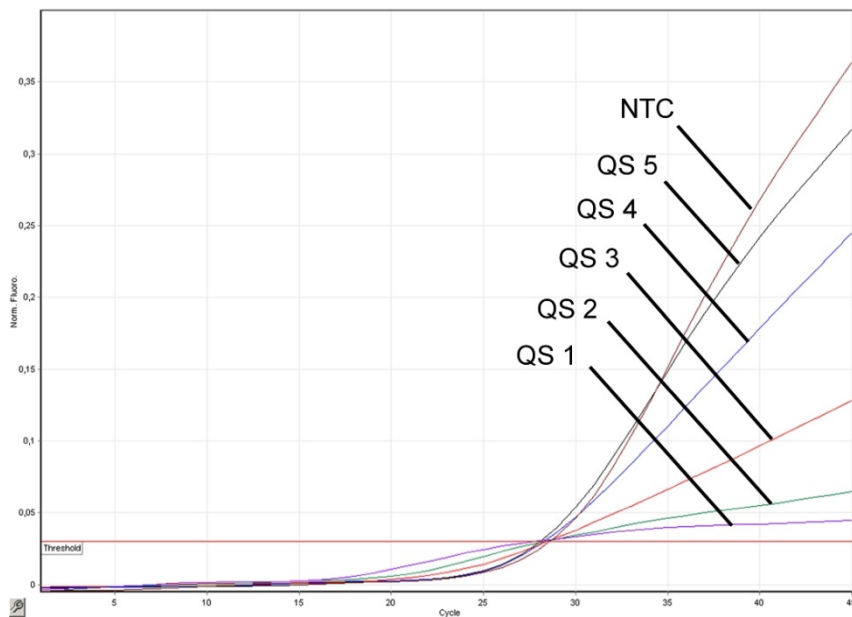
* L'étalon a été calibré en utilisant la norme internationale relative au VHB (OMS).

† Le calcul repose sur les volumes d'élution initiaux (90 µl).

Exemples de réactions de PCR positives et négatives



Détection des étalons de quantification (HBV RG/TM QS 1-5) dans le canal de fluorescence **Cycling Green**. NTC : Témoin sans matrice (témoin négatif).



Détection du témoin interne (IC) dans le canal de fluorescence **Cycling Yellow** avec amplification simultanée des étalons de quantification (HBV RG/TM QS 1-5). NTC : Témoin sans matrice (témoin négatif).

Pour obtenir les dernières informations sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN respectif. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des Services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

Marques de commerce : QIAGEN®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group) ; BD™ (Becton, Dickinson and Company) ; Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

© 2012 QIAGEN, tous droits réservés.

www.qiagen.com

Canada ■ 800-572-9613

China ■ 021-3865-3865

Denmark ■ 80-885945

Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930

Germany ■ 02103-29-12000

Hong Kong ■ 800 933 965

Ireland ■ 1800 555 049

Italy ■ 800-787980

Japan ■ 03-6890-7300

Korea (South) ■ 1544 7145

Luxembourg ■ 8002 2076

Mexico ■ 01-800-7742-639

The Netherlands ■ 0800 0229592

Norway ■ 800-18859

Singapore ■ 65-67775366

Spain ■ 91-630-7050

Sweden ■ 020-790282

Switzerland ■ 055-254-22-11

UK ■ 01293-422-911

USA ■ 800-426-8157

Australia ■ 1-800-243-800

Austria ■ 0800/281010

Belgium ■ 0800-79612

Brazil ■ 0800-557779



Sample & Assay Technologies