

**Mai 2018**

# **Manuel d'utilisation du Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM (CA)**

À utiliser avec le Rotor-Gene Q version 2.3.4 ou supérieure

**IVD**

**MAT** 1114367FRCA



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

**R3**





---

# Table des matières

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| <b>1</b> | <b>Informations de sécurité</b>          | <b>1-1</b> |
| 1.1      | Utilisation appropriée                   | 1-2        |
| 1.2      | Sécurité électrique                      | 1-4        |
| 1.3      | Environnement                            | 1-5        |
| 1.4      | Sécurité biologique                      | 1-6        |
| 1.5      | Produits chimiques                       | 1-8        |
| 1.6      | Mise au rebut des déchets                | 1-8        |
| 1.7      | Dangers mécaniques                       | 1-9        |
| 1.8      | Danger lié à la chaleur                  | 1-11       |
| 1.9      | Maintenance                              | 1-11       |
| 1.10     | Symboles apposés sur le Rotor-Gene Q MDx | 1-12       |
| <br>     |  |            |
| <b>2</b> | <b>Introduction</b>                      | <b>2-1</b> |
| 2.1      | À propos de ce manuel d'utilisation      | 2-1        |
| 2.2      | Informations générales                   | 2-2        |
| 2.2.1    | Assistance technique                     | 2-2        |
| 2.2.2    | Déclaration de principe                  | 2-2        |
| 2.2.3    | Gestion des versions                     | 2-3        |
| 2.3      | Utilisation prévue du Rotor-Gene Q MDx   | 2-3        |
| <br>     |  |            |
| <b>3</b> | <b>Description générale</b>              | <b>3-1</b> |
| 3.1      | Performances thermiques                  | 3-1        |
| 3.2      | Système optique                          | 3-2        |
| <br>     |  |            |
| <b>4</b> | <b>Procédures d'installation</b>         | <b>4-1</b> |
| 4.1      | Exigences de lieu d'installation         | 4-1        |
| 4.2      | Connexion d'alimentation CA              | 4-2        |
| 4.3      | Configuration requise de l'ordinateur    | 4-3        |
| 4.4      | Configuration de sécurité pour Windows 7 | 4-5        |

## Table des matières

---

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 4.5      | Déballage du Rotor-Gene Q MDx                                  | 4-7        |
| 4.6      | Accessoires  | 4-8        |
| 4.7      | Installation du matériel                                       | 4-8        |
| 4.8      | Installation du logiciel                                       | 4-10       |
| 4.9      | Version logicielle   | 4-14       |
| 4.10     | Installation de l'ensemble de dosage Rotor-Gene Q              | 4-15       |
| 4.11     | Logiciel supplémentaire pour les ordinateurs connectés         | 4-15       |
| 4.11.1   | Antivirus  | 4-15       |
| 4.11.2   | Pare-feu et réseaux  | 4-17       |
| 4.11.3   | Outils système   | 4-22       |
| 4.11.4   | Mises à jour du système d'exploitation                         | 4-22       |
| 4.12     | Mise à jour des logiciels                                      | 4-25       |
| <b>5</b> | <b>Procédures de fonctionnement – Matériel</b>                 | <b>5-1</b> |
| 5.1      | Types de rotor   | 5-1        |
| 5.2      | Préparation de la réaction                                     | 5-4        |
| 5.3      | Installation du Rotor-Disc                                     | 5-9        |
| <b>6</b> | <b>Procédures de fonctionnement – Logiciel</b>                 | <b>6-1</b> |
| 6.1      | Assistant de démarrage rapide                                  | 6-1        |
| 6.1.1    | Sélection du rotor   | 6-4        |
| 6.1.2    | Confirmer le profil  | 6-5        |
| 6.1.3    | Enregistrer le cycle d'exécution                               | 6-6        |
| 6.1.4    | Configuration des échantillons                                 | 6-7        |
| 6.2      | Assistant avancé   | 6-7        |
| 6.2.1    | Fenêtre 1 New Run Wizard (Assistant nouveau cycle d'exécution) | 6-10       |
| 6.2.2    | Fenêtre 2 New Run Wizard (Assistant nouveau cycle d'exécution) | 6-10       |
| 6.2.3    | Fenêtre 3 New Run Wizard (Assistant nouveau cycle d'exécution) | 6-11       |
| 6.2.4    | Modifier le profil   | 6-12       |



|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 6.2.5    | Fenêtre 4 New Run Wizard (Assistant nouveau cycle d'exécution) | 6-33       |
| 6.2.6    | Fenêtre 5 New Run Wizard (Assistant nouveau cycle d'exécution) | 6-34       |
| <b>7</b> | <b>Interface utilisateur d'analyse</b>                         | <b>7-1</b> |
| 7.1      | Espace de travail  | 7-1        |
| 7.2      | Barre d'outils   | 7-1        |
| 7.3      | Afficher les canaux bruts                                      | 7-1        |
| 7.4      | Basculer entre les échantillons                                | 7-4        |
| 7.5      | Menu Fichier   | 7-6        |
| 7.5.1    | Nouveau  | 7-6        |
| 7.5.2    | Ouvrir et enregistrer  | 7-8        |
| 7.5.3    | Rapports   | 7-11       |
| 7.5.4    | Configuration  | 7-11       |
| 7.6      | Menu Analyse   | 7-13       |
| 7.6.1    | Analyse  | 7-13       |
| 7.6.2    | Quantification   | 7-15       |
| 7.6.3    | Deux courbes étalons   | 7-37       |
| 7.6.4    | Quantification relative delta delta C <sub>T</sub>             | 7-42       |
| 7.6.5    | Analyse de la courbe de fusion                                 | 7-46       |
| 7.6.6    | Quantification comparative                                     | 7-50       |
| 7.6.7    | Discrimination allélique                                       | 7-53       |
| 7.6.8    | Analyse du graphique à points                                  | 7-56       |
| 7.6.9    | Analyse finale   | 7-59       |
| 7.6.10   | Analyse de concentration                                       | 7-68       |
| 7.6.11   | Analyse de fusion haute résolution                             | 7-71       |
| 7.7      | Menu de cycle d'exécution                                      | 7-73       |
| 7.7.1    | Démarrer le cycle d'exécution                                  | 7-73       |
| 7.7.2    | Suspendre le cycle d'exécution                                 | 7-73       |
| 7.7.3    | Arrêter le cycle d'exécution                                   | 7-74       |
| 7.8      | Menu d'affichage   | 7-74       |
| 7.8.1    | Paramètres de cycle d'exécution                                | 7-74       |
| 7.8.2    | Graphique de température                                       | 7-78       |

## Table des matières

---

|           |  |             |
|-----------|--|-------------|
| 7.8.3     | Progression du profil                                      | 7-79        |
| 7.8.4     | Modifier les échantillons                                  | 7-80        |
| 7.8.5     | Options d'affichage  | 7-90        |
| 7.9       | Protection d'accès pour le logiciel RGQ                    | 7-91        |
| 7.9.1     | Configuration pour Windows 7                               | 7-93        |
| 7.9.2     | Configuration pour Windows 10                              | 7-101       |
| 7.9.3     | Exécution de plusieurs utilisateurs sur un même ordinateur | 7-103       |
| 7.9.4     | Pistes d'audit   | 7-105       |
| 7.9.5     | Run Signatures (Signatures des cycles d'exécution)         | 7-106       |
| 7.9.6     | Verrouillage d'échantillon                                 | 7-108       |
| 7.9.7     | Modèles verrouillés  | 7-110       |
| 7.10      | Menu Gain  | 7-111       |
| 7.11      | Menu Fenêtre   | 7-112       |
| 7.12      | Fonction d'aide  | 7-112       |
| 7.12.1    | Envoyer un courriel de support                             | 7-113       |
| <b>8</b>  | <b>Fonctions supplémentaires</b>                           | <b>8-1</b>  |
| 8.1       | Modèles d'analyse  | 8-1         |
| 8.2       | Ouverture d'un deuxième cycle d'exécution                  | 8-1         |
| 8.3       | Options de mise à l'échelle                                | 8-2         |
| 8.4       | Exportation des graphiques                                 | 8-2         |
| 8.5       | Icône de clé   | 8-5         |
| 8.6       | Options de la zone sélectionnée                            | 8-7         |
| <b>9</b>  | <b>Procédures de maintenance</b>                           | <b>9-1</b>  |
| <b>10</b> | <b>Vérification de la température optique</b>              | <b>10-1</b> |
| 10.1      | Principe de l'OTV  | 10-1        |
| 10.2      | Composants du Rotor-Disc OTV Kit                           | 10-2        |
| 10.3      | Réalisation d'une OTV                                      | 10-2        |



|           |   |             |
|-----------|---|-------------|
| <b>11</b> | <b>Analyse de fusion haute résolution</b> | <b>11-1</b> |
| 11.1      | Instruments                               | 11-3        |
| 11.2      | Consignes pour une analyse HRM réussie    | 11-3        |
| 11.3      | Préparation des échantillons              | 11-6        |
| 11.4      | Configuration du logiciel                 | 11-7        |
| 11.5      | Analyse des données de real-time PCR      | 11-15       |
| 11.6      | Analyse des données HRM                   | 11-16       |
| <b>12</b> | <b>Dépannage</b>                          | <b>12-1</b> |
| 12.1      | Archives des journaux                     | 12-1        |
| 12.2      | Dépannage HRM                             | 12-1        |
| 12.3      | Erreurs générales liées aux instruments   | 12-3        |
| 12.4      | Messages du logiciel Rotor-Gene Q         | 12-12       |
| <b>13</b> | <b>Glossaire</b>                          | <b>13-1</b> |

Cette page est intentionnellement laissée vierge

# 1 Informations de sécurité


Avant d'utiliser le Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (Rotor-Gene Q MDx), vous devez impérativement lire ce manuel d'utilisation en portant 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 instructions et les informations de sécurité fournies dans le manuel.

Les types d'informations de sécurité suivants se retrouvent tout au long de ce manuel.


|   |   |
|---|---|
| <b>AVERTISSEMENT</b><br> | Le terme AVERTISSEMENT est utilisé pour indiquer des situations pouvant occasionner des <b>blessures</b> à vous ou à d'autres personnes. Les détails concernant ces circonstances sont présentés dans un encadré identique à celui-ci.          |
| <b>MISE EN GARDE</b><br> | Le terme MISE EN GARDE est utilisé pour indiquer des situations pouvant occasionner des <b>dommages à l'instrument</b> ou à d'autres équipements. Les détails concernant ces circonstances sont présentés dans un encadré identique à celui-ci. |


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


## 1.1 Utilisation appropriée

|  |   |
|--|---|
| <b>AVERTISSEMENT/<br/>MISE EN GARDE</b><br> | <b>Risque de blessures et dommages</b> [W1]<br>L'utilisation inappropriée du Rotor-Gene Q MDx peut provoquer des blessures ou endommager l'instrument.<br>Seul un personnel qualifié dûment formé est habilité à utiliser le Rotor-Gene Q MDx.<br>L'entretien du Rotor-Gene Q MDx doit être effectué exclusivement par des spécialistes de l'entretien sur site QIAGEN. |
|--|---|






Procédez à la maintenance comme décrit dans la section 9. QIAGEN facture les réparations dues à une maintenance incorrecte.


|  |  |
|--|--|
| <b>AVERTISSEMENT/<br/>MISE EN GARDE</b><br> | <b>Risque de blessures et dommages</b> [W2]<br>Le Rotor-Gene Q MDx est un instrument lourd. Afin d'éviter toute blessure ou tout dommage, soulevez-le avec prudence. |
|--|--|

|   |  |
|---|--|
| <b>AVERTISSEMENT/<br/>MISE EN GARDE</b><br> | <b>Risque de blessures et dommages</b> [W3]<br>N'essayez pas de déplacer le Rotor-Gene Q MDx en cours de fonctionnement. |
|---|--|

|   |  |
|---|--|
| <b>MISE EN GARDE</b><br> | <b>Détérioration de l'instrument</b> [C1]<br>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 annule la garantie. |
|---|--|

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


|  |  |
|--|--|
| <p><b>AVERTISSEMENT/<br/>MISE EN GARDE</b></p>    | <p><b>Risque de blessures et dommages</b> <span style="float: right;">[W4]</span></p> <p>Ne tentez pas d'ouvrir le capot en cours de fonctionnement ou pendant 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 en mouvement à vitesse élevée, et vous pourriez vous blesser et endommager l'instrument.</p> |
| <p><b>AVERTISSEMENT/<br/>MISE EN GARDE</b></p>    | <p><b>Risque de blessures et dommages</b> <span style="float: right;">[W5]</span></p> <p>Si vous devez impérativement arrêter une expérience rapidement, mettez l'instrument hors tension puis soulevez le capot. Laissez la chambre refroidir avant d'accéder à l'intérieur. Autrement, vous risquez de vous blesser en touchant des éléments brûlants.</p>   |
| <p><b>AVERTISSEMENT/<br/>MISE EN GARDE</b></p>    | <p><b>Risque de blessures et dommages</b> <span style="float: right;">[W6]</span></p> <p>Si l'équipement est utilisé d'une manière non spécifiée par le fabricant, la protection qu'il offre risque d'en être affectée.</p>  |
| <p><b>AVERTISSEMENT/<br/>MISE EN GARDE</b></p>  | <p><b>Risque de blessures et dommages</b> <span style="float: right;">[W7]</span></p> <p>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>   |
| <p><b>MISE EN GARDE</b></p>                     | <p><b>Détérioration de l'instrument</b> <span style="float: right;">[C2]</span></p> <p>Utilisez toujours un anneau de verrouillage sur le rotor. Cela empêche les bouchons de sortir des tubes en cours d'expérience. Si les bouchons se détachent en cours d'expérience, ils peuvent endommager la chambre.</p>   |

|   |  |
|---|--|
| <b>MISE EN GARDE</b><br> | <b>Détérioration de l'instrument</b> [C3]<br>Inspectez le rotor à l'œil nu avant chaque cycle d'exécution et assurez-vous qu'il n'est ni endommagé ni déformé. |
|---|--|

Si vous touchez le Rotor-Gene Q MDx en cours d'expérience alors que vous êtes chargé en 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.

## 1.2 Sécurité électrique

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

|   |  |
|---|--|
| <b>AVERTISSEMENT</b><br> | <b>Danger électrique</b> [W8]<br>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.<br>Toute interruption intentionnelle est interdite.<br><b>Tensions mortelles à l'intérieur de l'instrument</b><br>Lorsque l'instrument est relié à l'alimentation, les bornes peuvent être sous tension et l'ouverture de capots ou le retrait d'éléments risque d'exposer des éléments sous tension. |
|---|--|

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 relié à une prise d'alimentation 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-le hors tension, débranchez-le de la prise secteur puis contactez les services techniques QIAGEN.


Si l'utilisation de l'instrument devient électriquement dangereuse, empêchez le reste du personnel de le mettre en service et contactez les services techniques QIAGEN. L'instrument peut présenter un risque électrique dans les cas suivants :


- L'instrument ou son cordon d'alimentation semble être détérioré.
- Il a été stocké dans des conditions défavorables pendant une longue période.
- Il a subi des chocs sévères durant le transport.

|   |  |
|---|--|
| <b>AVERTISSEMENT</b><br> | <b>Danger électrique</b> <span style="float: right;">[W9]</span><br>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. |
|---|--|

## 1.3 Environnement

### Conditions de fonctionnement

|   |  |
|---|--|
| <b>AVERTISSEMENT</b><br> | <b>Atmosphère explosive</b> <span style="float: right;">[W10]</span><br>Le Rotor-Gene Q MDx n'est pas conçu pour être utilisé dans une atmosphère explosive. |
|---|--|


|   |   |
|---|---|
| <b>MISE EN GARDE</b><br> | <b>Détérioration de l'instrument</b> [C4]<br>L'exposition à la lumière directe du soleil peut provoquer le blanchiment de certains éléments de l'instrument et détériorer les composants en plastique. Le Rotor-Gene Q MDx doit être tenu à l'abri de la lumière directe du soleil. |
|---|---|

## 1.4 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 telles que décrites dans des publications telles que *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, HHS ([www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/biosfty.htm](http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/biosfty.htm)).

### Échantillons

Les échantillons peuvent contenir des agents infectieux. Vous devez connaître le risque pour la santé que ces agents représentent et vous devez utiliser, stocker et mettre au rebut ce genre d'échantillons conformément aux règles de sécurité applicables.

|   |  |
|---|--|
| <p><b>AVERTISSEMENT</b></p>  | <p><b>Échantillons contenant des agents infectieux</b> <sup>[W11]</sup></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 applicables.</p> <p>Portez toujours des lunettes de protection, 2 paires de gants et un sarrau de laboratoire.</p> <p>La personne responsable (p. ex. le directeur du laboratoire) doit prendre les précautions nécessaires pour s'assurer que l'espace de travail environnant 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 tel que défini dans les fiches de données de sécurité (FDS) ou dans les documents applicables de l'OSHA,* de l'ACGIH,<sup>†</sup> ou du COSHH<sup>‡</sup>.</p> <p>L'évacuation des vapeurs et la mise au rebut des déchets doivent être effectuées conformément à toutes les réglementations et lois nationales, régionales et locales relatives à la santé et à la sécurité.</p> |
|---|--|

## 1.5 Produits chimiques

|   |  |
|---|--|
| <p><b>AVERTISSEMENT</b></p>  | <p><b>Produits chimiques dangereux</b> [W12]</p> <p>Certains produits chimiques utilisés avec cet instrument peuvent être dangereux ou le devenir après le cycle d'exécution du protocole.</p> <p>Portez toujours des lunettes de protection, des gants et un sarrau de laboratoire.</p> <p>La personne responsable (p. ex. le directeur du laboratoire) doit prendre les précautions nécessaires pour s'assurer que l'espace de travail environnant est sûr et que les opérateurs travaillant sur l'instrument ne sont pas exposés à des niveaux dangereux de substances toxiques (chimiques ou biologiques) comme décrit dans les fiches de données de sécurité (FDS) ou dans les documents applicables de l'OSHA*, de l'ACGIH† ou du COSHH‡.</p> <p>L'évacuation des vapeurs et la mise au rebut des déchets doivent être effectuées conformément à toutes les réglementations et lois nationales, régionales et locales relatives à la santé et à la sécurité.</p> |
|---|--|

\* OSHA : Occupational Safety and Health Administration (Administration de la santé et de la sécurité au 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 vous utilisez des solvants ou des substances toxiques volatil(e)s, vous devez disposer d'un système de ventilation de laboratoire efficace pour évacuer les vapeurs qui peuvent être générées.





## 1.6 Mise au rebut des déchets




Les consommables et le matériel en plastique usagés peuvent contenir des produits chimiques ou des agents infectieux

dangereux. Ces déchets doivent être convenablement collectés et mis au rebut conformément aux règles de sécurité locales.


## 1.7 Dangers mécaniques


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

|  |   |
|--|---|
| <p><b>AVERTISSEMENT</b></p>                     | <p><b>Pièces mobiles</b> <span style="float: right;">[W13]</span></p> <p>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.</p>  |
| <p><b>AVERTISSEMENT/<br/>MISE EN GARDE</b></p>  | <p><b>Risque de blessures et dommages</b> <span style="float: right;">[W14]</span></p> <p>Ouvrez et fermez le capot du Rotor-Gene Q MDx avec précaution pour éviter de vous pincer les doigts ou de coincer vos vêtements.</p>  |
| <p><b>MISE EN GARDE</b></p>                     | <p><b>Détérioration de l'instrument</b> <span style="float: right;">[C5]</span></p> <p>Vérifiez que le rotor et l'anneau de verrouillage sont correctement installés. Si le rotor ou l'anneau 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>  |
| <p><b>MISE EN GARDE</b></p>                   | <p><b>Détérioration de l'instrument</b> <span style="float: right;">[C6]</span></p> <p>Le Rotor-Gene Q MDx ne doit pas être utilisé si le capot est cassé ou si le verrou du capot est endommagé. Vérifiez que le rotor et l'anneau de verrouillage sont correctement installés. Utilisez uniquement des rotors, des anneaux de verrouillage et des consommables conçus pour être utilisés avec le Rotor-Gene Q MDx. Les détériorations causées par l'utilisation d'autres consommables annulent la garantie.</p> |

|   |  |
|---|--|
| <p><b>MISE EN GARDE</b></p>  | <p><b>Détérioration de l'instrument</b> <span style="float: right;">[C7]</span></p> <p>Si le Rotor-Gene Q MDx est utilisé immédiatement après avoir été livré dans une zone climatique froide, certaines pièces mécaniques peuvent se bloquer. Laissez l'instrument se stabiliser à température ambiante pendant au moins une heure avant de le mettre sous tension.</p> |
| <p><b>AVERTISSEMENT</b></p>  | <p><b>Pièces mobiles</b> <span style="float: right;">[W15]</span></p> <p>En cas de pannes provoquées par une coupure de courant, retirez le cordon d'alimentation et attendez 10 minutes avant d'essayer d'ouvrir le capot manuellement.</p>   |
| <p><b>AVERTISSEMENT</b></p>  | <p><b>Risque de surchauffe</b> <span style="float: right;">[W16]</span></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. Les fentes et les ouvertures qui garantissent la ventilation du Rotor-Gene Q MDx ne doivent pas être obstruées.</p>                                      |


## 1.8 Danger lié à la chaleur


|   |  |
|---|--|
| <p><b>AVERTISSEMENT</b></p>  | <p><b>Surface chaude</b> <span style="float: right;">[W17]</span></p> <p>La chambre du Rotor-Gene Q MDx peut atteindre des températures supérieures à 120 °C. Évitez de la toucher lorsqu'elle est chaude.</p> |
|---|--|


|   |   |
|---|---|
| <p><b>AVERTISSEMENT</b></p>  | <p><b>Surface chaude</b> <span style="float: right;">[W18]</span></p> <p>Lorsqu'un cycle d'exécution est suspendu, 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 quelconque de l'instrument.</p> |
|---|---|


## 1.9 Maintenance

Procédez à la maintenance comme décrit dans la section 9. QIAGEN facture les réparations dues à une maintenance incorrecte.








|  |  |
|--|--|
| <p><b>AVERTISSEMENT/<br/>MISE EN GARDE</b></p>  | <p><b>Risque de blessures et dommages</b> <span style="float: right;">[W19]</span></p> <p>Effectuez uniquement la maintenance qui est décrite spécifiquement dans le présent manuel d'utilisation.</p> |
|--|--|

|   |   |
|---|---|
| <p><b>AVERTISSEMENT</b></p>  | <p><b>Risque d'incendie</b> <span style="float: right;">[W20]</span></p> <p>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.</p> <p>Nettoyez le Rotor-Gene Q MDx uniquement une fois que la chambre a refroidi.</p> |
|---|---|




|  |  |
|--|--|
| <p><b>AVERTISSEMENT/<br/>MISE EN GARDE</b></p>  | <p><b>Risque de décharge électrique</b> <span style="float: right;">[W21]</span></p> <p>Ne démontez pas l'instrument Rotor-Gene Q MDx.</p> |
|--|--|

|   |  |
|---|--|
| <b>MISE EN GARDE</b><br> | <b>Détérioration du boîtier de l'instrument</b> [C8]<br>Ne nettoyez jamais le boîtier de l'instrument avec de l'alcool ou des solutions à base d'alcool. L'alcool endommagera le boîtier. Utilisez uniquement de l'eau distillée pour nettoyer le boîtier. |
|---|--|

### 1.10 Symboles apposés sur le Rotor-Gene Q MDx

| Symbole   | Emplacement   | Description   |
|---|---|---|
|    | À proximité de la chambre d'échantillon, visible une fois le capot ouvert | Danger lié à la chaleur – la chambre peut atteindre des températures supérieures à 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 à l'arrière de l'instrument                           | Fabricant légal   |
|  | Plaque signalétique à l'arrière de l'instrument                           | Symbole DEEE pour l'Europe  |



| <b>Symbole</b>  | <b>Emplacement</b>                                 | <b>Description</b>   |
|---|--|--|
|  | Plaque signalétique<br>à l'arrière de l'instrument | Marquage FCC de la commission<br>fédérale des communications des<br>États-Unis<br>(United States Federal<br>Communications Commission,<br>USFCC)             |
|  | Plaque signalétique<br>à l'arrière de l'instrument | Marquage RCM pour l'Australie<br>(identifiant du fournisseur N17965)   |
|  | Plaque signalétique<br>à l'arrière de l'instrument | Marquage RoHS pour la Chine<br>(restriction de l'utilisation de<br>certaines substances dangereuses<br>dans les équipements électriques<br>et électroniques) |

Cette page est intentionnellement laissée vierge

## **2 Introduction**

Nous vous remercions 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 le présent 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 instructions et les informations de sécurité fournies dans le manuel.

### **2.1 À propos de ce manuel d'utilisation**

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

1. Informations de sécurité
2. Introduction
3. Description générale
4. Procédures d'installation
5. Procédures de fonctionnement – Matériel
6. Procédures de fonctionnement – Logiciel
7. Interface utilisateur d'analyse
8. Fonctions supplémentaires
9. Procédures de maintenance
10. Vérification de la température optique
11. Analyse de fusion haute résolution
12. Dépannage
13. Glossaire

Les annexes contiennent les informations suivantes :

- Données techniques
- Techniques mathématiques
- Instrument Rotor-Gene Q MDx et accessoires
- Clause de responsabilité

## 2.2 Informations générales

### 2.2.1 Assistance technique

Chez QIAGEN, nous sommes fiers de la qualité et de la disponibilité de notre support technique. Nos départements du service technique sont composés de scientifiques expérimentés bénéficiant d'un vaste savoir-faire pratique et théorique en ce qui concerne la biologie moléculaire et 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 constituent une importante source d'informations au sujet des utilisations avancées ou spécifiques de nos produits. Ces informations sont utiles à d'autres scientifiques ainsi qu'aux chercheurs de QIAGEN. En conséquence, n'hésitez pas à prendre contact avec nous pour toute suggestion concernant les performances des produits ou de nouvelles applications et techniques.

Pour toute assistance technique ou pour plus d'informations, appelez l'un des départements du service technique QIAGEN ou les distributeurs locaux (voir la quatrième de couverture).

Pour obtenir des informations actualisées sur le Rotor-Gene Q MDx, visitez notre site [www.qiagen.com/p/RGQ-MDx-CA](http://www.qiagen.com/p/RGQ-MDx-CA).

### 2.2.2 Déclaration de principe

La politique de QIAGEN consiste à améliorer ses produits à mesure que de nouvelles techniques et de nouveaux composants deviennent disponibles. QIAGEN se réserve le droit de modifier des spécifications 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.

### **2.2.3 Gestion des versions**

Le présent document est le *Manuel d'utilisation du Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (CA)*, révision R3.

## **2.3 Utilisation prévue du Rotor-Gene Q MDx**

L'instrument Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM muni du logiciel Rotor-Gene Q version 2.3.4 ou supérieure est conçu pour le cyclage thermique, la détection et/ou la quantification en temps réel 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 dans les applications décrites dans les manuels des troussees QIAGEN correspondants.

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 à la manipulation du Rotor-Gene Q MDx.

Cette page est intentionnellement laissée vierge

## 3 Description générale

Le Rotor-Gene Q MDx est un instrument innovant qui permet une real-time PCR de grande précision et qui convient parfaitement aux applications de diagnostic in vitro.

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



### 3.1 Performances thermiques

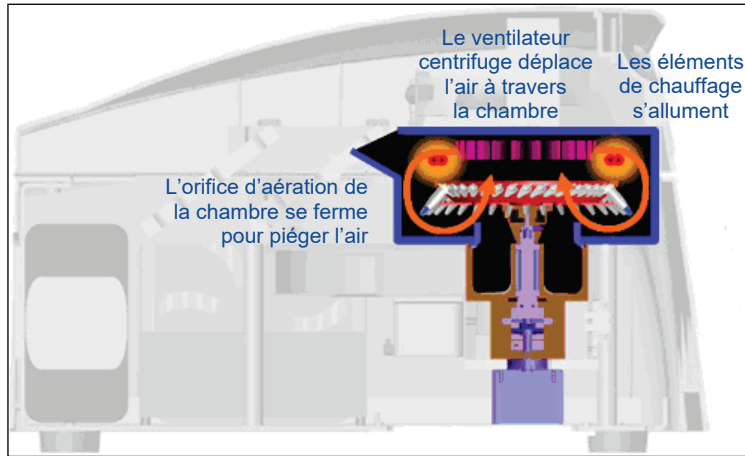
Le Rotor-Gene Q MDx utilise une conception avancée de chauffage et refroidissement pour réunir des conditions de réaction optimales. Son format rotatif unique garantit une uniformité thermique et optique optimale entre les échantillons, un critère essentiel pour la fiabilité et la précision de l'analyse.

Les échantillons tournent en continu à 400 tr/min au cours d'un cycle d'exécution. La centrifugation empêche toute condensation et élimine les bulles d'air mais sans que l'ADN forme un culot. De plus, il n'est pas nécessaire de ralentir la centrifugation des échantillons avant un cycle d'exécution.

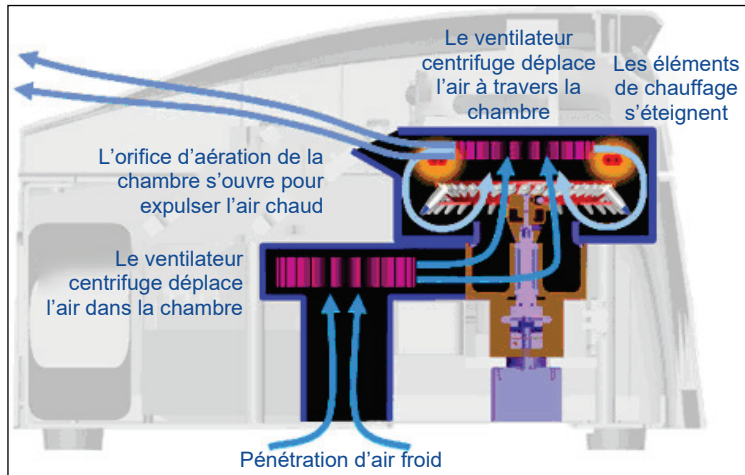
Les échantillons sont chauffés puis refroidis dans une étuve de faible masse. Le chauffage est assuré par un composant en nickel-chrome intégré au capot. La chambre est refroidie par

évacuation de l'air par le haut tandis que l'air ambiant est soufflé à travers la base.

### Chauffage



### Refroidissement



**Illustration du système de chauffage et refroidissement.**

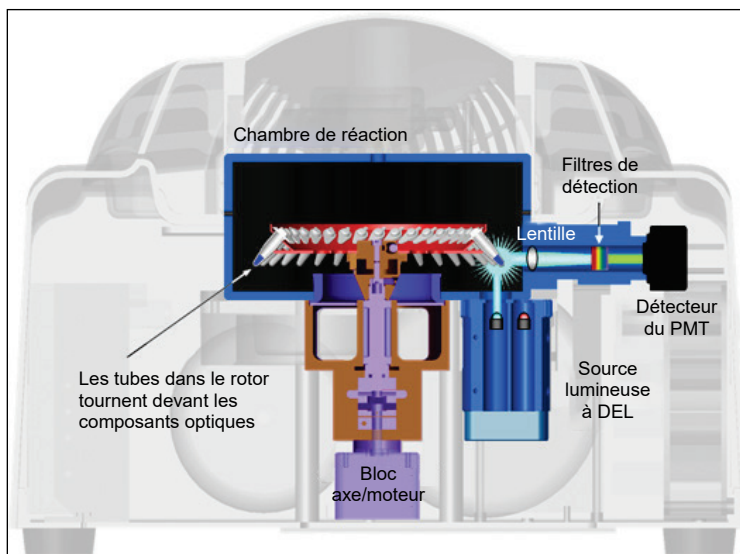
## 3.2 Système optique

Grâce à 6 sources d'excitation et 6 filtres de détection associés à un chemin optique court et fixe, le Rotor-Gene Q MDx



peut être utilisé pour des réactions multiplexes, assurant une variabilité minimale de la fluorescence entre les échantillons et permettant d'éviter l'étalonnage ou la compensation.

Les échantillons sont excités par le bas de la chambre par une diode électroluminescente (DEL). L'énergie est transmise à travers les fines parois à la base du tube. La fluorescence émise traverse les filtres d'émission sur le côté de la chambre avant d'être récupérée par un photomultiplicateur. Le chemin optique fixe assure une excitation constante pour chaque échantillon, autrement dit il est inutile d'utiliser un colorant de référence interne passive tel que le ROX™.



**Illustration du système optique.**

### Canaux disponibles

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

**Remarque :** Les trousseaux QIAGEN à utiliser avec les instruments Rotor-Gene Q MDx sont optimisées quant à certaines combinaisons de colorants. Consultez le mode d'emploi (manuel) correspondant pour plus d'informations.

## 4 Procédures d'installation

### 4.1 Exigences de lieu d'installation

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

Reportez-vous à l'Annexe A pour le poids et les dimensions des instruments Rotor-Gene Q MDx. Veillez à ce que la paillasse soit sèche et propre, et qu'elle présente 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 primordial de placer l'instrument Rotor-Gene Q MDx sur une surface stable, de niveau et non soumise à des vibrations. Pour plus de conseils, consultez les conditions de fonctionnement en Annexe A.

L'instrument Rotor-Gene Q MDx doit être placé à environ 1,5 m maximum d'une prise secteur CA mise à la terre.

**AVERTISSEMENT****Atmosphère explosive**

[W10]

L'instrument Rotor-Gene Q MDx n'est pas conçu pour être utilisé dans une atmosphère explosive.

|   |   |
|---|---|
| <b>AVERTISSEMENT</b><br> | <b>Risque de surchauffe</b> <span style="float: right;">[W16]</span><br>Pour garantir une bonne ventilation, laissez un dégagement d'au moins 10 cm à l'arrière de l'instrument Rotor-Gene Q MDx.<br>Les fentes et les ouvertures qui garantissent la ventilation de l'instrument Rotor-Gene Q MDx ne doivent pas être obstruées. |
|---|---|

## 4.2 Connexion d'alimentation CA

### Exigences relatives à l'alimentation

Le Rotor-Gene Q MDx fonctionne avec l'alimentation suivante :

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

Vérifiez 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.

### Exigences de mise à la terre

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

### Installation du cordon d'alimentation CA

Branchez 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.

## 4.3 Configuration requise de l'ordinateur

L'ordinateur portable, fourni avec le Rotor-Gene Q MDx, est conforme à la configuration requise du logiciel Rotor-Gene Q détaillée dans le tableau ci-après.

### Configuration système requise de l'ordinateur

| Description                     | Configuration minimale requise   |
|---------------------------------|--|
| Système d'exploitation          | Microsoft Windows 7 Professionnel (32 et 64 bits)*<br>(Service Pack 1)<br>Microsoft Windows 10 Professionnel 64 bits |
| Processeur <sup>†</sup>         | Intel® Core™ 2 Duo 1,66 GHz ou version supérieure  |
| Mémoire principale <sup>†</sup> | Minimum 1 Go de RAM  |
| Espace disque <sup>†</sup>      | 10 Go minimum d'espace disque dur  |
| Composants graphiques           | Adaptateur et écran d'au moins 1 200 × 800 pixels  |
| Ports <sup>†</sup>              | Port USB ou port série RS-232  |
| Lecteur DVD-ROM                 | 1  |
| Dispositif de pointage          | Pavé tactile, souris ou équivalent nécessaire  |
| Bluetooth®                      | Doit être désactivé  |
| Visionneuse PDF ou similaire    | Doit être installée, ne fait pas partie de l'ensemble d'installation de 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 nécessaire pour exécuter le logiciel Rotor-Gene Q avec les fonctionnalités de sécurité (voir la section 7.9). Les fonctionnalités de sécurité ne sont pas disponibles si vous utilisez l'édition familiale de Windows 10 ou de Windows 7.

† Si vous utilisez le logiciel Rotor-Gene AssayManager version 1.0 ou 2.1, la configuration minimale requise de l'ordinateur est différente : Processeur Intel Core i3-380M, 4 Go de RAM, 250 Go d'espace disque, port USB requis

## 4.4 Configuration de sécurité pour Windows 7

Les ordinateurs portables fournis par QIAGEN, à utiliser avec votre instrument Rotor-Gene Q MDx, disposent d'une version préinstallée de Microsoft Windows 7 et sont configurés avec un compte d'utilisateur Windows standard (sans droits d'administration) et un compte d'administrateur. Le compte standard doit être utilisé en cas d'utilisation normale du système, car le logiciel Rotor-Gene Q et le Rotor-Gene AssayManager version 1.0 ou 2.1 sont conçus pour être exécutés sans droits d'administrateur. Le compte d'administrateur ne doit être utilisé que pour installer le logiciel Rotor-Gene Q ou Rotor-Gene AssayManager version 1.0 or 2.1 ainsi qu'un antivirus (consultez le chapitre dédié aux logiciels Antivirus). L'utilisation du compte d'administrateur est indiquée par un arrière-plan du bureau rouge. Veuillez vous assurer de toujours vous connecter en tant qu'utilisateur standard pour une utilisation normale.

Le mot de passe par défaut du compte d'administrateur est le suivant : « Q1a#g3n!A6 ». Modifiez le mot de passe du compte d'administrateur 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, nous vous conseillons de contacter Microsoft pour obtenir de l'aide.

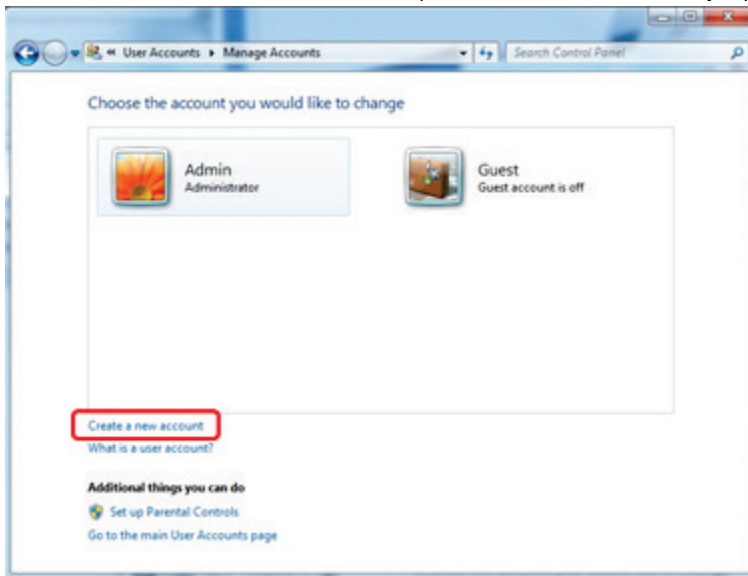
Si votre configuration est différente et qu'aucun compte non administrateur n'est disponible, il est recommandé aux administrateurs système de configurer un compte d'utilisateur Windows standard supplémentaire afin de bloquer l'accès aux zones critiques du système, comme « Program Files » (Programmes),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

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

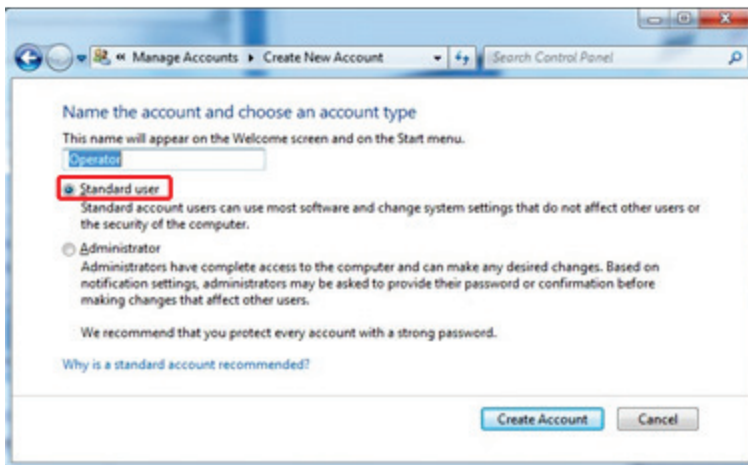
## Procédures d'installation

Ouvrez le panneau de configuration de Windows par le menu **Start** (Démarrer) puis sélectionnez **User Accounts/Manage Accounts** (Comptes d'utilisateurs/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 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 :** Vérifiez bien cette liste pour vous assurer d'avoir reçu tous les composants.

**Remarque :** Vérifiez avant l'installation que l'instrument et les accessoires fournis ne présentent aucun dommage imputable au transport.

Le carton des accessoires est posé sur un lit de mousse d'emballage. Il contient :

- Guide d'installation de Rotor-Gene Q
- CD (Logiciel Rotor-Gene Q)
- CD (*Manuel d'utilisation du Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM [CA]*)
- Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes
- Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes
- Rotor Holder (démonté pour le transport)
- 36-Well Rotor (ce rotor est de couleur rouge)
- 36-Well Rotor Locking Ring

Les composants suivants sont emballés individuellement de part et d'autre de la mousse d'emballage :

- Câble USB et câble série RS-232
- Jeu de cordons d'alimentation pour les différentes régions
- PCR Tubes, 0.2 ml (1000)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (1000)

Une fois que vous avez sorti tous ces composants du carton, retirez la mousse d'emballage au-dessus du Rotor-Gene Q MDx. Sortez délicatement le Rotor-Gene Q MDx du carton et débarrassez-le de son film en plastique. Ouvrez le capot en le faisant coulisser vers l'arrière pour accéder à la chambre de réaction.

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

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

Un ordinateur portable est également fourni.


Une fois le Rotor-Gene Q MDx déballé, installez l'instrument comme décrit ci-après.

### 4.6 Accessoires

Vous pouvez commander séparément les accessoires à utiliser avec le Rotor-Gene Q MDx. Pour plus de détails, reportez-vous à l'Annexe C.

### 4.7 Installation du matériel

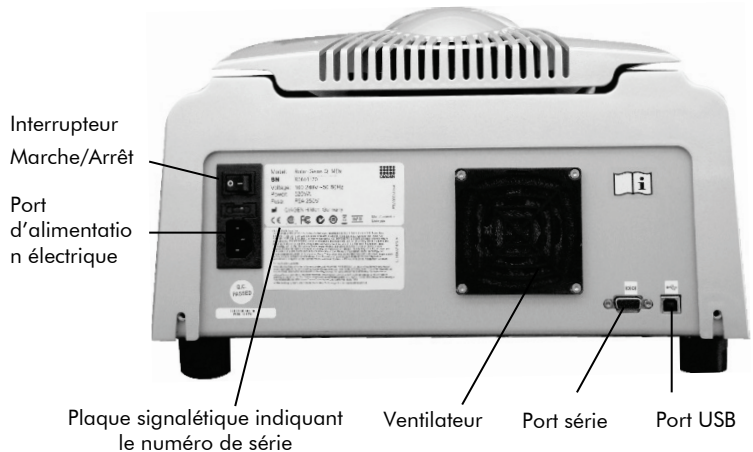
Une fois le Rotor-Gene Q MDx déballé, procédez à l'installation comme décrit ci-après.

|   |  |
|---|--|
| <p><b>MISE EN GARDE</b></p>  | <p><b>Détérioration de l'instrument</b> <span style="float: right;">[C6]</span></p> <p>Si le Rotor-Gene Q MDx est utilisé immédiatement après avoir été livré dans une zone climatique froide, certaines pièces mécaniques peuvent se bloquer. Laissez l'instrument se stabiliser à température ambiante pendant au moins une heure avant de le mettre sous tension.</p> |
|---|--|

1. Placez le Rotor-Gene Q MDx sur une surface de niveau non soumise à des vibrations.
2. Veillez à laisser un espace suffisant derrière l'instrument pour l'ouverture complète du capot.
3. Assurez-vous de pouvoir atteindre sans difficulté l'interrupteur d'alimentation à l'arrière de l'instrument.
4. N'encombrez pas l'arrière de l'instrument. Assurez-vous de pouvoir débrancher facilement le cordon d'alimentation si nécessaire, afin de mettre l'instrument hors tension.
5. Vous devez installer le logiciel Rotor-Gene Q sur l'ordinateur portable avant de connecter ce dernier

au Rotor-Gene Q MDx. Reportez-vous à la section 4.7, ou au *Guide d'installation de Rotor-Gene Q* fourni avec l'instrument, pour savoir comment installer le logiciel Rotor-Gene Q.

6. Branchez le câble USB ou le câble série RS-232 à un port USB ou à un port de communication à l'arrière de l'ordinateur.
7. Branchez le câble USB ou le câble série RS-232 à l'arrière du Rotor-Gene Q MDx.
8. Raccordez le Rotor-Gene Q MDx à l'alimentation électrique en branchant 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 :** Raccordez le Rotor-Gene Q MDx à l'ordinateur à l'aide des câbles USB et série fournis avec l'instrument. N'utilisez pas d'autres câbles.

### 4.8 Installation du logiciel

1. Pour installer le logiciel Rotor-Gene Q, insérez le CD (logiciel Rotor-Gene Q) fourni avec l'instrument dans le lecteur CD de l'ordinateur.
2. Sélectionnez « Install Operating Software » (Installer le logiciel d'exploitation) dans la fenêtre qui s'ouvre.  
**Remarque :** Reportez-vous au *Guide d'installation de Rotor-Gene Q* fourni avec l'instrument pour installer facilement le logiciel en suivant les étapes pas à pas.



3. Une fois le logiciel installé, une icône apparaît automatiquement sur le bureau.
4. Mettez le Rotor-Gene Q MDx sous tension en commutant l'interrupteur situé à l'arrière, du côté gauche, en position « I » (Marche). Un voyant bleu « Standby » (Veille) à l'avant

du Rotor-Gene Q MDx indique que l'instrument est prêt à l'emploi.

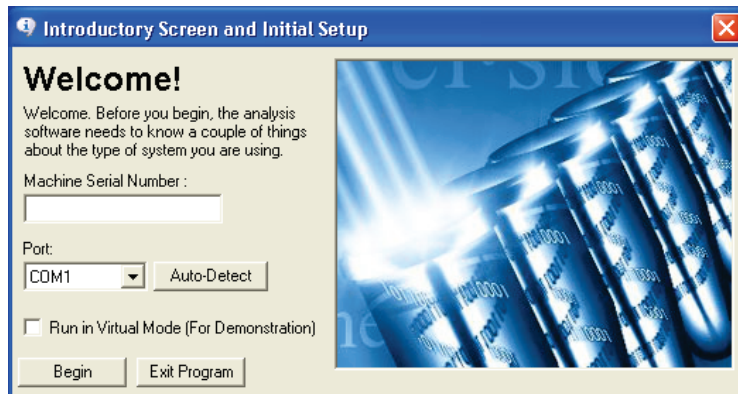
**Remarque** : Lors du premier démarrage du Rotor-Gene Q MDx connecté à un ordinateur, le système d'exploitation le reconnaît et un certain nombre de messages apparaissent. Reportez-vous au *Guide d'installation de Rotor-Gene Q* fourni avec l'instrument pour plus d'informations.



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 la première fois que vous lancez le logiciel, mais n'apparaît plus lors des mises à niveau logicielles ultérieures.



- Machine Serial Number (Numéro de série de la machine) :** Saisissez le numéro de série (7 chiffres) indiqué à l'arrière du Rotor-Gene Q MDx.
- Port :** Choisissez un câble USB ou un 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 affiché dans la liste déroulante « Port ».

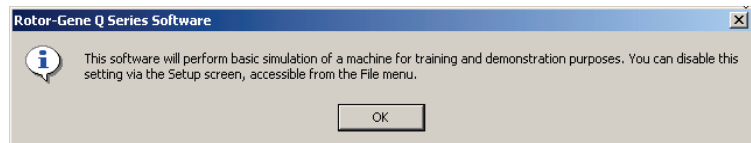
Run in Virtual Mode (For Demonstration) (Lancer en mode virtuel [Démo]) :

En cochant cette case, vous autorisez l'installation du logiciel Rotor-Gene Q sur un ordinateur qui n'est pas connecté au Rotor-Gene Q MDx. 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 début du cycle d'exécution : « You are about to run in Virtual mode » (Vous allez lancer un cycle d'exécution en mode virtuel). Pour effectuer un vrai cycle d'exécution, modifiez la configuration dans la fenêtre « Setup » (Configuration) (voir la section 7.5.4).

« Begin » (Commencer) :

Une fois toutes les informations saisies, cliquez sur « Begin » (Commencer). Attendez la fin de l'initialisation, cela peut prendre quelques secondes. Si vous avez opté pour le mode virtuel, le message suivant apparaît :



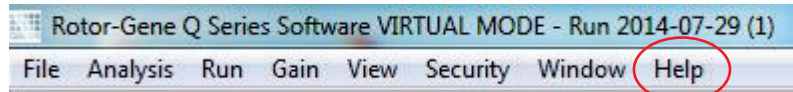
Si vous décochez la case « Run in Virtual Mode » (Lancer en mode virtuel), le logiciel est initialisé et s'ouvre automatiquement.

« Exit Program » (Quitter le programme) :

Cliquez sur ce bouton pour quitter le programme.

### 4.9 Version logicielle

Pour connaître votre numéro de version, cliquez sur « Help » (Aide) puis sur « About This Software... » (À propos de ce logiciel).



La fenêtre « About This Software... » (À propos de ce logiciel) affiche des informations générales sur le logiciel, notamment la version, ainsi que le numéro de série et le modèle de l'instrument.



Le logiciel peut être librement copié au sein d'un même établissement équipé d'un Rotor-Gene Q MDx. Mais il ne peut être ni copié ni distribué à d'autres établissements.



## 4.10 Installation de l'ensemble de dosage Rotor-Gene Q

Les ensembles de dosage contiennent les fichiers nécessaires à l'exécution et à l'analyse de certains types de dosages. Chaque ensemble de dosage nécessite une installation du logiciel distincte. L'installation copie les fichiers requis dans le système et crée un ou plusieurs raccourcis sur le bureau. L'installation et l'utilisation de chaque ensemble de dosage spécifique sont décrites en détails dans le mode d'emploi (manuel) correspondant.

## 4.11 Logiciel supplémentaire pour les ordinateurs connectés

Le logiciel Rotor-Gene Q gère les processus prioritaires pendant le cycle de PCR et le processus d'acquisition des données. C'est pourquoi il convient de vérifier qu'aucun autre processus n'utilise d'importantes ressources du système, cela 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.

### 4.11.1 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 versions 1.0 et 2.1 est conçu pour être principalement installé dans des environnements où des stratégies locales permettent de réduire cette menace. Cependant, QIAGEN recommande d'utiliser malgré tout un antivirus. Le choix et l'installation d'un outil de détection des virus approprié incombent à l'utilisateur. Toutefois, QIAGEN a validé la compatibilité des logiciels Rotor-Gene Q et Rotor-Gene AssayManager versions 1.0 et 2.1 sur l'ordinateur portable QIAGEN avec les deux logiciels antivirus suivants :

- Symantec Endpoint Protection V12.1.6
- Microsoft Security Essentials V4.10.209 <sup>1</sup>

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 versions 1.0 et 2.1.

Si un antivirus est sélectionné, vérifiez qu'il peut être configuré de façon à exclure des analyses le chemin 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, le chemin du dossier doit être exclu et pas seulement les fichiers individuels. L'utilisation d'antivirus qui ne permettent d'exclure que des fichiers individuels, comme McAfee Antivirus Plus V16.0.5, est déconseillée. Si l'ordinateur est utilisé dans un environnement sans accès réseau, vérifiez également que l'antivirus autorise les mises à jour hors ligne.

Afin d'obtenir des résultats homogènes après l'installation d'un antivirus, un administrateur système doit contrôler les points suivants :

- Comme expliqué ci-dessus, le chemin du dossier de la base de données de Rotor-Gene AssayManager 1.0 et 2.1 doit être exclu des analyses antivirus. Il s'agit du chemin suivant : C:\Program Files\Microsoft SQL Server\MSSQL10\_50.RGAMINSTANCE\MSSQL\DATA
- Les mises à jour de la base de données de virus ne sont pas effectuées lorsque Rotor-Gene AssayManager 1.0 et 2.1 est en cours d'utilisation.

<sup>1</sup> **Remarque** : Après l'installation de « Microsoft Security Essentials », vous devez vérifier que les mises à jour Windows ont été désactivées car l'installation risque d'activer ce paramètre (consultez le chapitre « Mises à jour du système d'exploitation »).

- Vérifiez que les analyses partielles ou complètes du disque dur sont désactivées pendant l'acquisition des données de real-time PCR. Dans le cas contraire, les performances de l'instrument peuvent être affectées.

Consultez le manuel de l'antivirus utilisé pour plus d'informations sur sa configuration.

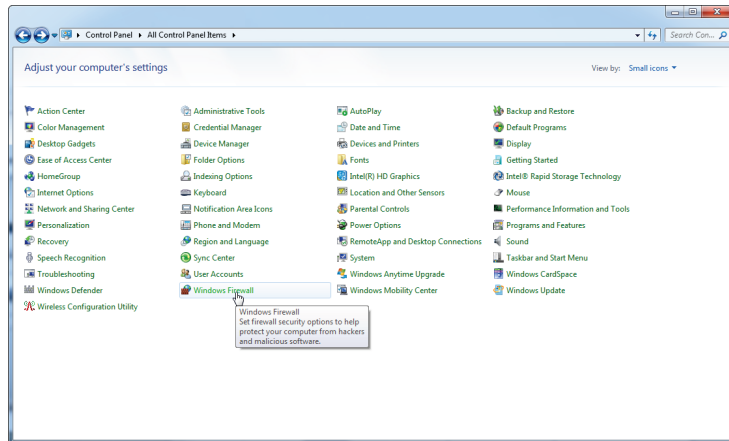
### 4.11.2 Pare-feu et réseaux

Vous pouvez exécuter le logiciel Rotor-Gene Q sur des ordinateurs dépourvus d'accès réseau ou dans un environnement réseau si vous utilisez un serveur de base de données distant. 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 nécessaires pour établir une connexion réseau.

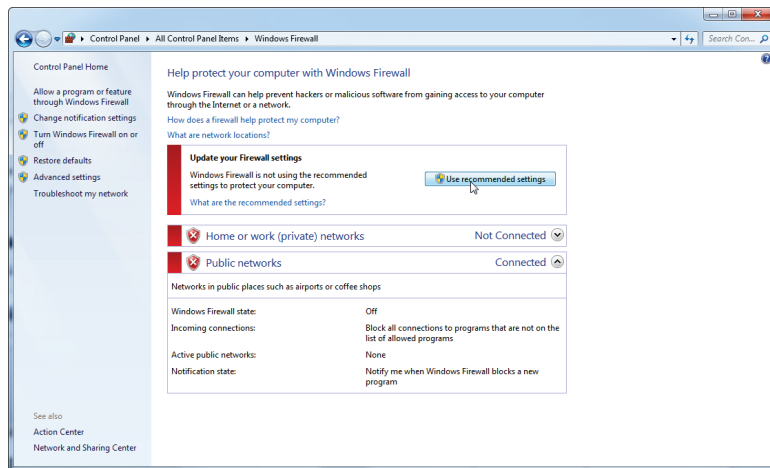
Notez que le fait de bloquer les connexions entrantes n'affectent en rien les réponses aux requêtes émises par l'utilisateur. Les connexions sortantes sont autorisées car elles peuvent être nécessaires à la récupération de mises à jour.

Si votre configuration est différente, QIAGEN recommande de configurer le pare-feu comme indiqué ci-dessus. Pour ce faire, un administrateur système doit se connecter et suivre la procédure suivante :

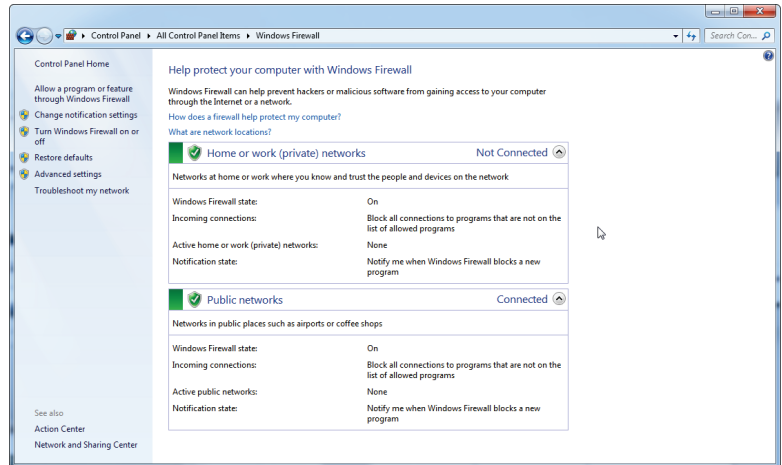
1. Ouvrez « Control Panel » (Panneau de configuration) et sélectionnez « Windows Firewall » (Pare-feu Windows).



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

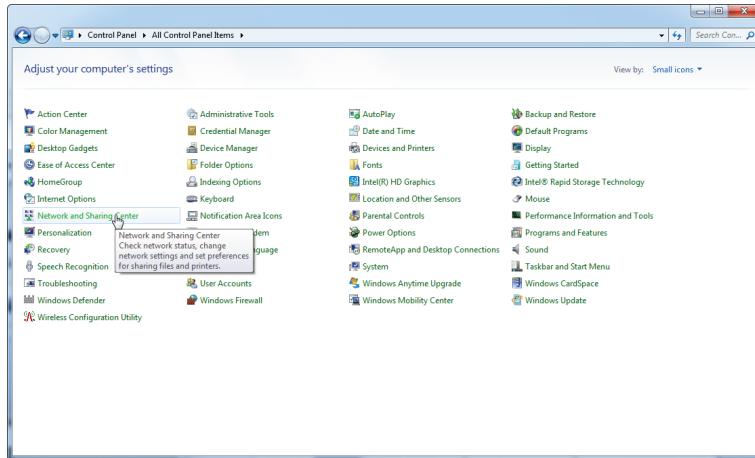


3. Vérifiez que les paramètres suivants sont activés :

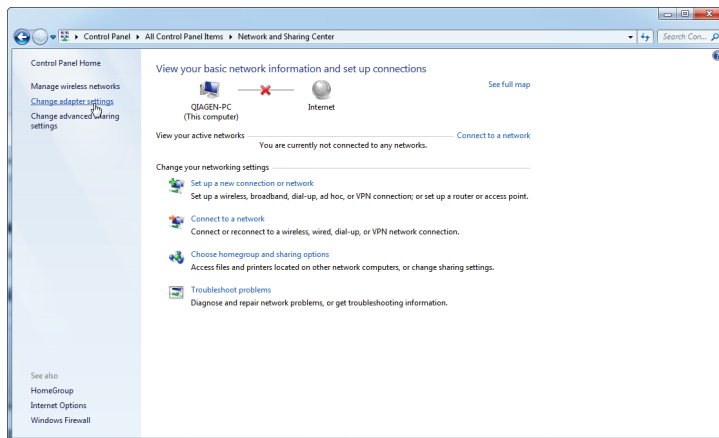


Pour des raisons de sécurité et de fiabilité, l'accès au réseau doit se faire par connexion câblée et non pas Wi-Fi. La carte Wi-Fi intégrée aux ordinateurs portables fournis par QIAGEN est désactivée. Si votre configuration est différente, un administrateur système doit désactiver manuellement la carte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

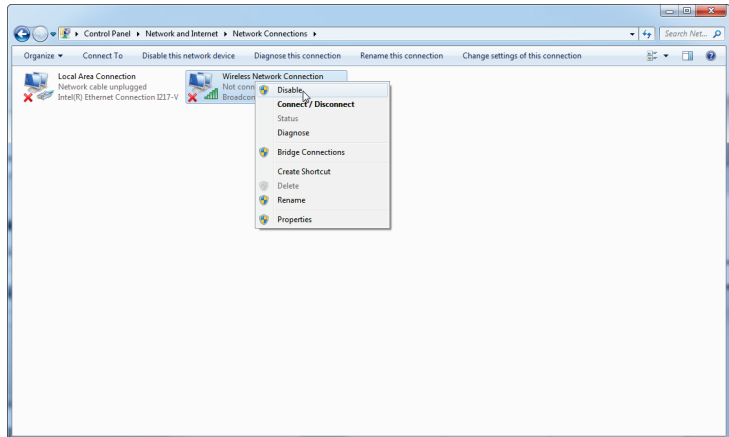
1. Ouvrez « Control Panel » (Panneau de configuration) et sélectionnez « Network and Sharing Center » (Centre Réseau et partage).



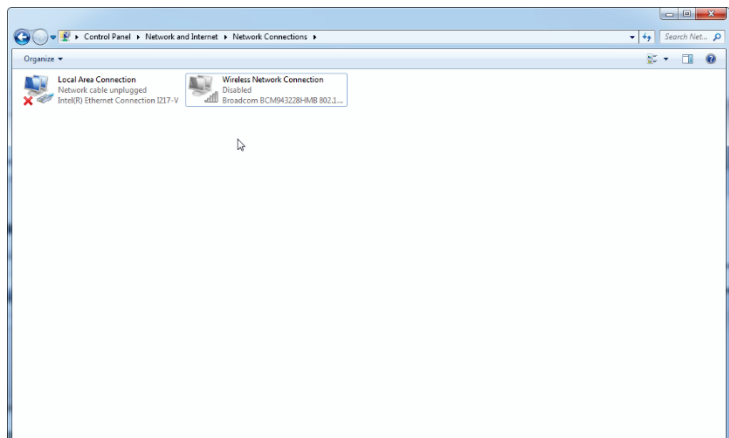
2. Sélectionnez « Change adapter settings » (Modifier les paramètres de la carte).



3. Passez le curseur sur l'icône « 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.



### 4.11.3 Outils système

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

- L'indexation des fichiers, qui est effectuée comme tâche en arrière-plan par de nombreuses applications bureautiques actuelles
- La défragmentation de disque, qui est également effectuée comme tâche en arrière-plan
- Tout logiciel recherchant des mises à jour sur Internet
- Les outils de gestion et de suivi à distance

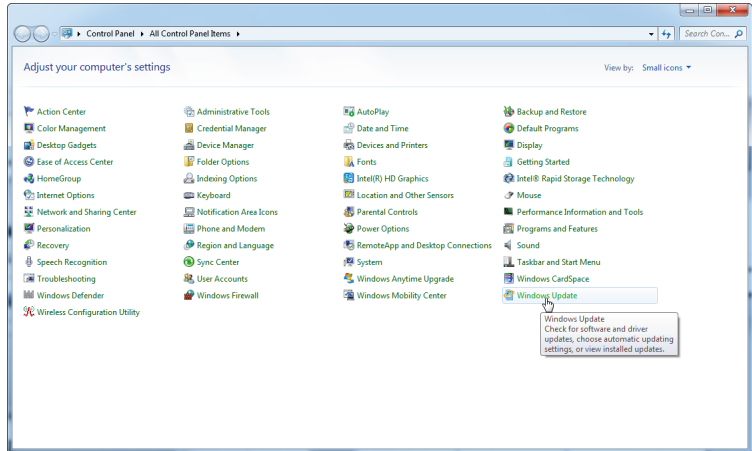
**Remarque :** Compte tenu de la nature dynamique des produits et systèmes des technologies de l'information, cette liste peut être incomplète. Des outils inconnus au moment de la rédaction de ce manuel peuvent devenir disponibles. Il est important que les administrateurs système veillent à ce que de tels outils ne soient pas actifs sur le Rotor-Gene MDx pendant un cycle de PCR.

### 4.11.4 Mises à jour du système d'exploitation

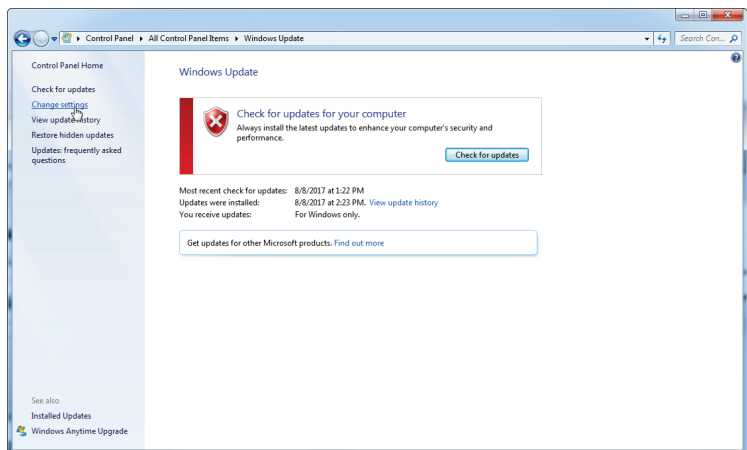
Les ordinateurs portables fournis par QIAGEN sont configurés de sorte que les mises à jour automatiques du système d'exploitation soient désactivées. Si votre configuration est différente, un administrateur système doit désactiver les mises à jour automatiques du système d'exploitation en suivant la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



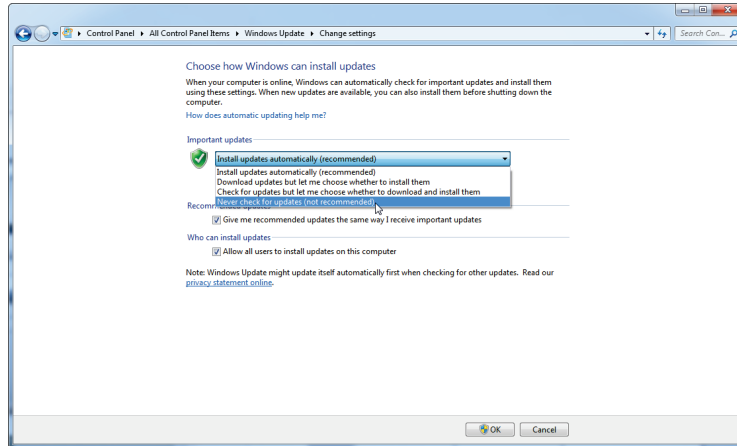
1. Ouvrez « Control Panel » (Panneau de configuration) et sélectionnez « Windows Update ».



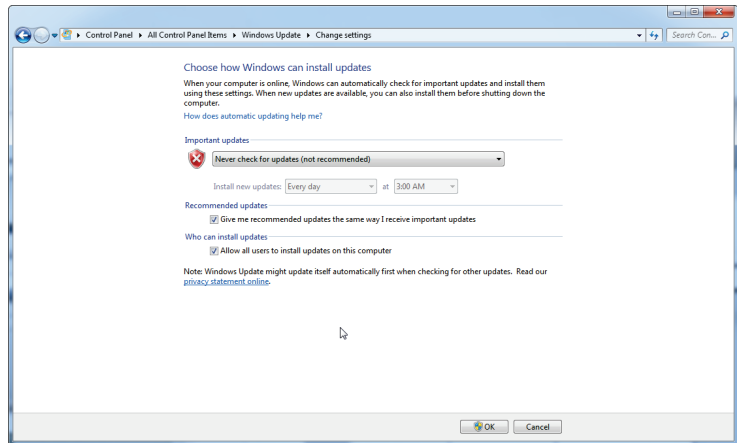
2. Sélectionnez « Change settings » (Modifier les paramètres).



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



4. Vérifiez que l'option « Never check for updates » (Ne jamais rechercher de mises à jour) est 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 l'ordinateur portable QIAGEN dispose d'une connexion à Internet) ou par un ensemble hors connexion préparé sur un ordinateur distinct connecté à Internet.

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

### **4.12 Mise à jour des logiciels**

Les mises à jour logicielles sont disponibles sur le site Web de QIAGEN, [www.qiagen.com/p/RGQ-MDx-CA](http://www.qiagen.com/p/RGQ-MDx-CA), et par le menu « Help » (Aide) du logiciel. Pour pouvoir télécharger les logiciels, vous devez vous inscrire en ligne.

Cette page est intentionnellement laissée vierge

## 5 Procédures de fonctionnement– Matériel

Cette section décrit le fonctionnement du Rotor-Gene Q MDx.

### 5.1 Types de rotor

Commencez par sélectionner le type de tube et le rotor à utiliser. Il existe 4 rotors pouvant s'adapter aux différents types de tube.

**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 pour un même cycle d'exécution. Ne mélangez pas différents tubes ou types de tube de fabricants différents, cela affecterait l'uniformité optique. Nous recommandons d'utiliser des tubes QIAGEN, ils sont spécialement conçus pour le Rotor-Gene Q MDx (voir en Annexe C). Les tubes d'autres fabricants peuvent être autofluorescents, cela peut affecter la fiabilité des résultats. En outre, les tubes d'autres fabricants peuvent présenter des longueurs et des épaisseurs diverses, cela peut engendrer un alignement incorrect du chemin optique du Rotor-Gene Q MDx et de la réaction dans le tube. QIAGEN se réserve le droit de refuser tout support technique pour des problèmes imputables à des composants en plastique non certifiés QIAGEN utilisés sur l'instrument Rotor-Gene Q MDx.

**IMPORTANT :** L'utilisation de composants en plastique non certifiés QIAGEN sur le Rotor-Gene Q MDx peut annuler la garantie de votre instrument.

#### MISE EN GARDE



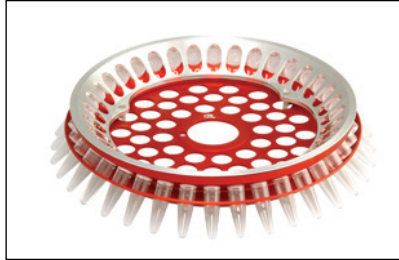
#### Détérioration de l'instrument

[C3]

Inspectez le rotor à l'œil nu avant chaque cycle d'exécution et assurez-vous qu'il n'est ni endommagé ni déformé.

### 36-Well Rotor

Le 36-Well Rotor est de couleur rouge. Le 36-Well Rotor et le 36-Well Rotor Locking Ring permettent d'utiliser des tubes de 0,2 ml. Les tubes n'ont pas à être munis de bouchons à 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 à bouchons bombés.



### 72-Well Rotor

Le 72-Well Rotor est de couleur bleue. Le 72-Well Rotor et le 72-Well Rotor Locking Ring s'utilisent avec des Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, qui peuvent être utilisés pour des volumes d'à peine 20  $\mu$ l. Les bouchons apportent 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 le Rotor-Disc 72 Locking Ring permettent d'utiliser le Rotor-Disc 72. Le Rotor-Disc 72 est un disque de 72 puits idéal pour un rendement élevé. L'étanchéité du Rotor-Disc 72 est assurée par un film polymère transparent appliqué dessus

et thermoscellé. Ce film est rapide à appliquer et empêche toute contamination en assurant une étanchéité solide, durable et inviolable. Pour plus d'informations sur le Rotor-Disc 72, voir la section 5.3.



### **Rotor-Disc 100 Rotor**

Le Rotor-Disc 100 Rotor est de couleur dorée. Le Rotor-Disc 100 Rotor et le Rotor-Disc 100 Locking Ring permettent d'utiliser le Rotor-Disc 100. Le Rotor-Disc 100 est un disque de 100 puits idéal pour un rendement élevé. Le Rotor-Disc 100 est l'équivalent rotatif d'une plaque de 96 puits mais avec 4 puits de référence en plus. Il permet d'intégrer le Rotor-Gene Q MDx aux procédures de laboratoire à 96 puits. Les puits supplémentaires peuvent être utilisés pour davantage d'échantillons, pour des réactions de contrôle supplémentaires ou pour des réactions d'orientation, sans devoir occuper les 96 puits standard. Pour une compatibilité parfaite avec la procédure à 96 puits, les puits du Rotor-Disc 100 utilisent les conventions de marquage des plaques de 96 puits, à savoir A1–A12 jusqu'à H1–H12. Les 4 puits de référence en plus sont marqués R1–R4. Pour plus d'informations sur le Rotor-Disc 100, voir la section 5.3.



### Spécifications des rotors

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

**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'une incompatibilité d'alignement optique. Continuez à utiliser les anciens rotors à 36 et 72 positions avec les instruments Rotor-Gene 3000.

## 5.2 Préparation de la réaction

**IMPORTANT :** Il convient d'appliquer des contrôles adaptés à chaque cycle d'exécution pour garantir des résultats fiables.

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

Le Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes (photo) contient 18 tubes en barrettes, jusqu'à huit tubes de 0,5 ml, qui peuvent permettre de préparer un mélange principal, et jusqu'à seize tubes de 0,2 ml qui peuvent permettre de définir des courbes étalons. La procédure ci-dessous décrit la préparation de la réaction à l'aide



du 72-Well Rotor. Vous pouvez utiliser cette même procédure pour la préparation de la réaction à l'aide du 36-Well Rotor et des accessoires adaptés.

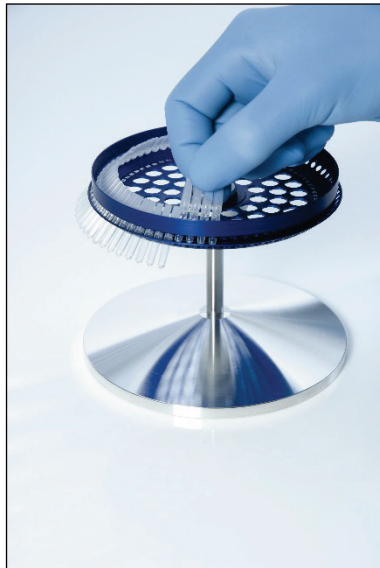
1. Mettez les tubes en barrettes dans le Loading Block puis aliquotez les composants de la réaction.



2. Mettez correctement les bouchons sur les tubes en barrettes et inspectez à l'œil nu pour vérifier l'étanchéité.

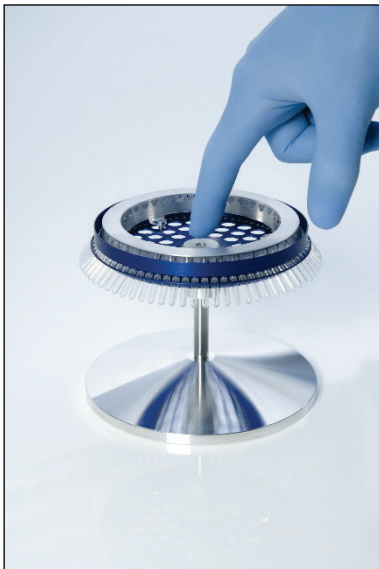


3. Insérez les tubes en barrettes dans le 72-Well Rotor, en veillant à ce que chaque tube soit correctement placé dans l'orientation qui convient. Les échantillons ne seront pas alignés de manière optimale sur le système de détection s'ils ne sont pas correctement placés dans le rotor. Cela peut aboutir 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 le 72-Well Rotor Locking Ring sur le 72-Well Rotor en enfonçant les 3 goupilles de position dans les orifices extérieurs du rotor.  
Le Locking Ring maintient les bouchons sur les tubes pendant un cycle d'exécution.



5. Insérez l'ensemble dans la chambre du Rotor-Gene Q MDx en l'encliquetant à l'aide de la goupille de position du moyeu du rotor. Pour le désolidariser, appuyez sur le moyeu du rotor afin de le libérer puis retirez-le.



6. Fermez le capot et définissez le profil du cycle d'exécution à l'aide du logiciel Rotor-Gene Q.

### 5.3 Installation du Rotor-Disc

Le Rotor-Disc 72 ou le Rotor-Disc 100 comprend 72 ou 100 puits sur un disque monobloc conçu pour un rendement élevé. Le Rotor-Disc 72 et le Rotor-Disc 100 n'utilisent pas de bouchons. À la place, un Rotor-Disc Heat Sealing Film est appliqué par-dessus et thermoscellé par un Rotor-Disc Heat Sealer. Le film empêche toute contamination en assurant une étanchéité solide, durable et inviolable. Le thermoscellage du Rotor-Disc s'effectue comme décrit ci-dessous.

**IMPORTANT** : Lisez la fiche produit qui accompagne le Rotor-Disc Heat Sealer avant de commencer cette procédure.

1. Mettez le Rotor-Disc Heat Sealer sous tension à l'aide de l'interrupteur situé à l'arrière du côté gauche. Un voyant rouge « Power » (Alimentation) s'allume. Le Rotor-Disc Heat Sealer a besoin de 10 minutes environ pour atteindre sa 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 première position du Rotor-Disc et les orifices de guidage de tube du Rotor-Disc Loading Block.
4. Préparez les réactions dans le Rotor-Disc en pipettant manuellement ou avec un système automatisé de manipulation de liquides.



5. Détachez la partie centrale d'une feuille de Rotor-Disc Heat Sealing Film, pour cela pliez légèrement le film en deux, pincez la partie centrale et décollez-la délicatement.

- Appliquez le film sur le Rotor-Disc dans l'orientation qui convient, indiquée par la mention « SIDE UP » (Vers le haut). Assurez-vous que la mention « SIDE UP » (Vers le haut) est bien placée au fond du Rotor-Disc Loading Block. L'orifice central du film doit glisser sans difficulté sur le cylindre du Rotor-Disc Loading Block et sur la partie supérieure du Rotor-Disc.



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



8. Pour activer le mécanisme d'étanchéisation, abaissez la barre bleue anodisée au-dessus du thermoscelleur puis repoussez le taquet noir.





9. Dès que le mécanisme d'étanchéisation est abaissé, un voyant orange « Sealing » (Étanchéisation) s'allume. Si le Rotor-Disc Loading Block est mal positionné, un signal sonore d'avertissement retentit.
10. Une fois l'étanchéisation terminée, un signal sonore continu retentit et le voyant orange « Sealing » (Étanchéisation) commence à clignoter. Enfoncez la barre bleue anodisée pour relever et verrouiller le mécanisme d'étanchéisation dans sa position d'origine.

**IMPORTANT** : Ne poursuivez pas l'étanchéisation après le signal sonore, vous risqueriez de déformer le Rotor-Disc.

**Remarque** : Si vous ne parvenez pas à libérer le mécanisme de verrouillage, le voyant orange « Sealing » (Étanchéisation) clignotant reste fixement allumé et le signal sonore continu devient intermittent.

11. Sortez le Rotor-Disc Loading Block du Rotor-Disc Heat Sealer. Laissez le film refroidir environ 10 secondes puis ôtez délicatement l'excédent.
12. Désolidarisez le Rotor-Disc du Rotor-Disc Loading Block. Chargez le Rotor-Disc dans le rotor en utilisant la première position afin de l'orienter correctement.

Cette page est intentionnellement laissée vierge

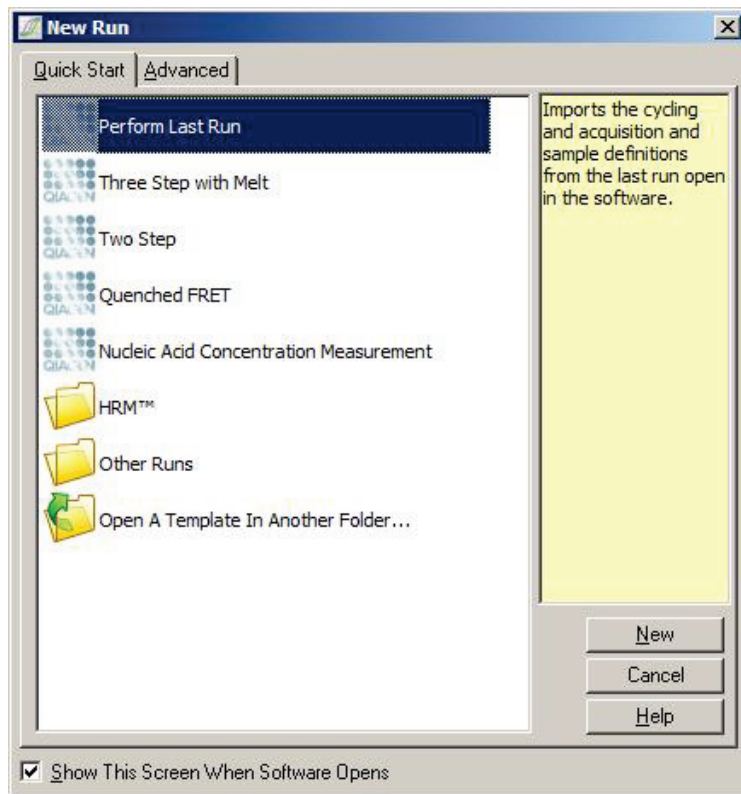
## 6 Procédures de fonctionnement – Logiciel

Vous pouvez configurer de nouveaux cycles d'exécution à l'aide de l'assistant de démarrage rapide ou de l'assistant avancé, qui apparaît au démarrage du logiciel. L'assistant de démarrage rapide permet à l'utilisateur de lancer le cycle d'exécution le plus vite possible. L'assistant avancé offre davantage d'options, par exemple la configuration de « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) et des paramètres de volume. Les assistants contiennent un certain nombre de modèles avec les conditions des cycles et les canaux d'acquisition par défaut. Pour changer de type d'assistant, sélectionnez l'onglet qui convient en haut de la fenêtre « New Run » (Nouveau cycle d'exécution).

### 6.1 Assistant de démarrage rapide

L'assistant de démarrage rapide permet à l'utilisateur de lancer le cycle d'exécution le plus vite possible. L'utilisateur peut choisir parmi plusieurs modèles couramment utilisés, il lui suffit de saisir un minimum de paramètres pour démarrer. L'assistant de démarrage rapide suppose que le volume réactionnel est de 25  $\mu$ l. Pour d'autres volumes réactionnels, utilisez l'assistant avancé (voir la section 6.2).

Première étape, 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 d'exécution).



**Perform Last Run** « Perform Last Run » (Exécuter le dernier cycle d'exécution) utilise les définitions de cycles, d'acquisition et d'échantillon du dernier cycle d'exécution ouvert dans le logiciel.

**Three Step with Melt** (Trois étapes avec fusion) : Il s'agit d'un profil de cycles en trois étapes et d'une courbe de fusion avec acquisition de données sur le canal vert.

**Two Step** (Deux étapes) : Il s'agit d'un profil de cycles en deux étapes avec acquisition de données sur les canaux vert, jaune, orange et rouge.

**Quenched FRET (FRET supprimé) :** Il s'agit d'un profil de cycles en trois étapes et d'une courbe de fusion. Contrairement à Three Step with Melt (Trois étapes avec fusion), l'acquisition se fait à la fin de l'étape de renaturation.

**Nucleic Acid Concentration Measurement (Mesure de la concentration en acides nucléiques) :** Il s'agit d'un modèle par défaut pour mesurer la concentration en acides nucléiques à l'aide de colorants intercalants.

**HRM :** Ce dossier contient des profils de fusion haute résolution.

**Other Runs (Autres cycles d'exécution) :** Ce dossier contient des profils supplémentaires.

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

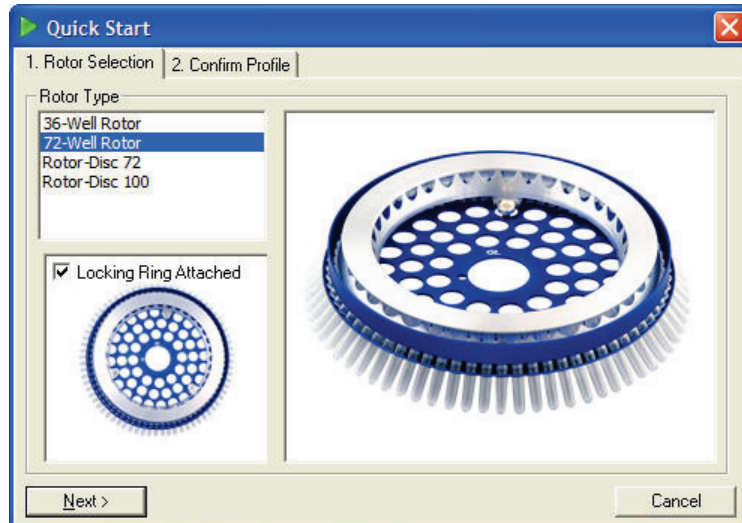
**Remarque :** Il est possible d'ajouter des modèles définis par l'utilisateur à la liste des modèles dans l'assistant de démarrage rapide en copiant ou en enregistrant des fichiers **\*.ret** dans **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates**. Une fois qu'un fichier est copié à cet emplacement, le modèle apparaît sous forme d'icône dans la liste. Si vous voulez 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 les modèles groupés. Cela permet une organisation pratique des modèles si, par exemple, plusieurs utilisateurs se servent du même instrument.

### 6.1.1 Sélection du rotor

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

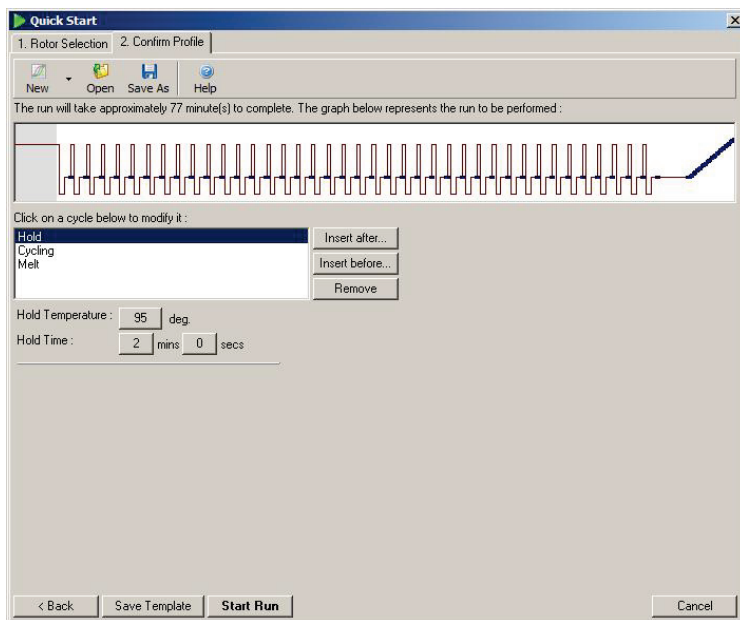
Cochez la case « Locking Ring Attached » (Anneau de verrouillage posé) puis cliquez sur « Next » (Suivant).



## 6.1.2 Confirmer le profil

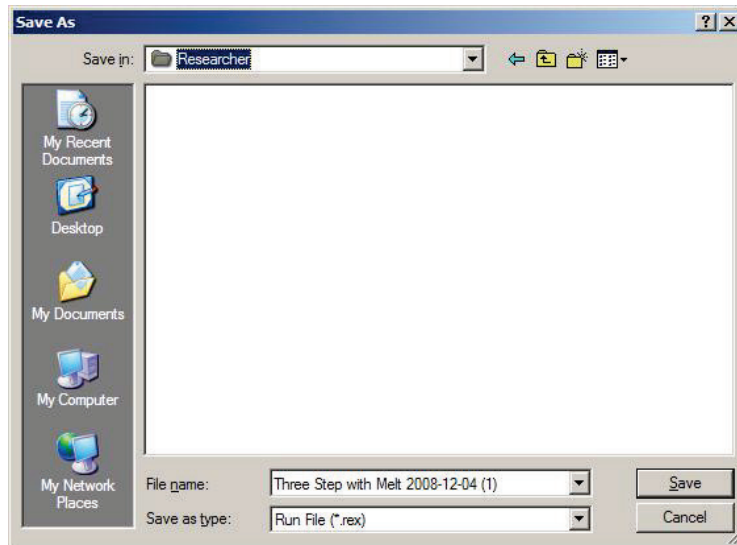
Les conditions des cycles et les canaux d'acquisition du modèle choisi sont importés. Ces éléments peuvent être modifiés dans la fenêtre « Edit Profile » (Modifier le profil) (voir la section 6.2.4).

Pour lancer un cycle d'exécution, cliquez sur le bouton « Start Run » (Démarrer le cycle d'exécution). Vous pouvez aussi enregistrer le modèle avant de lancer le cycle d'exécution en cliquant sur « Save Template » (Enregistrer le modèle).



### 6.1.3 Enregistrer le cycle d'exécution

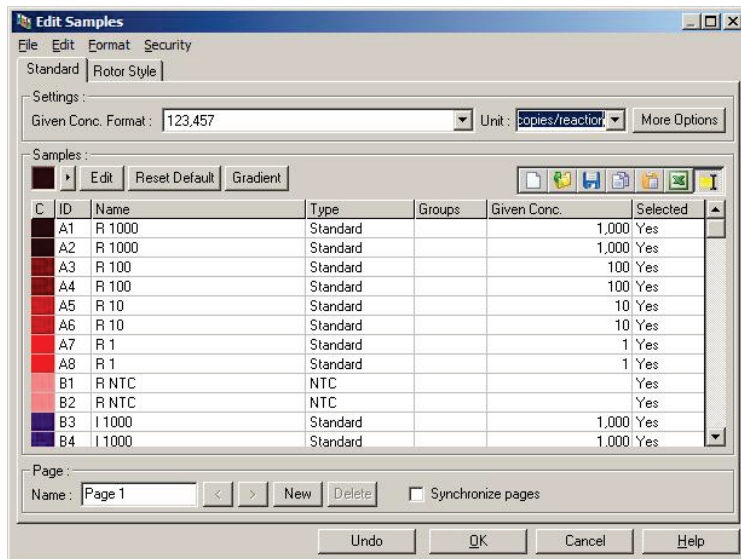
Une fois que vous avez cliqué sur le bouton « Start Run » (Démarrer le cycle d'exécution), la fenêtre « Save As » (Enregistrer sous) apparaît. Vous pouvez enregistrer le cycle d'exécution à l'emplacement de votre choix. Un nom de fichier est attribué au cycle d'exécution, composé du modèle utilisé et de la date du cycle. Les noms de fichier sont numérotés dans l'ordre (1, 2, etc.), cela permet le nommage automatique de plusieurs cycles d'exécution qui utilisent le même modèle un même jour.





## 6.1.4 Configuration des échantillons

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

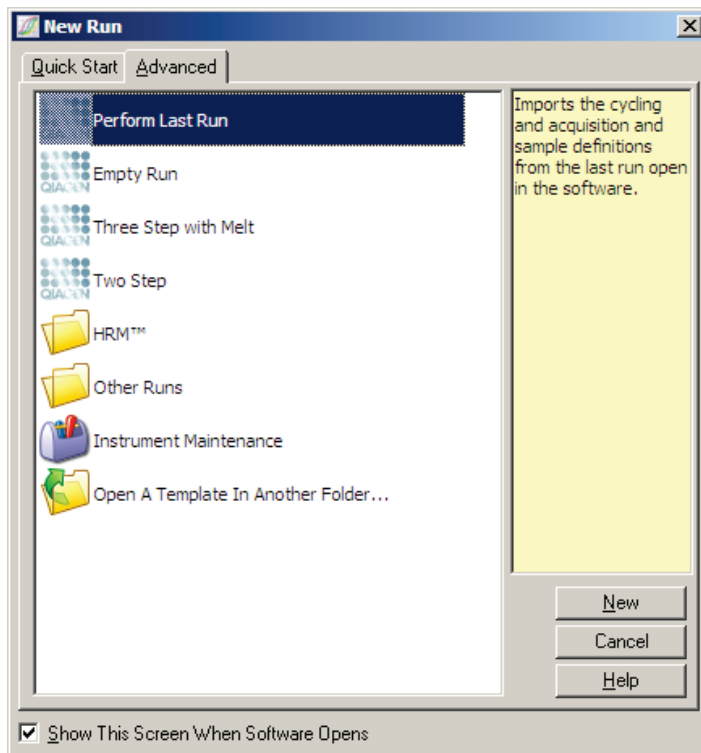


La fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons) apparaît après le début du cycle d'exécution pour que l'utilisateur puisse y saisir les noms des échantillons. Pour plus d'informations sur les définitions des échantillons dans la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons), voir la section 7.8.4.

## 6.2 Assistant avancé

L'assistant avancé propose des options qui n'apparaissent pas dans l'assistant de démarrage rapide, notamment la configuration de « Gain Optimisation » (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 d'exécution).



Les options des modèles figurant dans cette fenêtre sont semblables à celles de l'assistant de démarrage rapide (Section 6.1).

**Perform Last Run** « Perform Last Run » (Exécuter le dernier cycle d'exécution) importe les définitions de cycles, d'acquisition et d'échantillon du dernier cycle d'exécution ouvert dans le logiciel.

**Empty Run** 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 étapes avec fusion) : Il s'agit d'un profil de cycles en trois étapes et d'une courbe de fusion avec acquisition de données sur le canal vert.

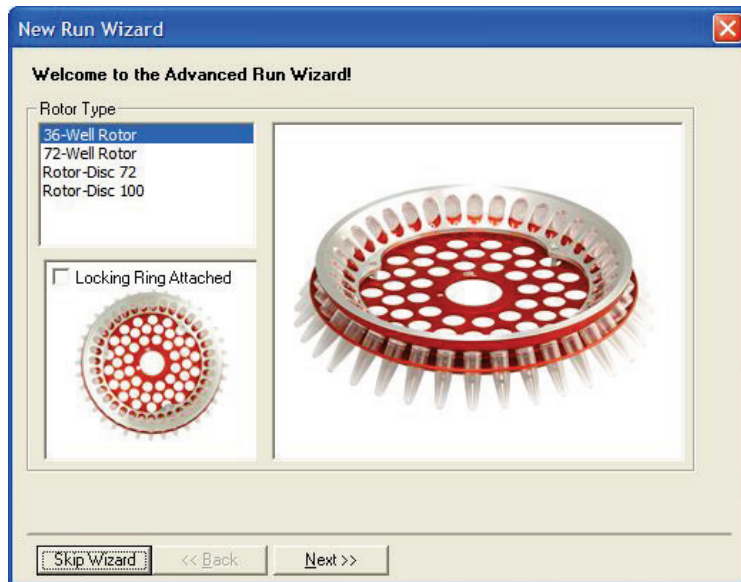
|  |   |
|--|---|
| Two Step<br>(Deux étapes) :                                  | Il s'agit d'un profil de cycles en deux étapes avec acquisition de données sur le canal vert uniquement, pour accélérer le cycle d'exécution.   |
| HRM :  | Ce dossier contient 2 profils de fusion haute résolution.   |
| Other Runs<br>(Autres cycles d'exécution) :                  | Ce dossier contient des profils supplémentaires.  |
| Instrument<br>Maintenance<br>(Maintenance de l'instrument) : | Ce dossier contient le modèle utilisé pendant la vérification de la température optique (Optical Temperature Verification, OTV). Pour plus d'informations, voir la section 10. Ce modèle est verrouillé afin de garantir en permanence le bon fonctionnement du profil. |

**Remarque :** Il est possible d'ajouter des modèles définis par l'utilisateur à la liste des modèles dans l'assistant de démarrage rapide en copiant ou en enregistrant des fichiers \*.ret dans **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\**. Une fois qu'un fichier est copié à cet emplacement, le modèle apparaît sous forme d'icône dans la liste.

### 6.2.1 Fenêtre 1 New Run Wizard (Assistant nouveau cycle d'exécution)

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

Cochez la case « Locking Ring Attached » (Anneau de verrouillage posé) puis cliquez sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

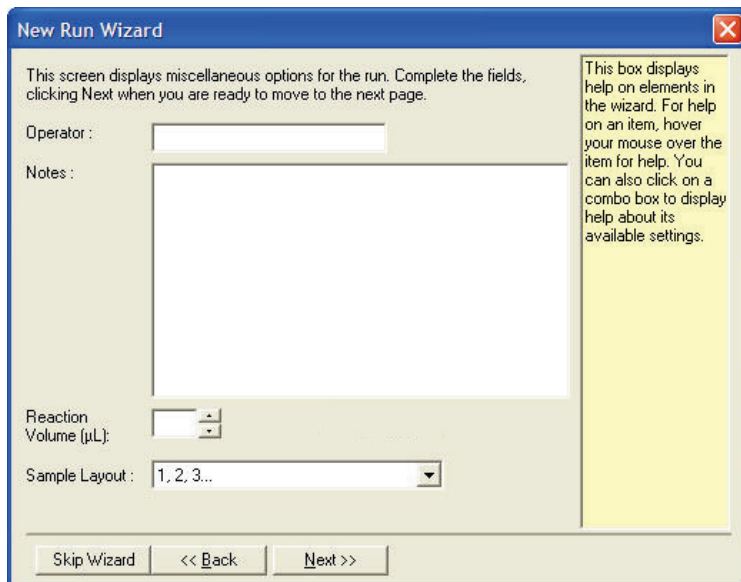


### 6.2.2 Fenêtre 2 New Run Wizard (Assistant nouveau cycle d'exécution)

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

Si vous avez sélectionné le 72-Well Rotor dans la fenêtre 1, trois options « Sample Layout » (Disposition des échantillons) apparaissent 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... » si les échantillons ont été chargés dans des tubes en barrettes de 0,1 ml adjacents

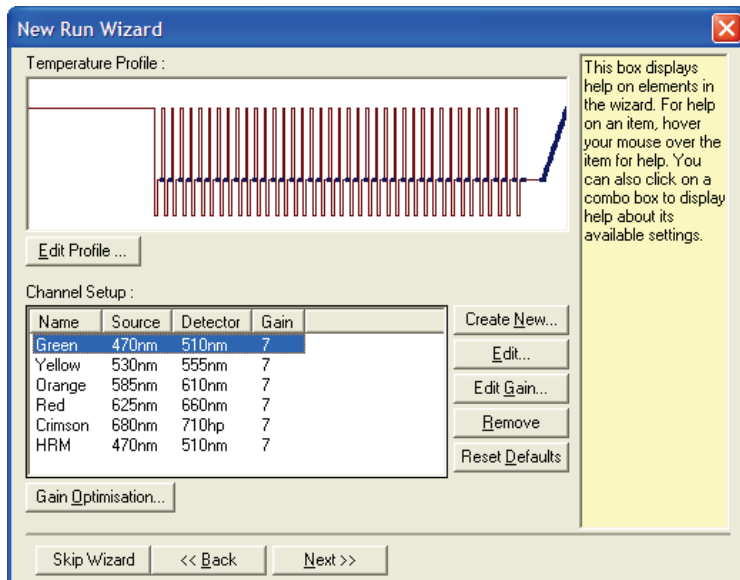
à l'aide d'une pipette multicanaux à 8 canaux. Vous pouvez choisir la disposition « A1, A2, A3... » si elle vous convient.



### 6.2.3 Fenêtre 3 New Run Wizard (Assistant nouveau cycle d'exécution)

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 des cycles et choisir les canaux d'acquisition (Section 6.2.4).

Une fois le profil configuré, cliquez sur le bouton « Gain Optimisation... » (Optimisation du gain...) pour ouvrir la fenêtre « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) (voir page 6-25).



### 6.2.4 Modifier le profil

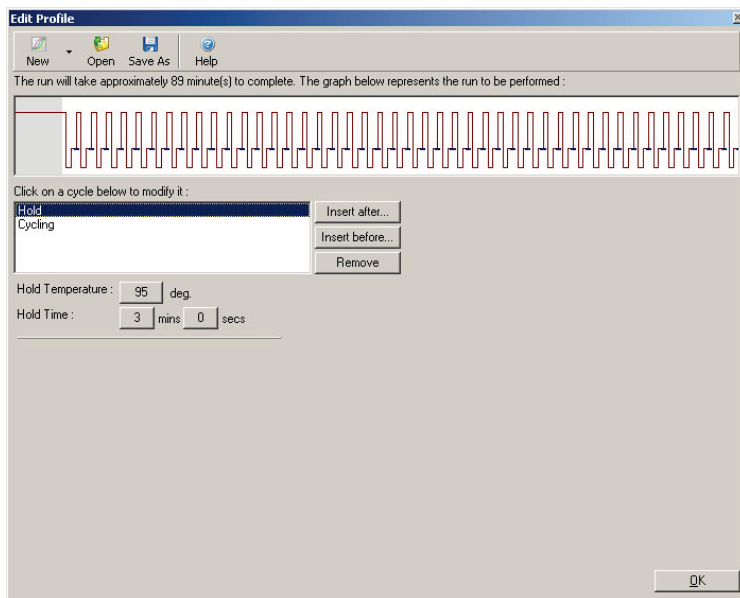
La fenêtre « Edit Profile » (Modifier le profil) permet de spécifier les conditions des cycles et les canaux d'acquisition. Le profil initial affiché est basé sur le modèle sélectionné lors de la configuration du cycle d'exécution (voir page 6-1). Le profil apparaît sous forme de graphique. La liste des segments du profil apparaît sous le graphique. Cette liste peut afficher Hold (Maintien) (page 6-13), Cycling (Cycles) (page 6-14), Melt (Fusion) (page 6-17) ou HRM si l'instrument dispose d'un canal HRM (page 6-19).

Vous pouvez modifier chaque étape du profil en cliquant sur la zone correspondante sur le graphique ou sur le nom dans la liste, puis en modifiant les paramètres qui apparaissent.

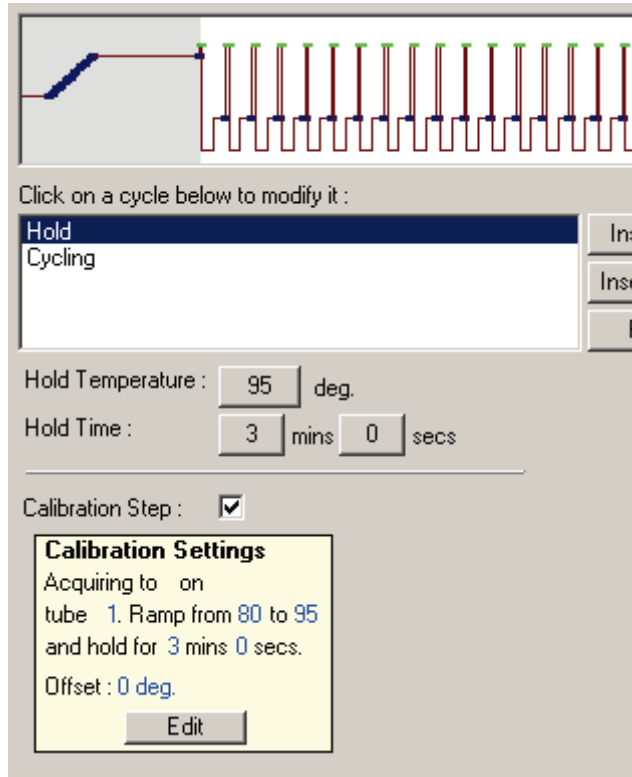
|  |   |
|--|---|
| Insert after...<br>(Insérer après...) :  | Permet d'ajouter un nouveau cycle après le cycle sélectionné. |
| Insert before...<br>(Insérer avant...) : | Permet d'ajouter un nouveau cycle avant le cycle sélectionné. |
| Remove<br>(Supprimer) :                  | Permet de supprimer le cycle sélectionné du profil.           |

### Maintien

Hold (Maintien) indique au Rotor-Gene Q MDx de rester à la température désignée pour une durée définie. Pour modifier la température, cliquez sur le bouton « Hold Temperature » (Maintenir la température) puis saisissez la température souhaitée ou utilisez la barre latérale pour la sélectionner. Pour modifier la durée du maintien, cliquez sur les boutons « Hold Time » (Durée du maintien), « mins » (min) et « secs » (s).



Si vous lancez un Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique), vous pouvez utiliser un Hold (maintien) comme étape d'étalonnage. Dans ce cas, une fusion d'étalonnage est effectuée avant le maintien. Par défaut, la configuration est faite pour le premier maintien du cycle d'exécution mais peut être modifiée si nécessaire.



Pour plus d'informations sur le Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique), voir page 6-18.

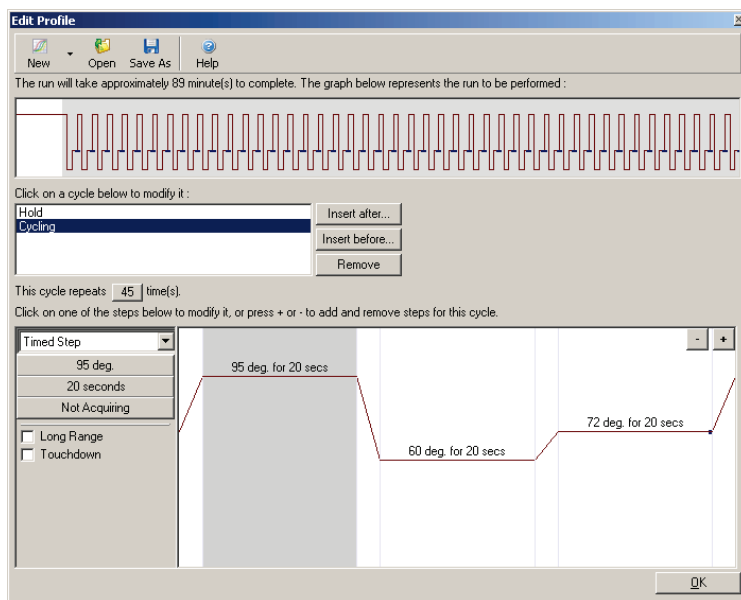
### Cycles

Cycling (Cycles) permet de répéter les étapes de température et de durée définies par l'utilisateur un nombre de fois déterminé. Le nombre de répétitions est défini à l'aide du bouton « This cycle repeats X time(s) » (Ce cycle se répète X fois).



Un cycle unique s’affiche sous forme de graphique (comme illustré sur la capture d’écran ci-après). Chaque étape du cycle peut être modifiée. La température peut être modifiée en faisant glisser la ligne de température du graphique vers le haut ou vers le bas. La durée de l’étape peut être modifiée en faisant glisser la limite de température du graphique vers la gauche ou vers la droite. Vous pouvez aussi cliquer sur l’étape et utiliser les boutons de température et de durée à gauche du graphique.

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

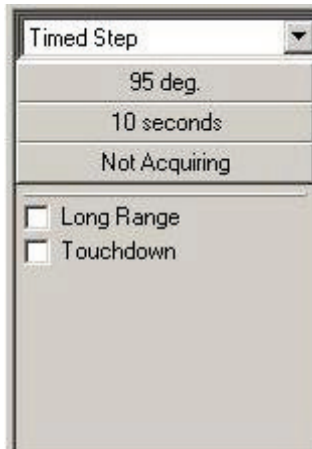


**Long Range (Plage longue) :** Cochez cette case pour augmenter la durée du maintien de l’étape sélectionnée d’une seconde à chaque nouveau cycle.

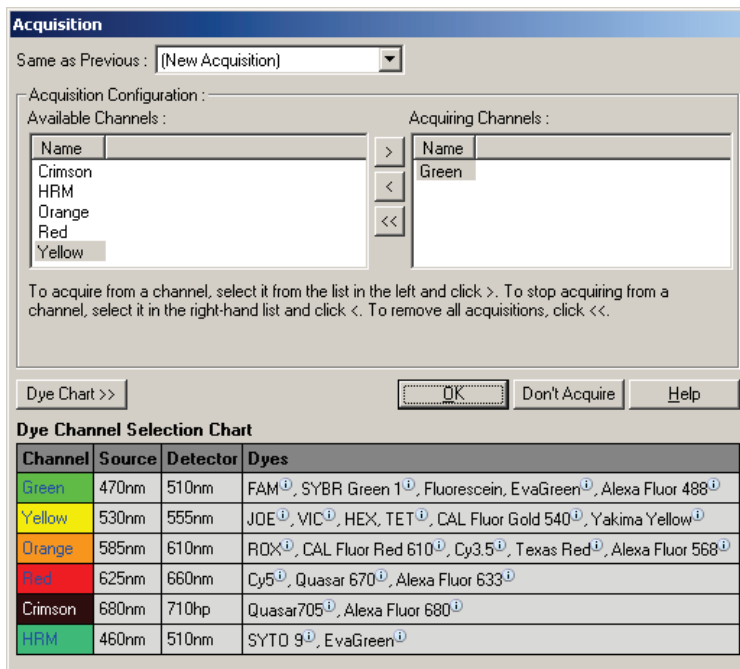
**Touchdown (Diminution) :** Cochez cette case pour diminuer la température d’un nombre spécifié de degrés pendant un nombre spécifié de cycles initiaux. Le résultat apparaît alors à l’écran.

### Acquisition

Les données peuvent être acquises sur n'importe quel canal à n'importe quelle étape des cycles. Pour définir un canal d'acquisition de données, cliquez sur le bouton « Not Acquiring » (Pas d'acquisition) (si un canal a déjà été choisi pour l'acquisition à cette étape, 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 puis déplacez-le de la liste « Available Channels » (Canaux disponibles) à la liste « Acquiring Channels » (Canaux d'acquisition) à l'aide du bouton **>**. Pour supprimer un canal sélectionné de la liste « Acquiring Channels » (Canaux d'acquisition), utilisez le bouton **<**. Le bouton **<<** permet de supprimer tous les canaux de la liste « Acquiring Channels » (Canaux d'acquisition). Vous pouvez aussi cliquer sur le bouton « Don't Acquire » (Ne pas acquérir) pour supprimer toutes les acquisitions de l'étape.

S'il y a plusieurs séquences de cycle incluses au profil, les données acquises peuvent être ajoutées à celles du cycle précédent. Utilisez le menu déroulant « Same as Previous » (Identique à la précédente) pour sélectionner l'étape du cycle à laquelle vous voulez ajouter les données.

Le Dye Channel Selection Chart (Tableau de sélection des canaux et colorants) permet à l'utilisateur de décider quel canal convient au colorant qu'il souhaite utiliser. Les colorants qui apparaissent dans le tableau sont les plus couramment utilisés, ils n'indiquent pas les limites de l'instrument.

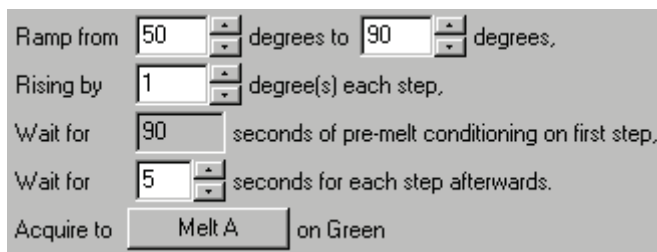
Les options d'acquisition décrites ci-dessus s'appliquent également aux étapes « Melt » (Fusion), à ceci près qu'il est impossible d'ajouter des données d'acquisition à l'aide du menu « Same as Previous » (Identique à la précédente).

### Fusion et hybridation

Une fusion est le passage d'une température basse à une plus élevée. La plage de température autorisée va de 35 à 99 °C.

Pour configurer une fusion, vous devez spécifier la température de début, la température de fin, les incréments de température, la durée du maintien à la première température d'acquisition avant le début de l'augmentation, la durée du maintien de chaque incrément et les canaux d'acquisition.

L'augmentation se fait entre 2 températures. Si la température de début est supérieure à la température de fin, le nom de l'étape devient « Hybridisation » (Hybridation). L'option « Acquiring 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 » apparaît et vous pouvez sélectionner les canaux.



Ramp from 50 degrees to 90 degrees,  
Rising by 1 degree(s) each step,  
Wait for 90 seconds of pre-melt conditioning on first step,  
Wait for 5 seconds for each step afterwards.  
Acquire to Melt A on Green

Lorsque vous effectuez une fusion standard, la température augmente par incréments de 1 °C, avec 5 secondes d'attente avant chaque acquisition. Le Rotor-Gene Q MDx peut être configuré pour effectuer des fusions par incréments de

0,02 °C. La durée du maintien minimale entre les étapes de températures varie en fonction du nombre de degrés entre chaque étape.

### **Fusion haute résolution**

L'analyse de fusion haute résolution (High resolution melt, HRM) permet de caractériser des échantillons d'ADN double brin d'après leur comportement de dissociation (fusion). Elle est semblable à une analyse classique de courbe de fusion mais fournit bien plus d'informations pour davantage d'applications. Il est possible de distinguer les échantillons par séquence, longueur, taux de GC, complémentarité des brins et substitution d'une paire de base.

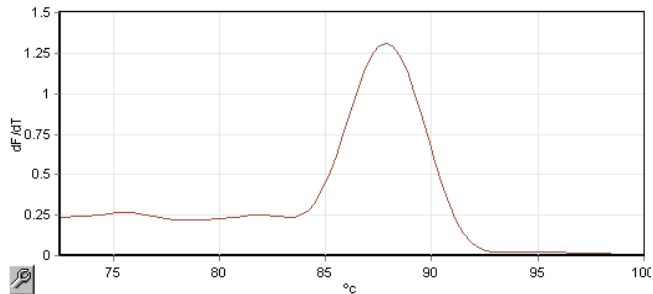
L'analyse HRM ne peut être réalisée que sur des instruments dotés des matériels et logiciels correspondants. Les données sont acquises à l'aide de sources et de détecteurs de HRM spécialisés. L'analyse HRM intègre également l'option « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) juste avant le début de la fusion. Après une HRM, vous pouvez analyser les données à l'aide du logiciel d'analyse HRM (Section 11).

### **Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique)**

Le Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique) est une technique intéressante, disponible sur le Rotor-Gene Q MDx, qui consiste à effectuer 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 spécifique pour une durée de maintien. Pour utiliser cette technique, il suffit de mettre un tube de référence du produit de la PCR dans la position de tube 1 du rotor. Le tube de référence doit contenir un produit de détection capable de détecter la dissociation des brins.

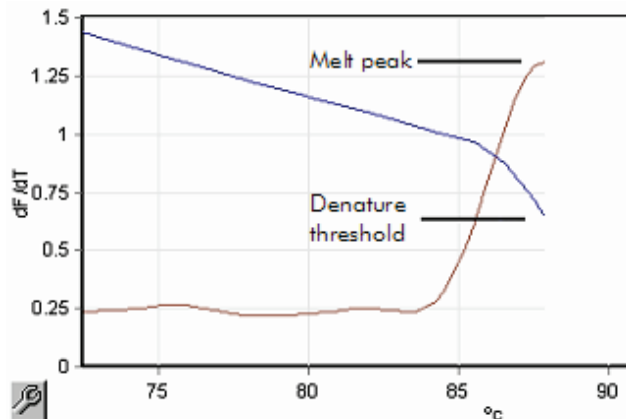
Lors du chauffage à la température de dénaturation initiale, une fusion est effectuée sur le canal vert de 80 à 95 °C, par défaut. L'utilisateur peut ajuster les paramètres de cette fusion

initiale. Une courbe de fusion est générée à partir de ces données puis automatiquement analysée.



Le pic de fusion est comparé aux données brutes afin d'obtenir un seuil de dénaturation. Ensuite, à chaque étape du Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique), l'instrument est chauffé aussi rapidement 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 puis passe à l'étape suivante programmée du cycle. Aucun pic n'est calculé en cours de cycle. Le niveau de fluorescence est plutôt comparé au pic de fusion, c'est ce qui détermine le seuil de dénaturation.

Sur le graphique suivant, les valeurs de fluorescence brute et le premier dérivé ont été superposés. Cela montre la correspondance entre le seuil de dénaturation et le pic de fusion obtenue pendant l'étalonnage.



Pour réaliser un Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique), il vous faut :

- Un produit de la PCR préamplifié, à placer en position 1 dans le rotor. Cet échantillon doit contenir le même produit de la PCR que les échantillons d'intérêt ainsi qu'un produit de détection permettant de contrôler la dissociation du produit de la PCR.
- Un profil de dénaturation optique. Vous pouvez créer un nouveau profil ou modifier un profil existant (voir les détails ci-dessous).

Un Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique) semble quasiment identique aux autres cycles. Les principales différences sont l'étape de fusion insérée automatiquement au début du profil et le profil net de l'étape de dénaturation en cours de cycle. Le Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique) ne nécessite pas des durées de maintien définies car la dissociation du produit est contrôlée à chaque cycle.

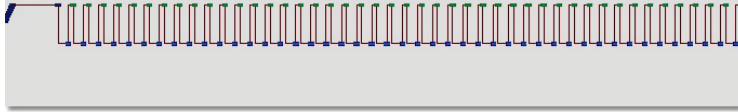
Pour utiliser cette technique, les informations suivantes sur le cycle d'exécution sont requises :

- La température de dénaturation initiale. Il s'agit de la même température qu'à l'étape de Denature (dénaturation) dans un profil de cycle standard.
- La position de tube de l'échantillon de PCR qui donnera une courbe de fusion sur le canal vert.
- Un profil de Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique) doit être défini.


Créez un nouveau Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique) comme suit.

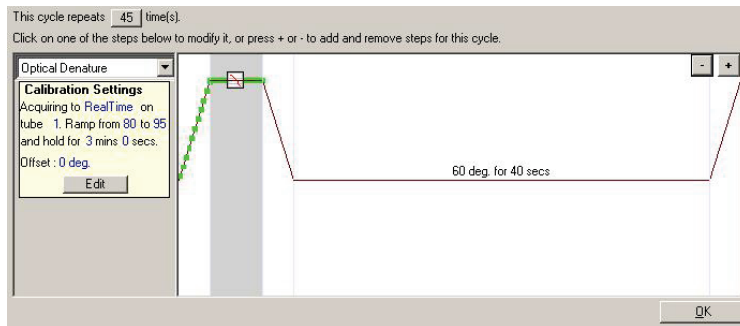
1. Ouvrez la fenêtre « Edit Profile » (Modifier le profil). Cliquez ensuite sur « New » (Nouveau). Dans la fenêtre qui s'ouvre, cliquez sur le bouton « Insert after » (Insérer après) puis sélectionnez « New Cycling » (Nouveau cycle) dans le menu. Sélectionnez l'une des étapes de températures en cliquant sur le graphique. Dans le menu déroulant, changez « Timed Step » (Étape définie) en « Optical Denature » (Dénaturation optique). Un profil par défaut contenant une étape de Denature (dénaturation) et

une étape de Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique) apparaît.



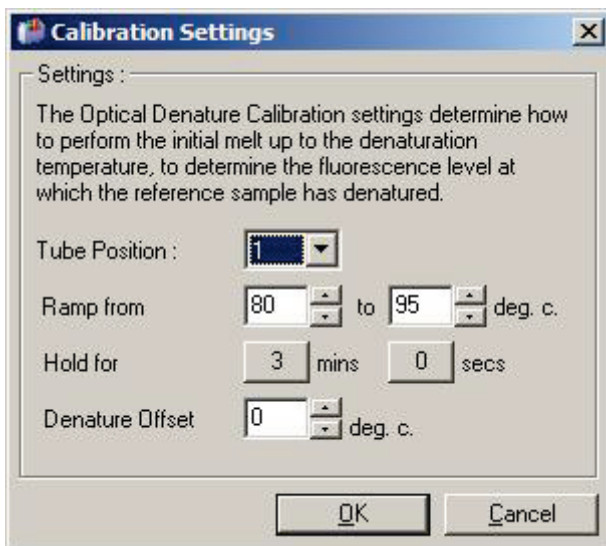
La partie augmentée au début du cycle d'exécution représente le processus d'étalonnage. Les points verts représentent les acquisitions effectuées à chaque cycle pendant le chauffage. Les points bleus représentent l'acquisition à la fin de l'étape de renaturation à 60 °C. Notez que même si le profil montre chaque étape avec la même température de dénaturation, cela peut ne pas être effectivement le cas. Si l'échantillon a besoin d'un peu plus de temps pour fusionner vers la fin du cycle d'exécution, le processus de dénaturation optique attend la fusion en fonction des données de fluorescence et non en fonction de la durée. C'est pourquoi le tracé de température peut varier pour chaque cycle.

2. Cliquez sur la première moitié du graphique où apparaît le symbole de Optical Denature (dénaturation optique) . Les informations « Calibration Settings » (Paramètres d'étalonnage) apparaissent à gauche de l'écran.



3. Les informations « Calibration Settings » (Paramètres d'étalonnage) sont généralement exactes. Pour les modifier si nécessaire, cliquez sur « Edit » (Modifier). La fenêtre « Calibration Settings » (Paramètres d'étalonnage) apparaît.

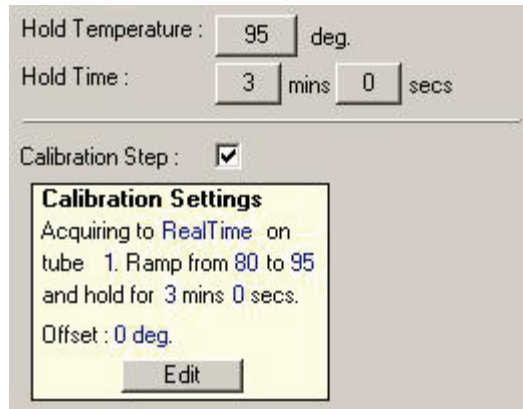




4. Assurez-vous que :

- Le tube indiqué dans « Tube Position » (Position de tube) contient un produit de la PCR qui affiche un pic de fusion sur le canal vert.
- La température finale ne va pas brûler l'échantillon tout en étant 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 convient à la plupart des fusions. Il se peut que les fusions avec des transitions très marquées nécessitent un décalage de dénaturation, déterminé par l'utilisateur, de -0,5 °C à -2 °C, afin de garantir la détection de la transition de la fusion.

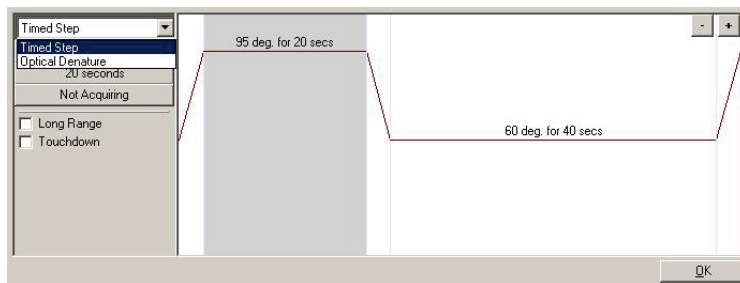
Vous pouvez aussi définir une étape de Denature (dénaturation) en introduisant une nouvelle étape de Hold (maintien). Cliquez sur « Insert before » (Insérer avant) puis sélectionnez « New Hold at Temperature » (Nouvelle température de maintien) dans le menu. Les paramètres d'étalonnage apparaissent.




Les paramètres d'étalonnage sont synchronisés avec les paramètres de dénaturation, ainsi toute modification de la durée du maintien dans l'étape de Denature (dénaturation) actualise automatiquement la durée du maintien de l'étalonnage. La raison est que le processus d'étalonnage et la dénaturation sont équivalents dans le Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique).

### ***Modification d'une étape existante pour utiliser le Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique)***

Pour modifier une étape de Denature (dénaturation) existante dans une séquence de cycle, sélectionnez le cycle dans la liste de la fenêtre « Edit Profile » (Modifier le profil). Sélectionnez ensuite l'étape de Denature (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.

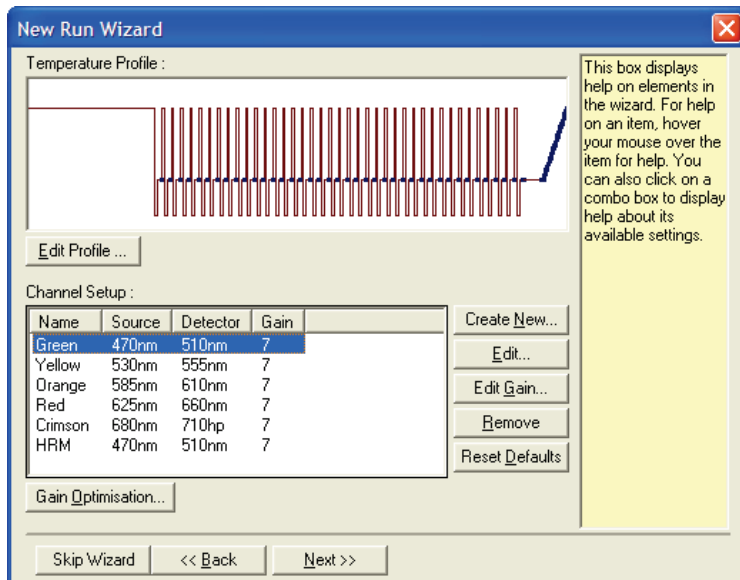
### « Gain Optimisation » (Optimisation du gain)

Lorsque vous configurez un nouveau cycle d'exécution, vous pouvez utiliser la fonction « Gain Optimisation » (Optimisation du gain). Cela vous permet d'optimiser le gain jusqu'à atteindre la plage souhaitée de fluorescence de départ à une température définie (en général, la température à laquelle est réalisée l'acquisition des données) dans chacun des canaux acquis. « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) vise à garantir que toutes les données sont collectées dans la plage dynamique du détecteur. Si le gain est trop faible, le signal est perdu dans le bruit de fond. S'il est trop élevé, tout signal est perdu hors échelle (saturé).

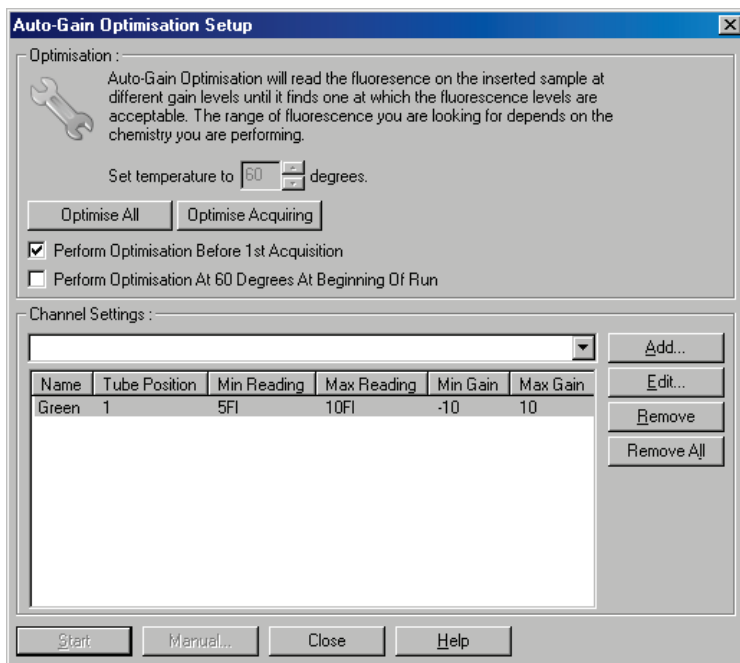
La plage de gain pour chaque canal va de -10 à 10, où -10 représente le moins sensible et 10 le plus sensible.

La première fois que vous effectuez des réactions, nous vous recommandons de préparer un échantillon de test contenant tous les composants de la réaction. Mettez l'échantillon de test dans le Rotor-Gene Q MDx puis utilisez « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) pour déterminer le gain optimal. Si le gain ainsi obtenu dans « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) donne un signal faible, la « Target Sample Range » (Plage d'échantillons cibles) doit être augmentée. Si le gain donne un signal saturé, la « Target Sample Range » (Plage d'échantillons cibles) doit être diminuée.

Pour effectuer l'optimisation du gain, cliquez sur le bouton « Gain Optimisation... » (Optimisation du gain...) dans la fenêtre 3 New Run Wizard (Assistant nouveau cycle d'exécution) (voir la section 6.2.3).



La fenêtre « Auto-Gain Optimisation Setup » (Configuration de l'optimisation du gain automatique) apparaît. Cette fenêtre permet l'optimisation en ajustant automatiquement le gain jusqu'à ce que les valeurs pour tous les canaux sélectionnés se trouvent au niveau d'un certain seuil ou en deçà.



Set temperature to (Régler la température sur) :

Avant la mesure, le Rotor-Gene Q MDx est chauffé ou refroidi pour correspondre à la température spécifiée. Par défaut, elle est définie sur la température d'acquisition.

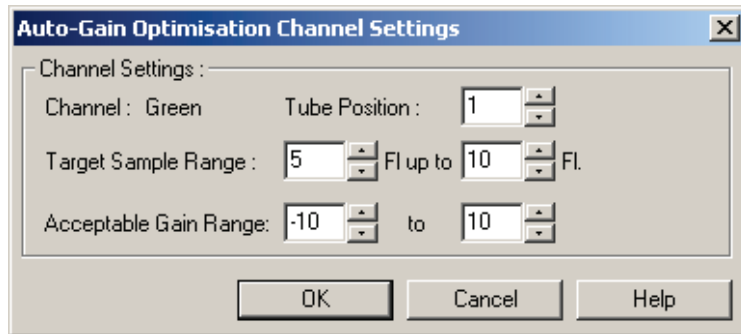
Optimise All/Optimise Acquiring (Optimiser tout/Optimiser l'acquisition) :

« Optimise All » (Optimiser tout) essaie d'optimiser tous les canaux connus par le logiciel. « Optimise Acquiring » (Optimiser l'acquisition) n'optimise que les canaux utilisés dans le profil thermique défini dans le cycle d'exécution (cycles et fusion).

|   |  |
|---|--|
| Perform Optimisation Before 1st Acquisition (Effectuer l'optimisation avant la 1 <sup>re</sup> acquisition) :                   | Cochez cette case pour effectuer une « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) au premier cycle dans lequel a lieu l'acquisition des données. Cela est recommandé pour une « Auto-Gain Optimisation » (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 effectuer une « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) juste avant le début du cycle d'exécution. Le Rotor-Gene Q MDx est chauffé à la température spécifiée, une « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) est effectuée puis le cycle commence à la première étape, généralement une étape de dénaturation. Vous pouvez choisir cette option si une « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) en cours de cycle d'exécution impliquerait une perte de temps trop importante lors de l'étape initiale. Mieux vaut privilégier « Perform Optimisation Before 1st Acquisition » (Effectuer l'optimisation avant la 1 <sup>re</sup> acquisition) car une « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) est effectuée au plus près des conditions de 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 permet d'ouvrir une fenêtre dans laquelle vous pouvez définir la « Target Sample Range » (Plage d'échantillons cibles). La « Target Sample Range » (Plage d'échantillons cibles) est la plage de fluorescence initiale qui doit être définie pour l'échantillon dans le tube spécifié. Une « Auto-Gain Optimisation » (Optimisation du gain automatique) mesure chaque canal avec les paramètres de gain dans la plage spécifiée par la « Acceptable Gain Range » (Plage de gain acceptable). Elle choisit le premier paramètre de gain issu d'une valeur de la fluorescence dans la « Target Sample Range » (Plage d'échantillons cibles). Dans l'exemple suivant, une « Auto-Gain Optimisation » (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'échantillons cibles) de 1 à 3 FI est adaptée, tandis qu'une plage de 5 à 10 FI est plus adaptée pour les produits des sondes.



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 commencer la « Gain Optimisation » (Optimisation du gain). Un gain est choisi, il est issu des niveaux du signal de fluorescence dans la plage spécifiée. Si la fluorescence est hors de la plage spécifiée, le gain est défini pour correspondre au plus près.

Manual (Manuel) : Ce bouton permet d'ouvrir la fenêtre « Manual Gain Adjustment » (Ajustement manuel du gain) (voir page 6-31).

Modification du gain en cours de cycle d'exécution : Si le gain en début de cycle d'exécution est trop élevé ou trop faible, il peut être modifié dans les dix premiers cycles. Une ligne verticale apparaît à l'endroit où le gain a été modifié. Les cycles antérieurs à la modification sont exclus de l'analyse.

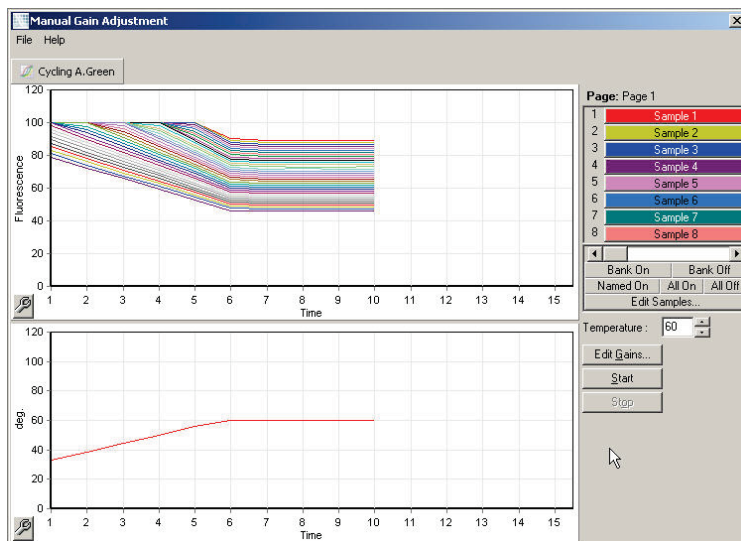
**Remarque :** « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) peut choisir un paramètre qui se trouve hors de la plage



spécifiée. Cela peut être dû aux modifications de fluorescence après la première étape de maintien. Toutefois, le résultat de la « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) fournit une bonne indication du niveau de fluorescence auquel commencera 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) apparaît. 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 et que le gain doit donc être déterminé pour que le signal de l'échantillon soit suffisant pour la détection.



Par défaut, tous les échantillons apparaissent sur l'affichage. Vous pouvez supprimer des échantillons de l'affichage ou en ajouter à l'aide du bouton bascule de droite. Ce dernier comprend des cellules colorées, chacune correspondant à un échantillon sur l'affichage. Les échantillons dont la cellule

présente une couleur vive apparaissent, ceux dont la cellule présente une couleur claire n'apparaissent pas. Vous pouvez activer ou désactiver les échantillons en cliquant sur la cellule ou en faisant glisser le pointeur de la souris sur plusieurs cellules en même temps.

Nous vous recommandons de procéder à l'ajustement manuel du gain comme suit.

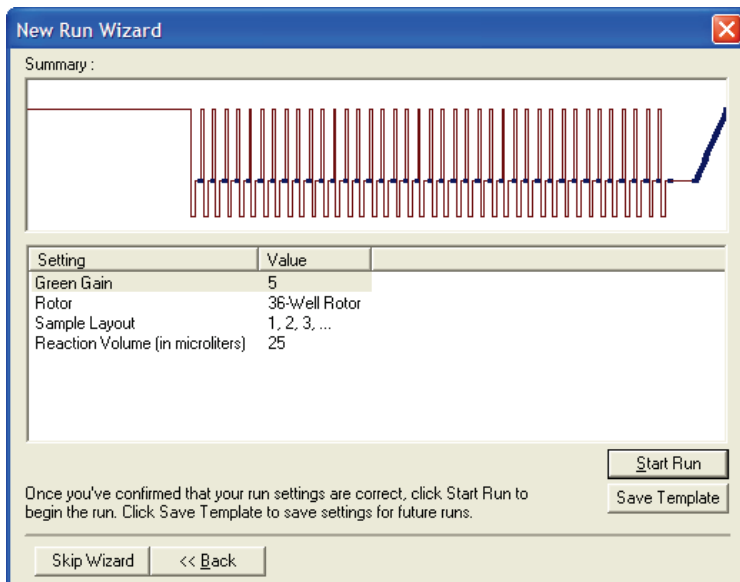
1. Ajustez la température dans la fenêtre « Manual Gain Adjustment » (Ajustement manuel du gain) à la température d'acquisition requise pour le cycle d'exécution.

**Remarque :** Il n'est pas possible d'ajuster la température 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 celle spécifiée dans la fenêtre. Les graphiques dans la fenêtre commencent à afficher des données.
3. Attendez que la température se stabilise.
4. Notez la valeur de fluorescence (Fl) au point final.
5. Si la valeur de Fl n'est pas au niveau requis, cliquez sur « Edit Gains... » (Modifier les gains...) puis modifiez-la comme il convient. Il se peut que ce processus ne soit pas instantané, il faut ~4 secondes au Rotor-Gene Q MDx pour acquérir chaque point dans chaque canal et pendant ce temps l'interface utilisateur est désactivée.
6. Répétez le processus jusqu'à ce que la Fl soit au niveau souhaité.
7. Cliquez sur « Stop » (Arrêter). Si l'acquisition des données est toujours en cours au moment où vous cliquez sur le bouton « Stop » (Arrêter), le Rotor-Gene Q MDx termine l'acquisition puis s'arrête. Ce processus peut prendre jusqu'à 5 secondes pour chaque canal d'acquisition.

### 6.2.5 Fenêtre 4 New Run Wizard (Assistant nouveau cycle d'exécution)

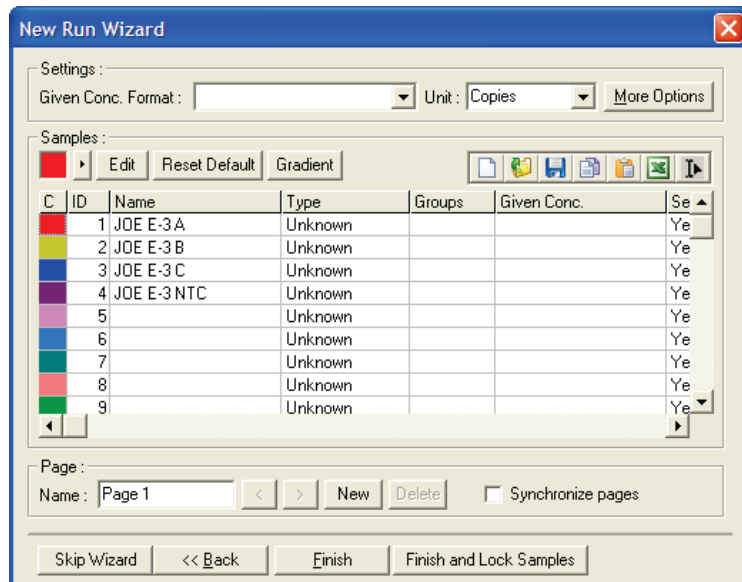
Cette fenêtre résume le cycle d'exécution. Vérifiez les paramètres et, s'ils sont corrects, cliquez sur « Start Run »(Démarrer le cycle d'exécution). Vous êtes invité à donner un nom de fichier. Vous pouvez aussi enregistrer les paramètres de cycle d'exécution comme modèle pour les futurs cycles à l'aide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



## 6.2.6 Fenêtre 5 New Run Wizard (Assistant nouveau cycle d'exécution)

Saisissez les types d'échantillons et les descriptions dans cette fenêtre pendant que le cycle d'exécution est en cours. Le fonctionnement de cette fenêtre est le même que pour la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons) (page 7-80). Vous pouvez également saisir les informations sur les échantillons une fois le cycle d'exécution terminé.

Le bouton « Finish and Lock Samples » (Terminer et verrouiller les échantillons) ferme l'écran et empêche toute modification du nom des échantillons. Pour plus d'informations à ce sujet et sur d'autres fonctionnalités de sécurité, reportez-vous au menu Security

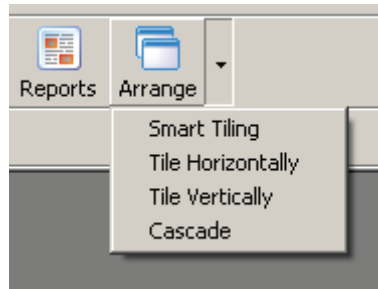


## 7 Interface utilisateur d'analyse

Ce chapitre décrit l'interface utilisateur du logiciel Rotor-Gene Q.

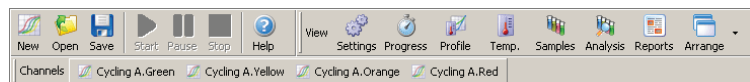
### 7.1 Espace de travail

L'espace de travail est le fond de la fenêtre principale. Dans cette zone, vous pouvez ouvrir les tracés des données brutes et les résultats d'analyse. Si vous ouvrez plusieurs fenêtre simultanément, vous pouvez les réorganiser en cliquant sur le 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 à droite du bouton « Arrange » (Organiser).



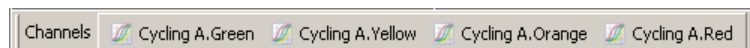
### 7.2 Barre d'outils

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



### 7.3 Afficher les canaux bruts

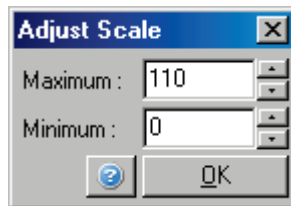
Cliquez sur ces boutons pour afficher les données brutes (non analysées) de certains canaux dans le cycle d'exécution.



## Interface utilisateur d'analyse

Lorsque vous affichez ces données, un certain nombre d'options permettent de modifier la présentation des données. Les données brutes peuvent aussi être transformées pour faciliter différents types d'analyses.

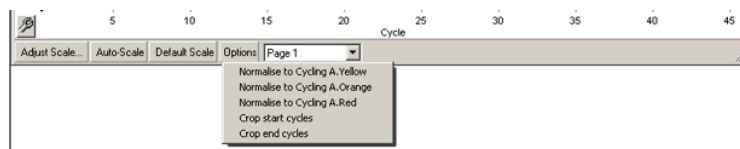
**Adjust Scale (Ajuster l'échelle) :** Pour sélectionner « Adjust Scale » (Ajuster l'échelle), faites un clic droit sur la fenêtre appropriée. « Adjust Scale » (Ajuster l'échelle) ouvre une fenêtre dans laquelle vous pouvez spécifier une échelle.



**Autoscale (Échelle automatique) :** « Autoscale » (Échelle automatique) permet d'ajuster l'échelle aux valeurs maximale et minimale des données.

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

**Icône de clé :** Consultez la section 8.5 pour plus d'informations.



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

|  |  |
|--|--|
| Normalise to...<br>(Normaliser par rapport à...) :     | Permet la normalisation des données d'amplification par rapport aux données d'un colorant de référence passive, comme le ROX, acquises dans un autre canal.  |
| Crop start cycles<br>(Supprimer les cycles de début) : | Permet de créer une nouvelle série de données du canal dans laquelle certains cycles de début ont été supprimés. Cette fonction est utile si des écarts importants sont observés dans les cycles initiaux, ce qui peut se produire en utilisant certains produits chimiques.   |
| Crop end cycles<br>(Supprimer les cycles de fin) :     | Permet de créer une nouvelle série de données du canal dans laquelle certains cycles de fin ont été supprimés.   |
| Page 1 :   | Indique la page qui est sélectionnée pour afficher les tracés des données brutes. La fenêtre « Edit Sample » (Modifier l'échantillon) permet de créer plusieurs définitions d'échantillons. Vous pouvez par exemple afficher les données avec diverses épaisseurs de trait, définitions d'échantillons et autres options d'affichage. Cette fonction est particulièrement utile si vous effectuez une quantification relative sur un seul canal car vous pouvez facilement basculer l'affichage entre le gène d'intérêt et les échantillons domestiques en définissant 2 pages d'échantillons. |

### 7.4 Basculer entre les échantillons

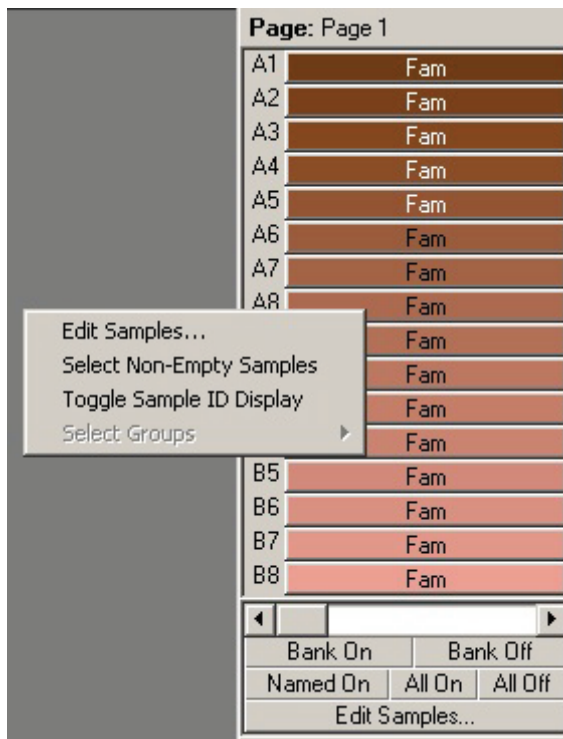
Un bouton bascule est présent à droite de la fenêtre principale, il inclut une légende des échantillons. Il comprend des cellules colorées, chacune correspondant à un échantillon sur l'affichage. Le bouton bascule permet de décider quels échantillons peuvent apparaître sur l'affichage. Les échantillons dont la cellule présente une couleur vive apparaissent, ceux dont la cellule présente une couleur claire n'apparaissent pas. Vous pouvez activer ou désactiver les échantillons en cliquant sur la cellule ou en faisant glisser le pointeur de la souris sur plusieurs cellules en même temps. Les boutons « Bank On » (Rangée activée) et « Bank Off » (Rangée désactivée) permettent respectivement de masquer ou d'afficher tous les échantillons visibles dans la liste. La barre de défilement peut permettre d'afficher le groupe d'échantillons suivant.

**Remarque :** Le nombre d'échantillons affichés est variable, il dépend de l'espace disponible dans la fenêtre.

Cliquez sur « Named On » (Nommé) pour afficher uniquement les échantillons qui ont un nom. C'est un moyen rapide d'afficher seulement les échantillons pertinents. Cliquez sur « All On » (Activer tout) ou « All Off » (Désactiver tout) pour afficher tous les échantillons présents dans le rotor ou n'en afficher 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 et types d'échantillons et les concentrations des étalons (voir la section 7.8.4).



Le bouton bascule est illustré ci-dessous. Les options supplémentaires affichées apparaissent lorsque vous faites un clic droit sur le bouton bascule.



Page :

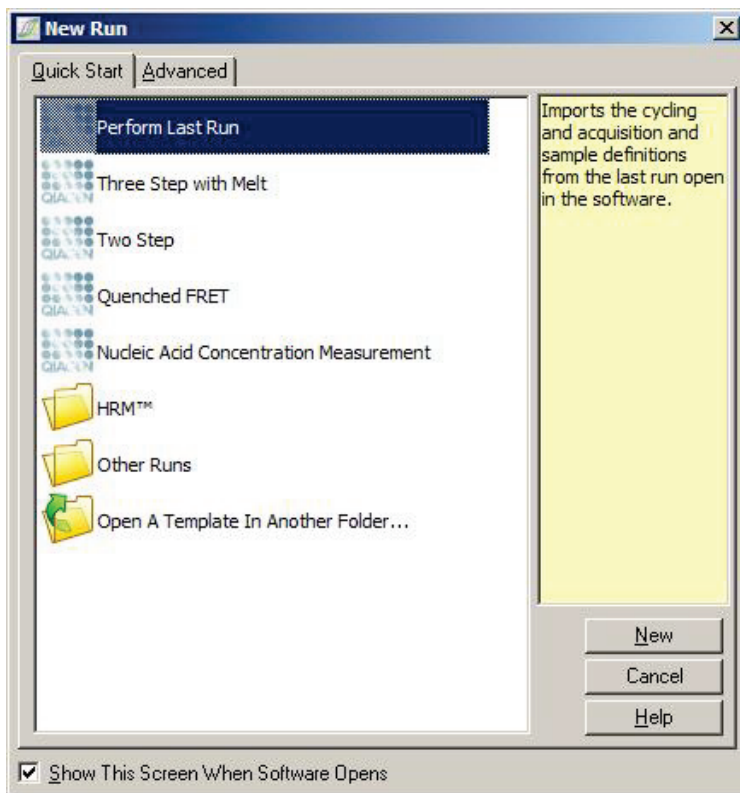
Cette légende en haut du bouton bascule indique la page de l'échantillon affichée. Les pages permettent des analyses indépendantes variées d'une série de données du canal. Vous pouvez par exemple analyser deux courbes étalons dans le canal vert et générer des rapports indépendants. Vous trouverez davantage d'informations sur la définition des pages d'échantillons dans la section 7.8.4.

|  |   |
|--|---|
| Toggle Sample ID Display (Basculer l'affichage d'ID 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 » (Basculer l'affichage d'ID échantillon) vous permet de basculer vers un ordre croissant des échantillons (1 à 72).  |
| Select Non-Empty Samples (Sélectionner des échantillons non vides) : | Cette option désélectionne les échantillons qui ont un « Type » spécifié sur « None » (Aucun) dans la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons). Ainsi, seuls les échantillons pertinents pour l'analyse apparaissent.   |
| Select Groups (Sélectionner des groupes) :                           | Si vous avez défini des groupes, cette fonctionnalité permet de basculer (activer/désactiver) l'affichage des échantillons dans les groupes. Les groupes sont des regroupements arbitraires d'échantillons qui permettent un rapport avancé des résultats statistiques. Vous pouvez par exemple définir des groupes d'échantillons de patients traités et non traités. Vous pouvez configurer les groupes dans la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons). |

## 7.5 Menu Fichier

### 7.5.1 Nouveau

Après avoir sélectionné « File » (Fichier) puis « New » (Nouveau), la fenêtre « New Run » (Nouveau cycle d'exécution) apparaît. Cette fenêtre présente les modèles couramment utilisés sous les onglets « Quick Start » (Démarrage rapide) et « Advanced » (Avancé). Dès que vous sélectionnez le modèle, l'assistant vous guide dans la configuration du cycle d'exécution et vous permet de modifier les paramètres et les profils.



Pour plus d'informations sur les modèles présentés, voir la section 6.1 et la section 6.2.

### Nouveau cycle d'exécution

- |                          |   |
|--------------------------|---|
| New...<br>(Nouveau...) : | Permet de débiter la configuration du cycle d'exécution à l'aide du modèle sélectionné. |
| Cancel<br>(Annuler) :    | Permet de fermer cette fenêtre.   |
| Help (Aide) :            | Permet d'ouvrir l'aide en ligne.  |

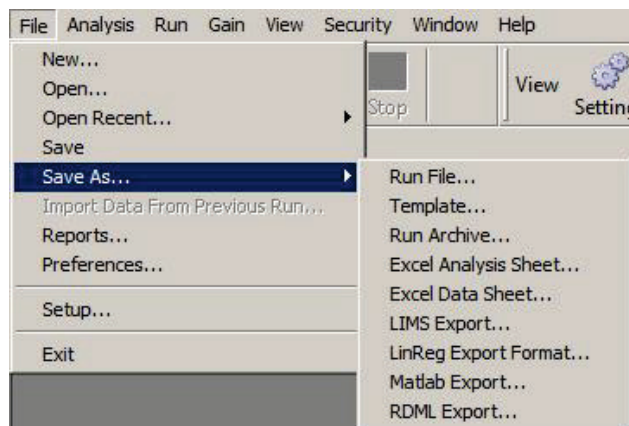
Show This Screen When Software Opens (Afficher cet écran à l'ouverture du logiciel) Si cette case est cochée, la fenêtre « New Run » (Nouveau cycle d'exécution) apparaît au démarrage du logiciel.

### 7.5.2 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 apportées à un fichier de cycle d'exécution.



|  |   |
|--|---|
| Save As...<br>(Enregistrer sous) :                     | Utilisez cette fonction pour enregistrer le fichier ou les données de cycle d'exécution en divers formats. Les options sont présentées ci-dessous.  |
| Run File...<br>(Fichier de cycle d'exécution...) :     | Permet d'enregistrer une copie du fichier. L'utilisateur peut modifier le nom et enregistrer l'emplacement. Il s'agit du format par défaut.   |
| Template...<br>(Modèle...) :                           | Permet d'enregistrer la configuration du profil et les paramètres associés mais pas les données du cycle d'exécution. Le modèle peut être utilisé pour lancer les futurs cycles d'exécution.  |
| Run Archive...<br>(Archive de cycle d'exécution...) :  | Permet d'enregistrer dans un format de fichier plus compact. Enregistrez des fichiers dans ce format avant de les envoyer par courriel. Cela réduit le temps nécessaire à l'envoi de fichiers et évite aux fichiers d'être corrompus par les clients de messagerie. |
| LIMS Export...<br>(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 de QIAGEN pour plus d'informations.  |
| Excel Data Sheet...<br>(Feuille de données Excel) :    | Permet d'exporter tous les canaux bruts vers une feuille Excel®. Seuls les échantillons sélectionnés sont exportés.   |
| Excel Analysis Sheet...<br>(Feuille d'analyse Excel) : | Permet d'exporter toutes les analyses du cycle d'exécution en cours dans une même feuille Excel.  |

|  |   |
|--|---|
| LinReg Export<br>Format... (Format<br>d'exportation<br>LinReg) : | Permet d'exporter toutes les données brutes des canaux dans un format lisible par LinReg (un outil d'analyse performant).<br>Voir « Exportation vers LinReg » ci-après pour plus de détails.  |
| Matlab Export...<br>(Exportation<br>Matlab) :                    | Permet d'exporter les données dans un format lisible par l'ensemble scientifique Matlab (ou son équivalent open source, Octave). Cela peut être utile pour les recherches de méthodes.  |
| RDML Export...<br>(Exportation vers<br>RDML) :                   | Permet une exportation de fichier compatible RDML v1.1. Le fichier d'exportation RDML est créé au format XML compressé ZIP, avec une extension <b>*.rdml</b> , il est compatible avec le document de schéma RDML ( <a href="http://www.rdml.org/RDML_v1_1_PR.xsd">http://www.rdml.org/RDML_v1_1_PR.xsd</a> ) disponible sur le site Web <a href="http://www.rdml.org/files.php">http://www.rdml.org/files.php</a> . |

### Exportation vers LinReg

LinReg est un outil développé par C. Ramakers et ses collaborateurs.\* L'outil LinReg est disponible sur : <http://LinRegPCR.nl>.

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

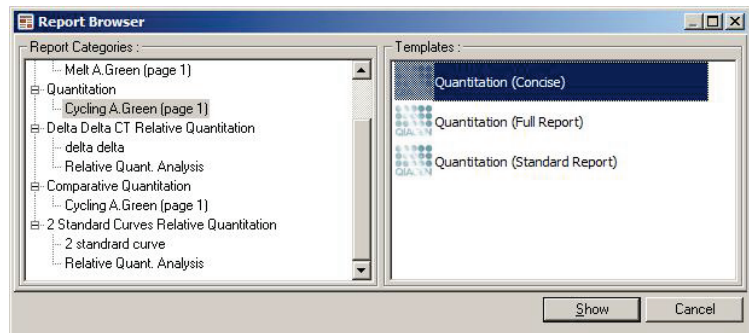
1. Ouvrez le fichier de cycle d'exécution Rotor-Gene Q contenant les données brutes.

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

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.
5. 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, c'est pourquoi vous devez sélectionner une plage dans la feuille Excel.

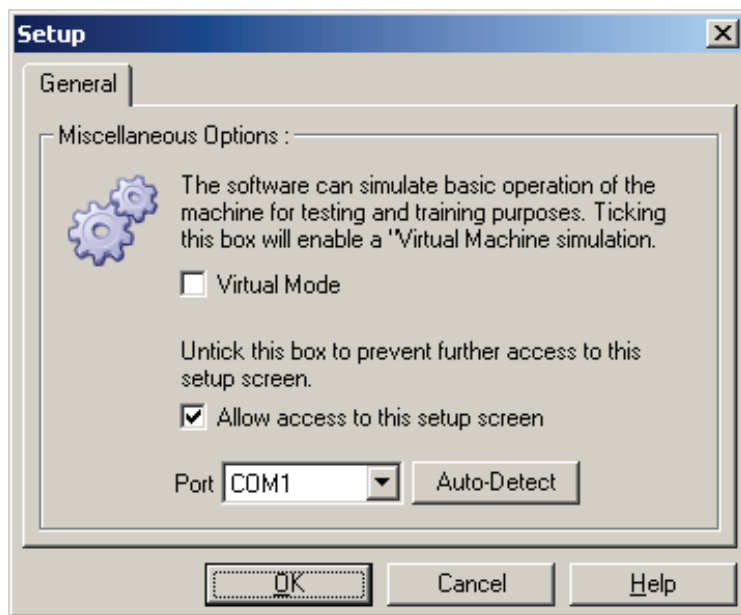
### 7.5.3 Rapports

Dès que vous sélectionnez « Reports » (Rapports), la fenêtre « Report Browser » (Navigateur de rapports) apparaît. Si les données ont déjà été analysées, le rapport de cette 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.



### 7.5.4 Configuration

La configuration initiale du Rotor-Gene Q MDx doit être effectuée pendant l'installation. Toutefois, cette option vous permet de changer la configuration de la connexion du Rotor-Gene Q MDx après l'installation, si vous le souhaitez.



- Virtual Mode (Mode virtuel) : Cochez cette option si le logiciel doit être utilisé sans connexion au Rotor-Gene Q MDx. Le logiciel conserve toutes les fonctions. Ce mode est utile pour la démonstration, l'analyse de données et la définition de modèles.
- Allow access to this setup screen (Autoriser l'accès à cet écran de configuration) : Si cette option est décochée pendant 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 afin de permettre les communications entre l'ordinateur et le Rotor-Gene Q MDx.

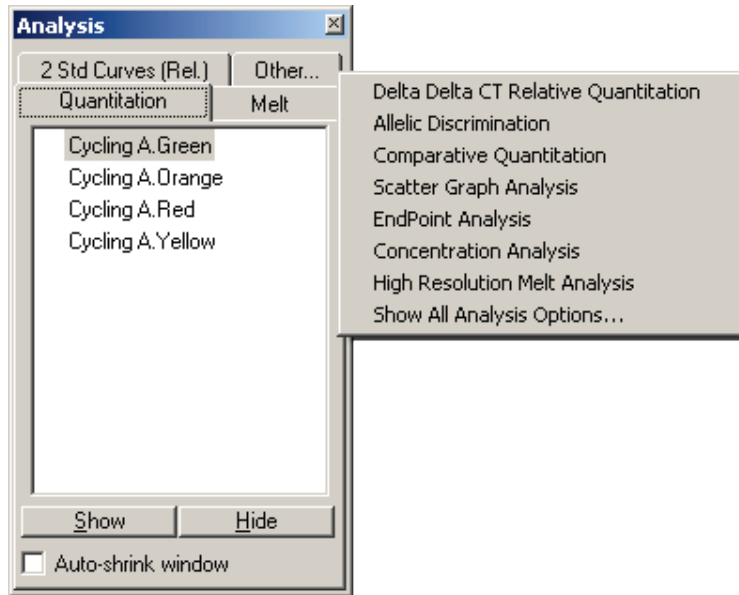


Auto-Detect (Détection automatique) : Si vous n'êtes pas sûr du port à sélectionner, cliquez sur « Auto-Detect » (Détection automatique) pour rechercher tous les ports disponibles.

## **7.6 Menu Analyse**

### **7.6.1 Analyse**

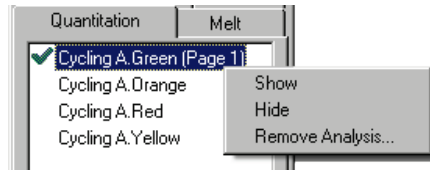
Lorsque vous cliquez sur « Analysis » (Analyse), la fenêtre « Analysis » (Analyse) apparaît. Elle permet la création de nouvelles analyses et l'affichage d'analyses existantes. La méthode d'analyse est sélectionnée à l'aide des onglets. Une liste des canaux pouvant être analysés avec la méthode sélectionnée apparaît. Vous pouvez analyser indépendamment plusieurs dosages effectués sur un même canal, 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 en regard. Cela implique que les paramètres de seuil et de normalisation ont été enregistrés pour cette analyse. Pour afficher ou analyser un canal, double-cliquez dessus. La fenêtre d'analyse spécifique s'ouvre.



Auto-shrink window (Réduire automatiquement la fenêtre) :  
Cochez « Auto-shrink window » (Réduire automatiquement la fenêtre) pour réduire la fenêtre lorsqu'elle n'est pas utilisée. 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 de façon à s'adapter à celles déjà affichées à l'écran. S'il y a plusieurs fenêtres affichées, cela peut se révéler fastidieux. Fermez les fenêtres dont vous n'avez plus besoin puis cliquez sur « Arrange » (Organiser) dans la barre d'outils. Les fenêtres sont automatiquement organisées suivant la méthode « pose de carrelage ». Vous pouvez également choisir 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 voir 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 totalement l'analyse  
sélectionnée. Cela signifie que tous les  
paramètres de normalisation ou la  
configuration des groupes de fusion  
dans l'analyse seront perdus.

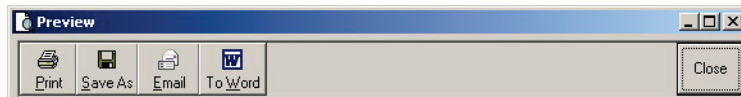
### 7.6.2 Quantification

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

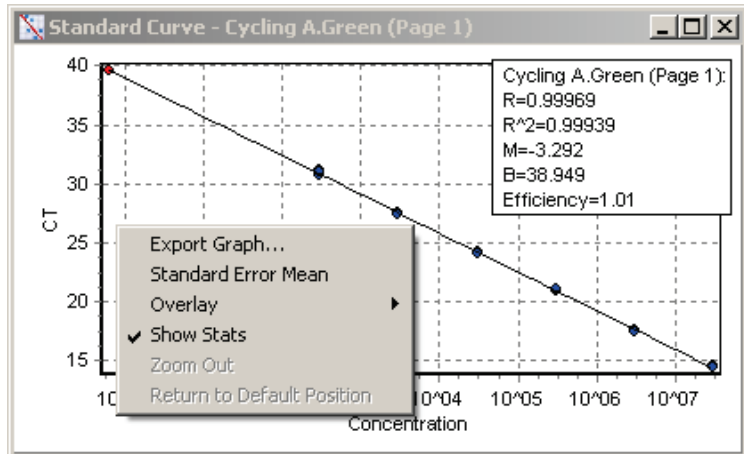
Reports (Rapports) : « Reports » (Rapports) permet d'ouvrir la fenêtre « Report Browser » (Navigateur de rapports) dans laquelle vous pouvez générer un rapport de l'analyse en cours. Vous avez 3 options : rapport standard, rapport complet et rapport concis. Double-cliquez sur l'option de votre choix pour ouvrir le rapport dans la fenêtre « Preview » (Aperçu).

Une fois le rapport généré, les boutons en haut de la fenêtre « Preview » (Aperçu) peuvent vous permettre d'imprimer, enregistrer ou envoyer le rapport par courriel, ou encore de l'exporter au format 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.



En cliquant sur la ligne de seuil et en la faisant glisser dans la fenêtre principale, vous pouvez recalculer les valeurs de la courbe étalon de façon dynamique au fur et à mesure que le niveau de seuil change.

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

**Remarque :** Si vous voulez redéfinir les étalons pour recalculer la courbe étalon, désactivez la visibilité de l'échantillon étalon à l'aide du bouton bascule à droite de l'écran afin de le supprimer du calcul de la courbe étalon. La suppression d'étalons du graphique pour accroître la valeur R<sup>2</sup> ne présente aucune validité scientifique. Un étalon erroné indique que les échantillons sont peut-être eux aussi erronés, ils doivent donc être inclus aux résultats.

Efficiency  
(Efficacité) : Il s'agit de l'efficacité de la réaction dans le cycle d'exécution. Cette valeur est abordée plus en détails page 7-34.

Valeur  $R^2$   
(coefficient de corrélation) : La valeur  $R^2$  est le pourcentage des données qui illustrent l'hypothèse selon laquelle les étalons forment une courbe étalon. Si la valeur  $R^2$  est faible, les étalons ne s'alignent pas bien sur une courbe de meilleur ajustement. Autrement dit les résultats (à savoir les concentrations calculées) ne sont sans doute pas fiables. Une valeur  $R^2$  correcte est d'environ 0,999.

**Remarque** : Il est possible d'obtenir une valeur  $R^2$  élevée avec une courbe étalon médiocre si un nombre insuffisant d'étalons a été analysé. La valeur  $R^2$  s'améliore à mesure que le nombre d'étalons diminue. Pour une indication plus précise de la fiabilité des résultats, aidez-vous des intervalles de confiance sur les concentrations calculées.

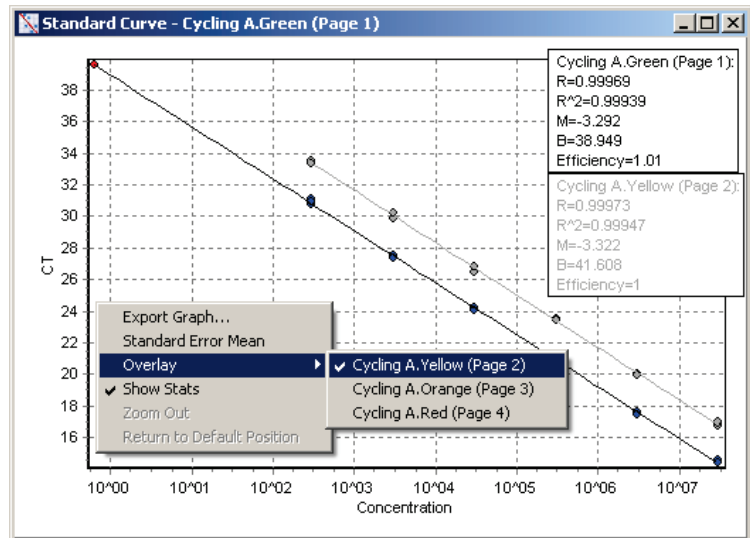
Valeur R  
(racine carrée du coefficient de corrélation) : La valeur R est la racine carrée de la valeur  $R^2$ . En règle générale, la valeur  $R^2$  est plus utile pour déterminer la corrélation.

M et B : La pente (M) et le point d'intersection (B) de la courbe étalon sont automatiquement calculés suivant la formule  $y = Mx + B$ , puis affichés dans la fenêtre « Standard Curve » (Courbe étalon).

Export  
Graph...(Exporter le graphique...) : Faites un clic droit sur la courbe étalon pour afficher l'option permettant d'exporter le graphique (voir la section 8.4).

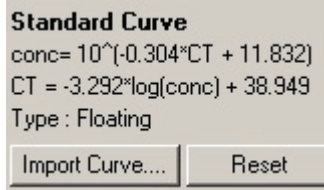
Overlay  
(Superposer) :

Lorsque vous réalisez plusieurs cycles d'exécution de quantification au cours d'un même cycle, il est possible de superposer les courbes étalons dans la même fenêtre. C'est utile pour un affichage graphique de la différence entre les différents seuils. Cette fonctionnalité est illustrée sur la capture d'écran ci-dessous.



### Calcul de la courbe étalon

«  $\text{conc} = \dots * C_T + \dots$  » et «  $C_T = \dots$  » sont 2 versions de l'équation utilisée pour relier les valeurs  $C_T$  et les concentrations. Dans les publications, la formule «  $C_T = \dots$  » est la plus communément utilisée. 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 d'un autre cycle d'exécution.



### ***Importer la courbe***

L'importation d'une courbe étalon permet d'estimer les concentrations lorsqu'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 les courbes à partir d'un autre canal ou d'un autre cycle d'exécution en cliquant sur « Import Curve » (Importer la courbe).

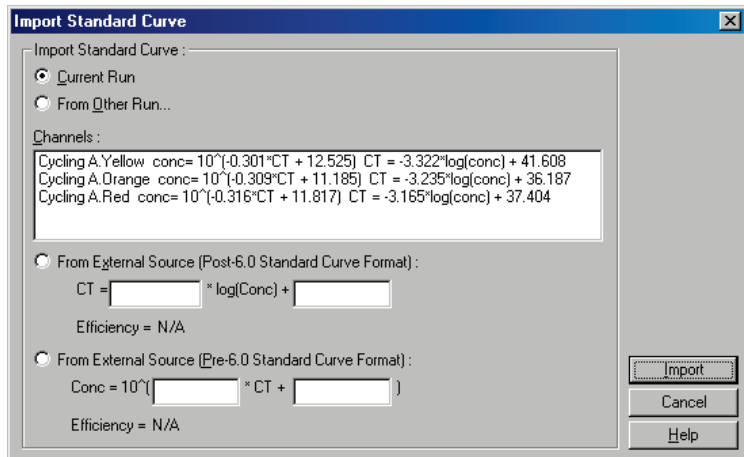
Il est possible d'ajuster la courbe étalon si nécessaire. L'ajustement de la courbe étalon signifie que seule l'efficacité de la courbe étalon source est importée dans le cycle d'exécution en cours. C'est le produit utilisé qui détermine si vous devez ou non ajuster la courbe étalon.

Pour ajuster la courbe étalon, utilisez une référence dans le nouveau cycle d'exécution avec une concentration connue. Définissez une référence en définissant le type d'échantillon sur « Standard » (Étalon) puis en saisissant une valeur de concentration dans la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons). Vous pouvez saisir plusieurs copies de la même référence afin d'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 une référence de 1 000 copies puis 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 remettre le type sur « Floating » (Flottante).

Vous trouverez ci-dessous une capture d'écran de la fenêtre « Import Standard Curve » (Importer la courbe étalon).





Dans 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 d'exécution en cours) :** Lorsque cette option est cochée, les analyses de quantification sur d'autres canaux dans ce cycle d'exécution sont répertoriées avec les courbes étalons correspondantes.

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

**Remarque :** Il faut que les paramètres d'analyse de quantification aient été enregistrés dans le fichier de cycle d'exécution.

**Channels (Canaux) :** Liste des canaux analysés et de leurs formules de courbe étalon.

From External Source (À partir d'une source externe) : Dans cette zone, les valeurs M et B peuvent être saisies directement. C'est utile si les valeurs proviennent d'une source externe comme un tableur Excel.

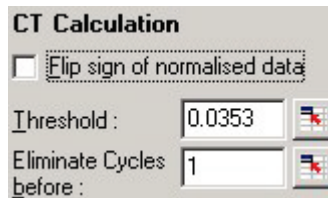
### Calcul de $C_T$

Invert raw data (Inverser les données brutes) : Certains produits génèrent un signal de fluorescence qui diminue de façon exponentielle au lieu d'augmenter. Il est possible d'analyser ces données en utilisant « Quantitation » (Quantification) mais la case « Invert Raw Data » (Inverser les données brutes) doit être cochée. Pour toute autre analyse de quantification, cette option doit rester décochée.

Invert Raw Data

$C_T$  Calculation (Calcul de  $C_T$ ) : La valeur  $C_T$  représente le numéro du cycle auquel la courbe d'amplification croise un seuil de détection. En définissant la ligne de seuil et en calculant l'intersection avec chaque courbe, vous établissez la valeur  $C_T$  pour chaque échantillon.

**Threshold (Seuil)** : Pour définir le seuil, cliquez sur l'icône (grille avec une flèche rouge) puis cliquez sur le graphique en maintenant le bouton enfoncé et faites glisser la ligne jusqu'au niveau souhaité. Vous pouvez aussi saisir une valeur log. Vous pouvez également utiliser « Auto-Find Threshold » (Trouver automatiquement le seuil) pour déterminer automatiquement le seuil. Lorsque vous définissez un seuil manuellement, vous devez le faire dans la phase exponentielle du cycle d'exécution, très au-dessus du niveau du bruit de fond pour éviter ce dernier et au-dessous du début du palier du signal dans les cycles suivants.



**Eliminate Cycles before (Éliminer les cycles antérieurs à)** : Pour la définition, cliquez sur l'icône (grille avec une flèche rouge) puis cliquez sur le graphique en maintenant le bouton enfoncé et faites glisser la ligne vers la droite. Cela élimine le seuil pour les numéros de cycles faibles.

**Remarque** : C'est utile en cas de bruit au cours des cycles initiaux, par exemple dus aux effets de mélange des échantillons.

Auto-Find Threshold  
(Trouver automatiquement le seuil) :

Cette fonction permet de parcourir la zone sélectionnée du graphique afin de trouver un paramètre de seuil qui donne des estimations optimales des concentrations données. La zone sélectionnée peut être modifiée 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 convenables. La fonction parcourt la plage des niveaux de seuil pour déterminer au mieux la courbe étalon 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 quantification). Par défaut, cette fenêtre est ouverte lorsqu'une analyse est ouverte. Si vous l'avez fermée, vous pouvez la rouvrir grâce à cette commande.

| Quant. Results - Cycling A.Green (Page 1) |     |       |          |                |    |            |            |               |        |         |             |                  |                 |                       |
|---|-----|-------|----------|----------------|----|------------|------------|---------------|--------|---------|-------------|------------------|-----------------|-----------------------|
| Analysis                                  | No. | Color | Name     | Type           | Cl | Cl Comment | Given Conc | Calc Conc [c] | % Var  | Rep. Cl | Rep. Cl Std | Rep. Cl (95% CI) | Rep. Calc. Conc | Rep. Calc. Conc (95%) |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 1   | 10e8  | Standard | 3,73           |    |            | 1,00E+08   | 7,19E+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   | 10e8  | Standard | 3,74           |    |            | 1,00E+08   | 7,17E+07      | 28,3%  |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 3   | 10e8  | Standard | 3,74           |    |            | 1,00E+08   | 7,16E+07      | 29,4%  |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 4   | 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   | 10e7  | Standard | 6,08           |    |            | 1,00E+07   | 1,47E+07      | 46,6%  |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 6   | 10e7  | Standard | 5,98           |    |            | 1,00E+07   | 1,96E+07      | 55,9%  |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 7   | 10e6  | Standard | 10,43          |    |            | 1,00E+06   | 7,23E+05      | 23,8%  | 10,38   | 0,09        | [10,15, 10,60]   | 8,00E+05        | [2,62E+05, 2,44E+06]  |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 8   | 10e6  | Standard | 10,27          |    |            | 1,00E+06   | 8,58E+05      | 14,2%  |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 9   | 10e6  | Standard | 10,43          |    |            | 1,00E+06   | 7,71E+05      | 22,9%  |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 10  | 10e5  | Standard | 13,49          |    |            | 1,00E+05   | 9,69E+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  | 10e5  | Standard | 13,75          |    |            | 1,00E+05   | 8,13E+04      | 18,7%  |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 12  | 10e5  | Standard | 13,69          |    |            | 1,00E+05   | 8,48E+04      | 15,2%  |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 13  | 10e4  | Standard | 15,66          |    |            | 1,00E+04   | 2,24E+04      | 123,7% | 15,46   | 0,25        | [14,84, 16,08]   | 2,56E+04        | [7,82E+03, 8,36E+04]  |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 14  | 10e4  | Standard | 15,54          |    |            | 1,00E+04   | 2,42E+04      | 141,7% |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 15  | 10e4  | Standard | 15,18          |    |            | 1,00E+04   | 3,09E+04      | 208,8% |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 16  | 10e3  | Standard | 21,36          |    |            | 1,00E+03   | 4,71E+02      | 52,9%  | 21,09   | 0,24        | [20,49, 21,69]   | 5,69E+02        | [9,13E+01, 3,50E+03]  |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 17  | 10e3  | Standard | 20,89          |    |            | 1,00E+03   | 6,47E+02      | 36,3%  |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 18  | 10e3  | Standard | 21,02          |    |            | 1,00E+03   | 5,94E+02      | 40,6%  |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 19  | 10e2  | Standard | NEG (Multi Cl) |    |            | 1,00E+02   |               |        |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 20  | 10e2  | Standard | 23,96          |    |            | 1,00E+02   | 7,99E+01      | 20,1%  |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 21  | 10e2  | Standard | NEG (Multi Cl) |    |            | 1,00E+02   |               |        |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 22  | NTC   | NTC      |                |    |            |            |               |        |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 23  | NTC   | NTC      |                |    |            |            |               |        |         |             |                  |                 |                       |
| Cycling A.Green (Page 1)                  | 24  | NTC   | NTC      |                |    |            |            |               |        |         |             |                  |                 |                       |

Dans la fenêtre « Quantitation Results » (Résultats de quantification), les résultats du cycle d'exécution sont résumés dans un tableau. Faites un clic droit puis sélectionnez « Export

to Excel » (Exporter vers Excel) pour exporter le tableau vers Excel. Excel s'ouvre automatiquement. Pour copier les données dans un tableur existant, choisissez l'option « Copy » (Copier), ouvrez le tableur puis sélectionnez « Paste » (Coller).

La fenêtre « Quantitation Results » (Résultats de 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.   |
| Colour (Couleur) :            | Couleur du graphique définie pour chaque échantillon.  |
| Type :                        | Type d'échantillon défini.   |
| Ct (Ct rép.) :                | Valeur $C_T$ déterminée.   |
| Ct Comment (Commentaire Ct) : | Annotation automatique de la détermination du $C_T$ , si les valeurs $C_T$ sont exclues. Les indicateurs suivants sont possibles : |

NEG (Multi Ct) : Le seuil croise la courbe de fluorescence au moins deux fois (double intersection). Il est impossible de déterminer une valeur  $C_T$  non équivoque.

NEG (NTC) : L'augmentation globale de la fluorescence ne satisfait pas aux conditions définies dans la fonction « NTC threshold » (Seuil NTC) du menu « Outlier Removal » (Suppression des aberrations) (voir ci-après). Par exemple, une courbe de fluorescence croise le seuil donné mais la légère augmentation globale de la pente suggère un contrôle sans matrice (non-template control, NTC) et aucune valeur  $C_T$  n'est donnée.

|   |  |
|---|--|
|   | <p>NEG (R.Eff) : L'augmentation globale de la fluorescence ne satisfait pas aux conditions définies dans la fonction « Reaction efficiency threshold » (Seuil d'efficacité de la réaction) du menu « Outlier Removal » (Suppression des aberrations) (voir ci-après). Les échantillons qui ne présentent pas une certaine efficacité de la réaction sont exclus et aucune valeur <math>C_T</math> n'est donnée. Cet indicateur n'apparaît que si la fonction correspondante est activée.</p> |
| %Var :  | <p>Pourcentage de variation entre la concentration calculée et la concentration connue.<br/><math>\%Var = Abs(Calculée/Donnée-1)</math></p>  |
| Rep. Ct<br>(Ct rép.) :                          | <p><math>C_T</math> moyen de tous les échantillons portant le même nom que cet échantillon.</p>  |
| Rep. Ct Std.<br>Dev. (Écart-<br>type Ct rép.) : | <p>Écart-type de la valeur de <math>C_T</math> de tous les échantillons portant le même nom que cet échantillon.</p>   |
| Rep. Ct 95%<br>C.I.(IC 95 %<br>Ct rép.) :       | <p>Plage de <math>C_T</math> qui, statistiquement, représente 95 % de la variation de la valeur de <math>C_T</math>. Il s'agit d'une mesure statistique classique qui peut être utilisée comme mesure de la qualité. Cette plage peut être réduite en analysant davantage de réplicats ou en ayant moins de variation dans les réplicats.</p>  |
| Rep. Calc.<br>Conc (Conc.<br>calc. rép.) :      | <p>Concentration calculée pour tous les échantillons portant le même nom.</p> <p><b>Remarque</b> : Il ne s'agit pas de la simple moyenne des concentrations calculées. C'est la moyenne géométrique, qui est une moyenne mathématiquement plus adaptée en raison de la nature exponentielle de l'amplification en temps réel.</p>  |

Rep. Calc.      Plage de concentrations qui représente 95 %  
Conc. 95%      de la variation dans l'échantillon individuel ainsi  
C.I. (IC 95 %    que modèle de régression linéaire sur lequel  
conc. calc.      elle se base. Une interprétation de cette mesure  
rép.) :            consiste à dire qu'il s'agit de 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, la plage peut être  
plus importante en raison de la variation  
inhérente à toute analyse en temps réel. Cette  
plage peut être plus importante si les étalons  
sont analysés avec des concentrations différentes  
des échantillons inconnus, si un petit nombre de  
réplicats est utilisé ou s'il y a une variation  
significative.

**IMPORTANT** : Les variations indiquées par cette mesure sont inhérentes au processus exponentiel de l'amplification en temps réel, elles ne sont pas imputables au Rotor-Gene Q MDx. Des tests similaires réalisés sur des thermocycleurs à blocs donneraient une variation plus importante en raison de l'uniformité de température moindre des systèmes à blocs. Si vous souhaitez comparer les thermocycleurs, nous vous recommandons de comparer l'écart-type de la valeur  $C_T$ .

**Remarque** : Vous trouverez des informations plus détaillées sur les intervalles de confiance en Annexe B.

**Remarque** : À l'exception de Colour (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. | Name | Type     | Ct    | Ct Comment | Given Conc | Calc Conc |
|-----|------|----------|-------|------------|------------|-----------|
| 1   | 10e8 | Standard |       |            |            |           |
| 2   | 10e8 | Standard |       |            |            |           |
| 3   | 10e8 | Standard |       |            |            |           |
| 4   | 10e7 | Standard |       | NEG        |            |           |
| 5   | 10e7 | Standard |       | NEG        |            |           |
| 6   | 10e7 | Standard |       | NEG        |            |           |
| 7   | 10e6 | Standard | 11,46 |            |            |           |
| 8   | 10e6 | Standard | 11,39 |            |            |           |
| 9   | 10e6 | Standard | 11,40 |            |            |           |
| 10  | 10e5 | Standard | 15,04 |            |            |           |
| 11  | 10e5 | Standard | 15,03 |            |            |           |
| 12  | 10e5 | Standard | 15,05 |            |            |           |
| 13  | 10e4 | Standard | 18,26 |            |            |           |
| 14  | 10e4 | Standard | 18,45 |            |            |           |
| 15  | 10e4 | Standard | 18,29 |            |            |           |
| 16  | 10e3 | Standard | 22,35 |            |            |           |
| 17  | 10e3 | Standard | 22,17 |            | 1,00E+03   | 1,02E+03  |
| 18  | 10e3 | Standard | 22,31 |            | 1,00E+03   | 9,41E+02  |
| 19  | 10e2 | Standard | 26,01 |            | 1,00E+02   | 8,92E+01  |
| 20  | 10e2 | Standard | 25,72 |            | 1,00E+02   | 1,07E+02  |
| 21  | 10e2 | Standard | 25,94 |            | 1,00E+02   | 9,33E+01  |

**Important** : Afin d'assurer un rapport et une traçabilité sans failles, si une valeur  $C_T$  est exclue automatiquement, la colonne « Ct Comment » (Commentaire Ct) ne doit jamais être masquée. Vous devez activer manuellement la colonne « Ct Comment » (Commentaire Ct) après la première installation du logiciel ou si un utilisateur précédent l'a désactivée.

De façon très pratique, la fonctionnalité « AutoStat » (Stat. auto) calcule automatiquement la moyenne, l'écart-type ainsi que les valeurs minimale et maximale des échantillons d'intérêt. Sélectionnez les résultats d'intérêt en les faisant glisser avec le bouton gauche de la souris, les valeurs apparaissent alors dans un tableau à droite de l'écran.



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

| Quant. Results - Cycling A.Green (Page 1) |                  |                   |       | Statistics                          |          |
|---|------------------|-------------------|-------|-------------------------------------|----------|
| Ct  | Given Conc (Cop) | Calc Conc (Copie) | % Var | Maximum :                           | 28730050 |
| 14.42                                     | 30000000         | 28255064          | 5.8%  | Minimum :                           | 25142920 |
| 14.59                                     | 30000000         | 25142920          | 16.2% | Count :                             | 3        |
| 14.40                                     | 30000000         | 28730050          | 4.2%  | Mean :                              | 27328521 |
| 17.44                                     | 30000000         | 3422624           | 14.1% | Std. Dev :                          | 1.07537  |
| 17.58                                     | 30000000         | 3103391           | 3.4%  | (Orders of Mag.)                    |          |
| 17.42                                     | 30000000         | 3467111           | 15.6% | <input type="button" value="Copy"/> |          |
| 20.99                                     | 300000           | 285353            | 4.9%  |                                     |          |
| 20.92                                     | 300000           | 298898            | 0.4%  |                                     |          |
| 21.04                                     | 300000           | 275802            | 8.1%  |                                     |          |
| 21.20                                     | 300000           | 307286            | 1.0%  |                                     |          |

**IMPORTANT :** La fonctionnalité « AutoStat » (Stat. auto) dépend du contexte. Autrement dit, dans la mesure du possible, elle ne génère des informations que si c'est pertinent.

Par exemple :

- Il n'est pas possible d'obtenir un intervalle de confiance de 95 % à partir d'une série 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 rapporté pour les concentrations calculées et non comme une valeur absolue. Il s'agit d'un pourcentage de variation. Par exemple une valeur de 1,07537 représente une variation de 7,54 %  $(278\,974 - 322\,611) = (300\,000 / 1,07537 - 300\,000 * 1,07537)$ . L'indication d'une valeur absolue n'aurait donc aucun sens pour une courbe étalon. La valeur pourrait être rapportée à la concentration la plus faible pour créer une erreur perçue comme faible ( $\pm 3$  copies) ou à une concentration élevée ( $\pm 3\,000\,000$  copies). C'est pour cela que l'écart-type « Orders of Magnitude » (Ordres de grandeur) est rapporté.
- Pour les concentrations calculées, la moyenne géométrique est utilisée à la place de la moyenne arithmétique. Cela tient compte de la nature exponentielle de la real-time PCR. Par exemple dans le 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  $(1 \cdot 2 \cdot 8 \cdot 16)^{(1/4)} = 4$  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 les utilise comme indicateur du bruit de fond moyen de chaque échantillon. Tous les points de données pour l'échantillon sont ensuite divisés en fonction de cette valeur pour normaliser les données. Cela peut être imprécis parce que pour certains échantillons, il se peut que le bruit de fond sur les 5 premiers cycles ne soit pas révélateur du bruit de fond juste avant l'amplification. A contrario, la normalisation du tube dynamique utilise le deuxième dérivé de chaque tracé d'échantillon afin de déterminer un point de hausse pour chaque échantillon. Une moyenne du bruit de fond est ensuite effectuée à partir du cycle 1 jusqu'à ce cycle de hausse pour chaque échantillon. Cela donne des résultats de quantification d'une extrême précision.

Notez que pour certaines séries de données, la fluorescence de bruit de fond n'est pas homogène pendant les cycles avant le début de l'amplification. Dans ce cas, il peut être nécessaire de désélectionner la normalisation du tube dynamique en cliquant sur « Dynamic Tube » (Tube dynamique) car cela pourrait donner une quantification moins précise.

### **Correction de la pente du bruit**

Idéalement, la fluorescence (FI) de bruit de fond d'un échantillon doit rester constante avant l'amplification. Mais parfois, la FI affiche une augmentation ou une diminution progressive sur plusieurs cycles en raison du produit utilisé. Cela engendre un niveau de bruit irrégulier. La correction de la pente du bruit utilise une courbe de meilleur ajustement pour déterminer le niveau de bruit plutôt qu'une moyenne, puis effectue la normalisation par rapport à cette courbe. Si

vous sélectionnez cette option en cliquant sur le bouton « Slope Correct » (Pente correcte), vous pouvez améliorer les données par rapport aux réplicats si les lignes de base des échantillons présentent une pente nette. La correction de la pente du bruit améliore les données si vous constatez que les bruits de fond des données brutes présentent une pente ascendante ou descendante avant le point de hausse ( $C_T$ ).

Si la pente n'est pas régulière ou si les cycles initiaux de la ligne de base affichent une augmentation ou une diminution importante du signal par rapport au reste de la courbe, la correction de la pente du bruit peut engendrer quelques effets indésirables, tels que des courbes de contrôle négatif qui franchissent le seuil à cause de l'approximation de la ligne de base en tant que courbe de meilleur ajustement et la normalisation des données brutes effectuée en conséquence. Ainsi, cette fonction n'améliore pas toujours la qualité des données et ne doit être utilisée que si les courbes de données brutes affichent une pente régulière.

### **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. Vous ne pouvez utiliser l'ajustement du point de hausse qu'avec la normalisation du « Dynamic Tube » (Tube dynamique).

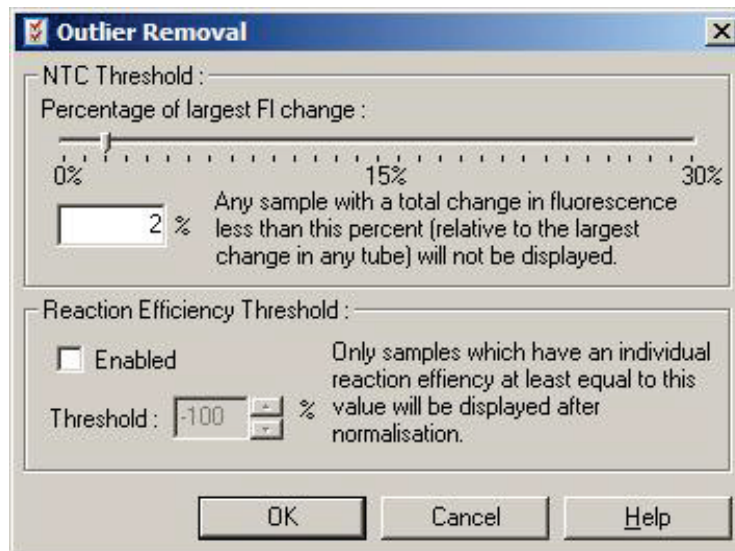
### **« Ignore First » (Ignorer premier)**

Il est possible que le signal de fluorescence des quelques premiers cycles d'un cycle d'exécution ne soit pas représentatif du reste du cycle. C'est pourquoi vous pouvez obtenir de meilleurs résultats si vous ignorez ces premiers cycles. Vous pouvez ignorer jusqu'à 10 cycles. Mais si les premiers cycles semblent similaires aux cycles suivants, vous obtiendrez de meilleurs résultats en désélectionnant « Ignore First » (Ignorer

premier) car l'algorithme de normalisation aura davantage de données à utiliser.

### Suppression des aberrations

Pour distinguer les variations mineures dans la fluorescence des vraies réactions dans les contrôles sans matrice (no template control, NTC), 2 mesures sont proposées : « NTC Threshold » (Seuil NTC) et « Reaction Efficiency Threshold » (Seuil d'efficacité de la réaction). Le « NTC Threshold » (Seuil NTC) est recommandé pour la plupart des applications. L'approche utilisée doit être validée.



**NTC Threshold (Seuil NTC) :** Cela permet d'exclure de l'analyse les échantillons ou les NTC qui présentent une légère déviation ascendante. Aucun des échantillons présentant une variation inférieure au « NTC Threshold » (Seuil NTC) ne sera rapporté et un indicateur « NEG (NTC) » apparaîtra dans la colonne « CT Comment » (Commentaire Ct).

Le pourcentage est relatif à la variation maximale la plus importante détectée dans un tube. Par exemple si un échantillon a commencé avec un bruit de fond de 2 FI avant de passer à 47 FI, 45 FI représente 100 %. Un « NTC Threshold » (Seuil NTC) de 10 % considérerait n'importe quel échantillon inférieur à 4,5 FI comme du bruit.

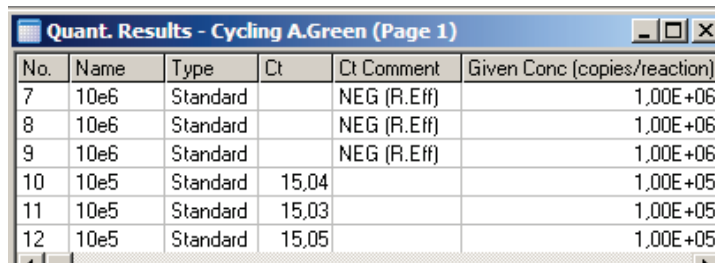
**Reaction Efficiency Threshold (Seuil d'efficacité de la réaction) :** Le « Reaction Efficiency Threshold » (Seuil d'efficacité de la réaction) est une autre méthode permettant d'exclure le bruit de l'analyse. Cet algorithme de normalisation utilise les techniques d'estimation de l'efficacité de la réaction utilisées pour la quantification comparative (voir la section 7.6.6). 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 qu'au cours de la phase exponentielle, aucune réaction n'a eu lieu. Un niveau de 100 % indique qu'une réaction parfaitement efficace a eu lieu au cours de la phase exponentielle. Des pourcentages négatifs indiquent qu'au cours de la phase exponentielle, le signal de fluorescence a décliné.

Les recherches actuelles ne sont pas concluantes quant aux niveaux précis d'efficacité nécessaire pour distinguer les vraies réactions d'une contamination et d'autres effets. Par conséquent, nous recommandons d'utiliser cette fonctionnalité avec la plus grande prudence, en supposant qu'un échantillon ayant une vraie réaction affichera une phase exponentielle visible avec une augmentation de la fluorescence. En définissant cette valeur à plus de 0 %, vous excluez certains échantillons présentant une augmentation inefficace mais perceptible de la fluorescence, et en la définissant à moins de 0 %, vous affichez les échantillons dont la fluorescence a diminué au cours de la phase exponentielle et qui doivent donc être exclus.

**Remarque** : Si une valeur est exclue en raison de l'activation de l'une de ces techniques, la valeur  $C_T$  correspondante n'apparaît pas dans la fenêtre « Quantitation Results » (Résultats de quantification). Un indicateur révélant l'exclusion apparaît simultanément dans la colonne « CT Comment » (Commentaire Ct). Il est donc important de veiller à ce que la colonne « CT Comment » (Commentaire Ct) soit affichée à tout moment.

Sur l'image ci-dessous, les échantillons 7, 8 et 9 ont été exclus en raison du « 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***

Vous pouvez utiliser la pente (M) d'une réaction (illustrée dans la fenêtre « Standard Curve » [Courbe étalon]) pour déterminer l'amplification exponentielle et l'efficacité d'une 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 M, l'amplification exponentielle et l'efficacité de la réaction sont respectivement -3,322, 2 et 1. L'efficacité de la réaction apparaît dans le rapport (dans les rapports complets et standard, voir page 7-13) et dans la fenêtre « Standard Curve » (Courbe étalon).

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

Soit un valeur 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 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 la relation entre 2 variables, le décalage est exprimé par la lettre B ( $y = Mx + B$ ). Le décalage est parfois appelé point d'intersection. B représente le  $C_T$  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  $C_T = B$

Le point d'intersection peut changer d'un cycle d'exécution à l'autre, c'est une mesure moins stable que le gradient. Ainsi le gradient est analysé plus fréquemment que le point d'intersection.

### Fenêtre principale

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

En cliquant sur « Linear Scale » (Échelle linéaire) au bas de la fenêtre, vous basculez entre l'échelle logarithmique et l'échelle linéaire. L'alternance entre ces échelles ne modifie que l'affichage des graphiques, pas les calculs. Vous pouvez le vérifier en utilisant l'outil de réticule, faites un clic droit sur le graphique puis sélectionnez « Show pinpointer » (Afficher le réticule). Avec une échelle logarithmique, les valeurs faibles sont davantage visibles sur le graphique tandis qu'une échelle linéaire facilite la visualisation de la réaction entière.

**Remarque :** Les tracés d'amplification sont actualisés en temps réel au fur et à mesure que le Rotor-Gene Q MDx acquiert les données pendant un cycle d'exécution. Cette surveillance en temps réel des données permet à l'utilisateur de voir les résultats dès que les courbes affichent une croissance exponentielle. Il est ainsi possible de tirer des conclusions préliminaires et de prendre des décisions pour le cycle d'exécution suivant.

### Modèles d'analyse de quantification

Les modèles d'analyse de quantification permettent à l'utilisateur d'exporter les paramètres de normalisation et de seuil dans un même fichier \*.qut. Ce fichier peut être importé et appliqué à d'autres expériences. Voir la section 8.1 pour plus de détails.





### 7.6.3 Deux courbes étalons

Vous pouvez réaliser une analyse de l'expression génétique relative à l'aide d'un gène de normalisation grâce à 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 définir correctement les échantillons étalons et les réplicats au cours de la configuration des échantillons (voir la section 6.1.4). Il faut tout particulièrement que les échantillons correspondants aient le même nom dans chaque analyse. Dans une réaction multiplexe, dans laquelle les positions de tube du gène d'intérêt et du gène de normalisation sont identiques, une série de définitions des échantillons suffit. Si vous effectuez une analyse relative avec un gène de normalisation dans un seul canal (c.-à-d. les réactions sont analysées dans des tubes distincts utilisant le même fluorophore), vous devez créer 2 pages d'échantillons. La première doit indiquer les positions de tube avec les noms des échantillons pour le gène d'intérêt et les autres positions doivent rester sans nom. La deuxième doit indiquer les positions utilisées pour le gène de normalisation. Le logiciel fait ensuite correspondre les échantillons sur les 2 analyses d'après leurs noms.

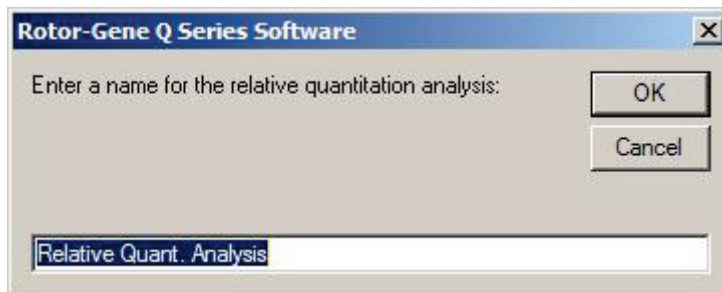
#### **Analyse de l'expression avec la méthode à deux courbes étalons**

Vous pouvez commencer par analyser les données pour chaque gène avec l'analyse de quantification. Autrement, les résultats pour chaque gène seront 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..).

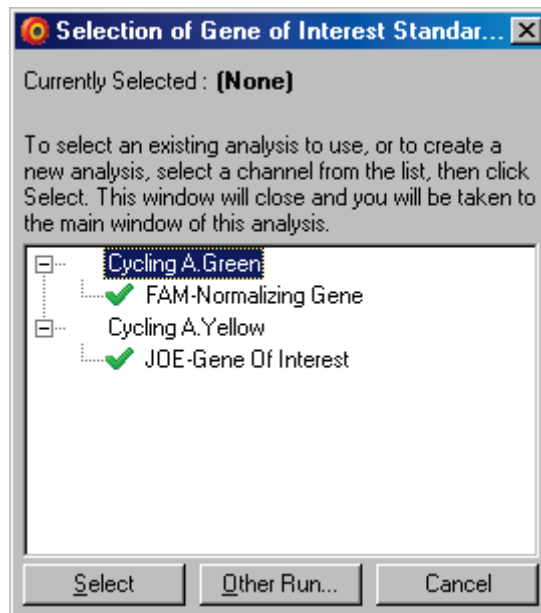
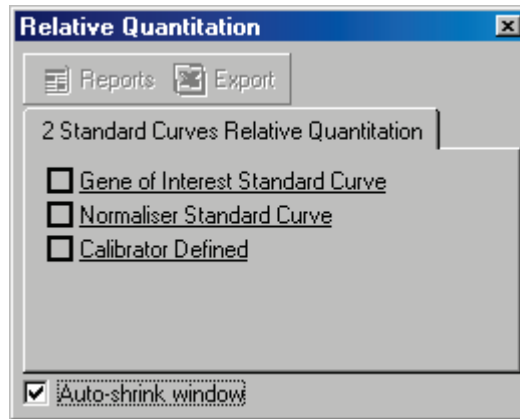


2. Saisissez un nom pour l'analyse.

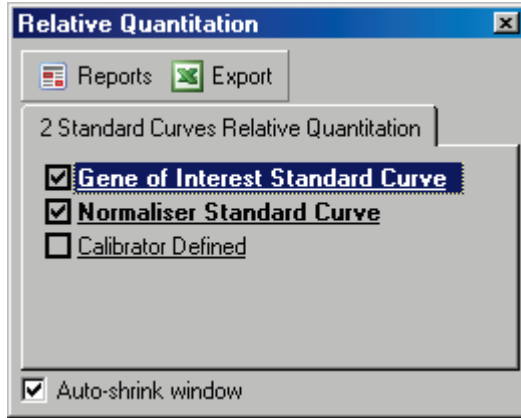


3. Désignez les pages utilisées pour l'analyse du gène de normalisation et l'analyse du gène d'intérêt. Par exemple, en cliquant sur « Gene of Interest Standard Curve » (Courbe étalon du gène d'intérêt), vous ouvrez la fenêtre « Selection of Gene of Interest Standard... » (Sélection de la courbe étalon du gène d'intérêt...). Sélectionnez la page

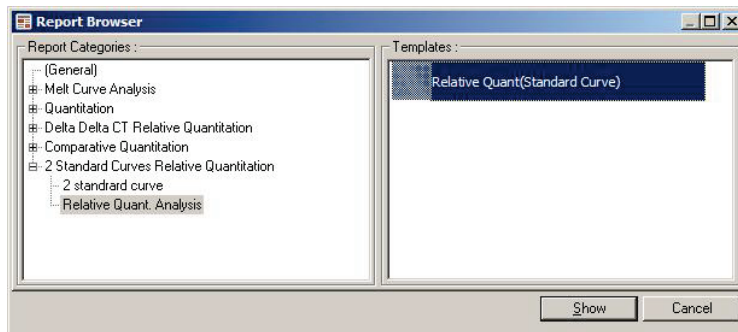
sur laquelle a été quantifié le gène d'intérêt. Répétez la procédure pour le gène de normalisation. Vous pouvez également définir un étalon. Si vous choisissez cette option, une valeur de 1 est attribuée à l'étalon et toutes les autres concentrations d'échantillons sont calculées par rapport à cet échantillon.



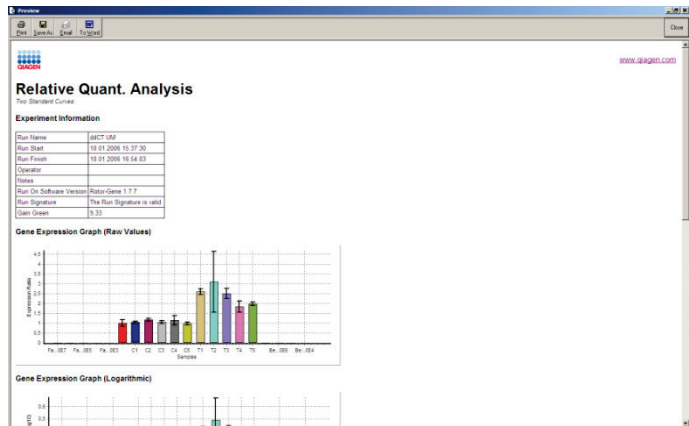
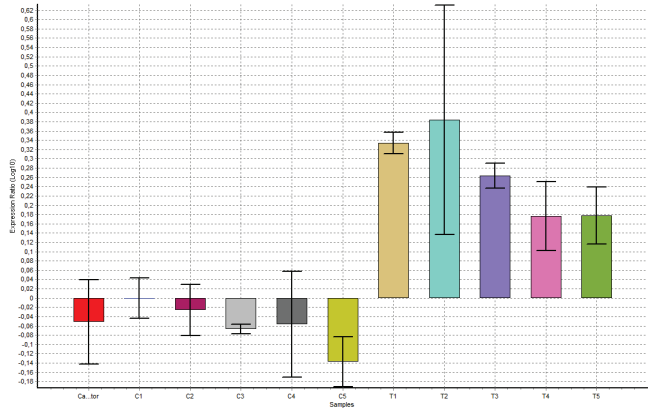
Une fois les sélections effectuées, les options sont cochées comme illustré ci-dessous.



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



- Les concentrations issues des courbes étalons du gène d'intérêt (Conc. GOI) et du gène de normalisation (Conc. norm.) ainsi que la concentration relative (Conc. relative) apparaissent. Les résultats peuvent être enregistrés dans un fichier Word.



Les valeurs Rel. min. et Rel. max. sont générées en calculant l'écart-type du quotient à partir des écarts-types du gène d'intérêt et du gène de normalisation suivant la formule ci-dessous :

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

où :

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

### 7.6.4 Quantification relative delta delta C<sub>T</sub>

La méthode delta delta C<sub>T</sub> permet une analyse de l'expression génétique relative. Elle est décrite par Livak et Schmittgen (2001)\*.

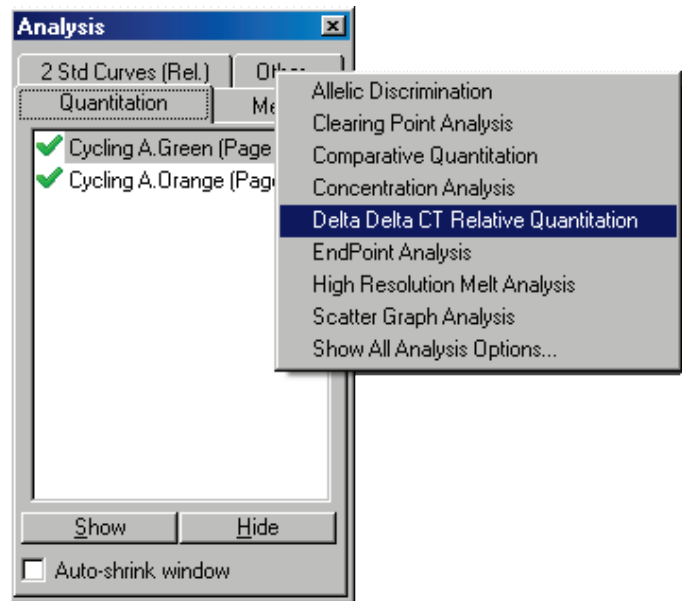
Cette méthode n'implique pas d'inclure des courbes étalons à chaque cycle d'exécution. Chaque échantillon est d'abord normalisé pour le nombre de modèles ajoutés par comparaison avec le gène de normalisation. Ces valeurs normalisées sont ensuite normalisées par rapport au traitement de l'étalon. L'étalon peut être, par exemple, de type sauvage, un contrôle non traité ou un échantillon zéro.

Il est primordial que les efficacités de l'amplification du gène d'intérêt et du gène de normalisation soient identiques et que ce soit validé conformément aux consignes de Livak et Schmittgen.

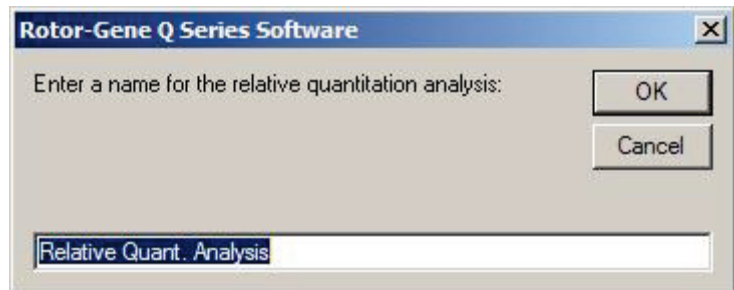
Il faut que les noms des échantillons soient correctement définis dans la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons), avec les mêmes échantillons portant le même nom dans chaque analyse de quantification.

1. Analysez les données à l'aide de « Quantitation » (Quantification). Il est inutile d'analyser une courbe étalon une fois la validation effectuée.
2. Sous l'onglet « Other » (Autre) dans la fenêtre « Analysis » (Analyse), sélectionnez « Delta Delta C<sub>T</sub> Relative

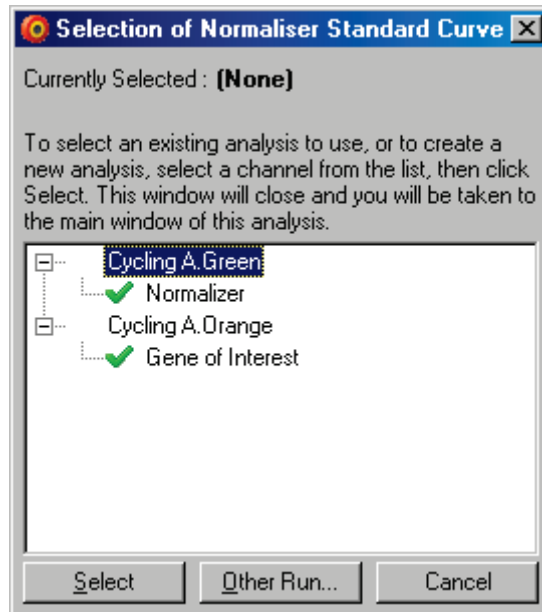
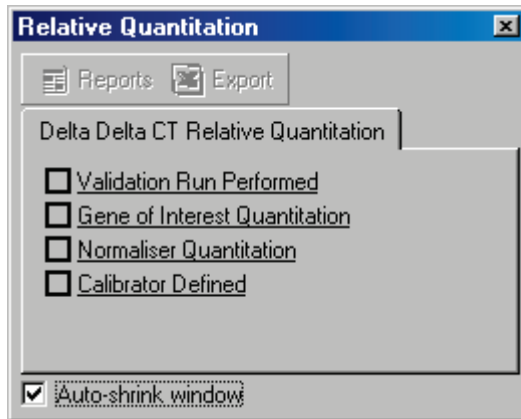
Quantitation » (Quantification relative delta delta CT).  
Sélectionnez « New Analysis » (Nouvelle analyse).



3. Saisissez un nom pour l'analyse.



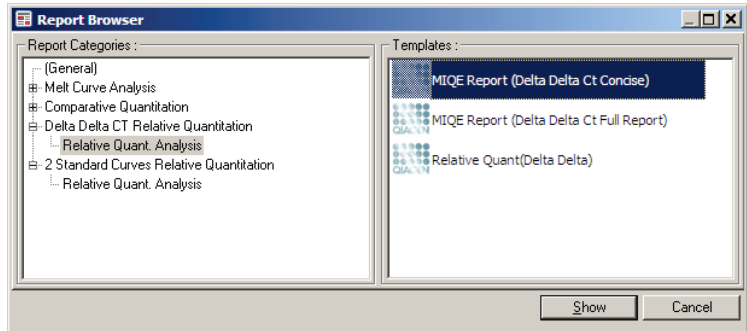
- Vous devez cocher « Validation Run Performed » (Cycle d'exécution de validation effectué) pour procéder à l'analyse. Définissez les pages sur lesquelles le gène d'intérêt et le gène de normalisation ont été analysés.



- Cliquez sur le bouton « Reports » (Rapports) pour afficher le « Report Browser » (Navigateur de rapports). Sélectionnez l'analyse portant le nom qui convient dans la



liste. Cliquez sur le bouton « Show » (Afficher) pour afficher le rapport de quantification relative. L'option « Export » (Exporter) permet d'exporter les résultats dans un nouveau tableur Excel. Si un étalon est inclus, les résultats sont relatifs à l'échantillon étalon, qui a une valeur de 1.



Voici ci-après un exemple de résultats de cette analyse. Les valeurs  $C_T$  pour le gène d'intérêt (CT GOI), les valeurs  $C_T$  pour le gène de normalisation (CT norm.), le delta  $C_T$ , le delta delta  $C_T$  et la concentration relative (Conc. relative) apparaissent. L'expression est relative à l'échantillon étalon, auquel une expression relative de 1 a été attribuée.

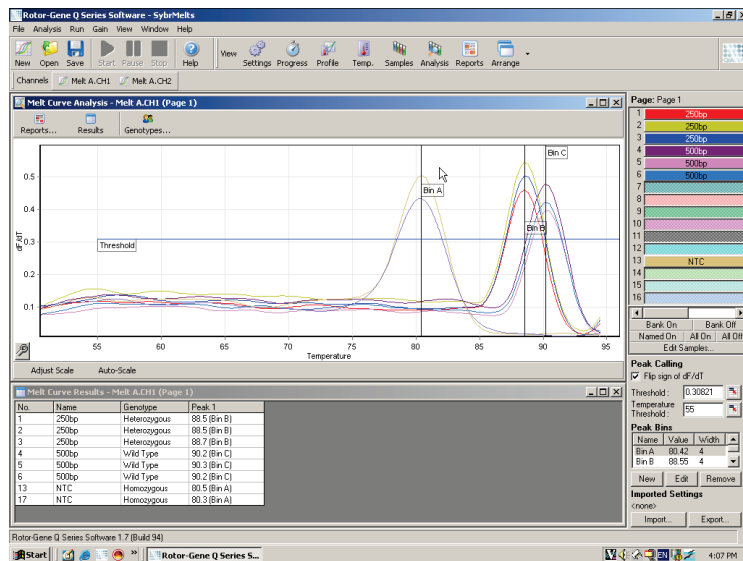
Pour plus d'informations sur la dérivation des calculs de Rel. min. et Rel. max., reportez-vous à Litvak et Schmittgen (2001)\*.

| C | Replicate Name | GOI CT | Norm. CT | Delta CT | Delta Delta CT | Relative Conc. | Rel Min   | Rel Max   | Calibrator |
|---|----------------|--------|----------|----------|----------------|----------------|-----------|-----------|------------|
|   | Dilution 8     |        | 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        | 6.18868   | 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 |            |

## 7.6.5 Analyse de la courbe de fusion


L'analyse de la courbe de fusion permet d'analyser le dérivé des données brutes après un lissage. Cette analyse est communément utilisée pour le génotypage et la discrimination allélique. Les pics de la courbe sont regroupés et tous les pics inférieurs au seuil sont éliminés. Les groupes peuvent ensuite être reliés aux génotypes à l'aide de la commande « Genotypes » (Génotypes).


Au terme d'un cycle d'exécution, pour certains produits une étape de fusion peut être ajoutée afin de visualiser la cinétique de dissociation des produits amplifiés. La température est augmentée de façon linéaire et la fluorescence de chaque échantillon est enregistrée. Voici une analyse de la courbe de fusion.





**Peak Calling**

Flip sign of dF/dT

Threshold : 0.30821 

Temperature Threshold : 55 

**Peak Bins**

| Name  | Value | Width |   |
|-------|-------|-------|---|
| Bin A | 80.42 | 4     |  |
| Bin B | 88.55 | 4     |  |

New Edit Remove

**Imported Settings**

<none>

Import... Export...

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

Avant de définir les pics, assurez-vous que le signe dF/dT est correct pour que la série de données donne des pics positifs.

Définition des pics :


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


Les groupes délimitent la zone dans laquelle les pics doivent se produire. Le logiciel d'analyse de la courbe de fusion rassemble les pics en groupes en fonction des valeurs réelles des pics sur la courbe. Vous pouvez modifier les groupes si nécessaire.

Tout pic situé dans la zone délimitée du groupe est attribué à ce groupe. S'il y a 2 groupes à proximité l'un de l'autre, le pic est attribué au groupe le plus proche.

**Remarque** : Les groupes ne doivent pas être positionnés visuellement pour estimer les positions des pics. Définissez les groupes dans la zone d'intérêt approximative, puis utilisez les valeurs réelles rapportées dans le tableau de résultats pour un résultat plus précis.

**Peak Bins (Groupes de pics)** : Pour définir un groupe, cliquez sur le bouton « New Bin » (Nouveau groupe) puis cliquez sur le graphique en maintenant le bouton enfoncé afin de définir le centre du groupe. Pour ajouter un autre groupe, répétez le processus. Utilisez le bouton « Remove » (Supprimer) pour supprimer des groupes.

**Threshold (Seuil)** : Pour définir le seuil (axe des ordonnées), cliquez sur l'icône  puis cliquez sur le graphique en maintenant le bouton enfoncé et faites glisser la ligne de seuil jusqu'au niveau souhaité.

**Temperature Threshold (Seuil de température)** : Pour définir un seuil de température (axe des abscisses), cliquez sur l'icône  puis cliquez sur le graphique en maintenant le bouton enfoncé et faites glisser la ligne de seuil vers la droite. Cela supprime la ligne de seuil pour les températures inférieures.

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

### Rapports

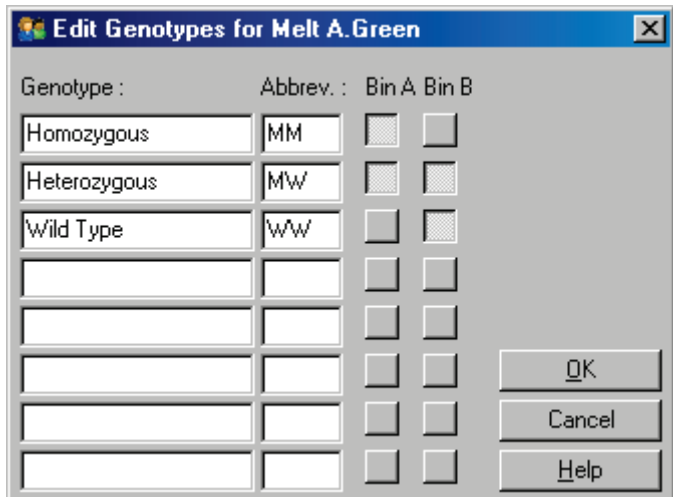
Permet d'ouvrir le « Report Browser » (Navigateur de rapports) dans lequel vous pouvez choisir un rapport à visualiser. Vous pouvez générer un rapport d'après le canal sélectionné ou un rapport de génotypage multicanaux.

## 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.



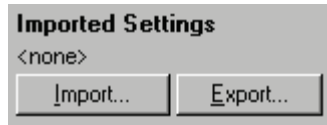
Cette fenêtre permet d'attribuer les génotypes selon l'incidence des pics dans les groupes. La configuration des génotypes par défaut est illustrée sur la capture d'écran, avec les échantillons hétérozygotes qui présentent 2 pics, les échantillons homozygotes un pic dans le premier groupe et les échantillons de type sauvage un pic dans le deuxième groupe. Vous pouvez saisir une abréviation dans le champ en regard du nom de chaque génotype. Ces abréviations apparaissent lorsque vous imprimez des rapports de génotypage multicanaux, ainsi les résultats de plusieurs canaux sont plus faciles à lire.

Pour une analyse multiplexe, vous devez configurer les génotypes dans chaque canal. Si, par exemple, vous effectuez une analyse de FRET supprimé sur double canal, où il doit y avoir un génotype de type sauvage et hétérozygote dans chaque canal, les paramètres des groupes doivent être définis

pour chacun des canaux. Les résultats sont ensuite présentés dans un rapport multiple.

### 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 de groupes dans un même fichier \*.met. Ce fichier peut être importé et appliqué à d'autres expériences. Voir la section 8.1 pour plus de détails.



### 7.6.6 Quantification comparative

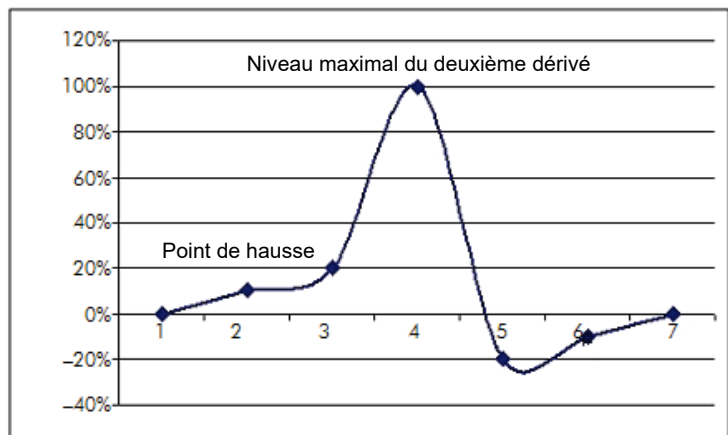
La quantification comparative permet de comparer l'expression relative des échantillons par rapport à un échantillon de contrôle dans un cycle d'exécution dépourvu de courbe étalon. Elle est fréquemment utilisée pour l'analyse de micropuce à ADN. Warton et ses collaborateurs (2004)\* ont donné un exemple de cette technique.

1. Pour procéder à 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 dans le menu déroulant à droite de l'écran sous le bouton bascule.
3. Les résultats sont automatiquement calculés et affichés dans la fenêtre « Comparative Quantitation Results » (Résultats de la quantification comparative) sous le graphique.

\* Lors de la manipulation de produits chimiques, portez toujours un sarrau 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 du produit.

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

Ce graphique montre un deuxième dérivé d'un tracé d'amplification, indiquant les positions relatives du pic du deuxième dérivé et du point de hausse.



La colonne « Amplification » indique l'efficacité de l'échantillon. Une réaction efficace à 100 % donnerait une valeur d'amplification de 2 pour chaque échantillon, ce qui impliquerait le doublement de l'amplicon à chaque cycle. Dans les données brutes, le signal doit doubler dans la phase exponentielle. Par exemple, si le signal était de 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 réalisée pour produire la valeur d'amplification affichée à droite de l'écran sous le bouton bascule. Plus la variation entre les valeurs d'amplification estimées de chaque échantillon est

importante, plus l'intervalle de confiance sera important (il est 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 l'amplification réelle des échantillons reste dans cette plage (1 écart-type). En doublant l'intervalle  $\pm$ , on obtient un intervalle de confiance de 95,4 % pour un N important.

### Réplikat d'étalon

Comme pour la méthode delta delta  $C_T$ , un échantillon étalon est nécessaire et les mesures sont effectuées par rapport à cet échantillon. Les répliquats de l'étalon peuvent être analysés puisque, si plusieurs positions d'échantillon ont le même nom, la moyenne des points de hausse de ces échantillons sera utilisée. Pour utiliser correctement cette fonctionnalité, veillez à ce que les répliquats aient des noms identiques.



L'amplification moyenne est utilisée pour calculer l'expression. Par exemple, un échantillon ayant une valeur d'amplification faible mettra plus de temps à atteindre un certain nombre absolu de copies qu'un échantillon ayant une valeur d'amplification plus importante. 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 étalon 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 de  $\pm$  représente l'écart-type de l'amplification moyenne, après suppression des valeurs d'amplification aberrantes. Si cette valeur est importante, il peut y avoir une erreur importante 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 au regard des pics du deuxième dérivé.
2. L'augmentation 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 valeurs d'amplification aberrantes sont supprimées, elles correspondent au bruit dans la fluorescence de bruit de fond.
4. On fait la moyenne des amplifications restantes. Il s'agit de l'amplification moyenne.
5. Le point de hausse moyen est calculé pour chaque réplicat d'étalon.
6. La concentration relative pour un échantillon est calculée comme  $\text{Amplification}^{\wedge}(\text{Hausse étalon} - \text{Hausse échantillon})$ .
7. Le résultat apparaît en notation scientifique dans la colonne « Rep. Conc. » (Conc. rép.) dans la fenêtre « Comparative Quantitation Results » (Résultats de la quantification comparative).

### 7.6.7 Discrimination allélique

La discrimination allélique utilise des données cinétiques en temps réel issues de 2 ou plusieurs canaux pour faire le génotypage des échantillons. Pour procéder à cette analyse, sélectionnez « Other » (Autre) puis « Allelic Discrimination » (Discrimination allélique) dans la fenêtre « Analysis » (Analyse). Lorsque vous réalisez une discrimination allélique, il ne suffit pas de double-cliquer sur un canal pour l'analyser car cette analyse est effectuée à l'aide de plusieurs canaux en même temps. Pour procéder à cette analyse, maintenez la touche Ctrl enfoncée et cliquez sur chaque canal à analyser pour le mettre en surbrillance 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, avec une coche en regard. Cela

indique qu'ils seront tous utilisés dans une analyse. Pour retirer 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 inclus à une autre analyse de discrimination allélique. Vous ne pouvez utiliser un canal que dans une seule analyse à la fois.

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

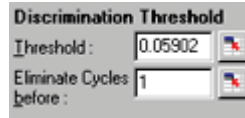
Results  
(Résultats) : Permet d'afficher la fenêtre « Allelic Discrimination Results » (Résultats de la discrimination allélique). Cette fenêtre s'ouvre par défaut lorsque l'analyse est affichée pour la première fois.

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

- Tube dynamique (Normalisation du tube dynamique)
- Pente correcte (Correction de la pente du bruit)
- Ignore first (Ignorer premier) x cycles (Correction du bruit dans les cycles initiaux)
- Ajustement du point de hausse

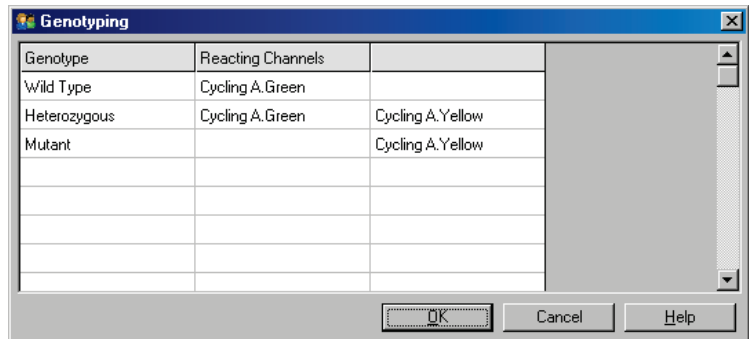
Pour plus de détails, voir page 7-30.

Discrimination Threshold  
(Seuil de discrimination) : Saisissez les valeurs dans ces zones de texte pour positionner le seuil de discrimination. Toutes les courbes franchissant 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 avoir un aperçu visuel de ces valeurs.



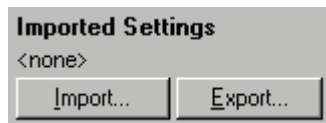
Génotypes : Permet d'ouvrir la fenêtre « Genotyping » (Génotypage), qui est utilisée pour définir le génotype détecté dans chaque canal. Cette fenêtre permet d'attribuer les génotypes aux canaux pour l'analyse de discrimination allélique.

Dans l'exemple ci-dessous, un échantillon est hétérozygote si les valeurs dans les canaux Cycling A.Green (Cycle A. vert) et Cycling A.Yellow (Cycle A. jaune) franchissent 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. Voir la section 8.1 pour plus de détails.



### 7.6.8 Analyse du graphique à points

L'analyse du graphique à points permet le génotypage d'après l'expression relative des tracés d'amplification sur 2 canaux. Contrairement à la discrimination allélique, le génotype est déterminé en fonction des régions définies d'après le graphique à points et non d'après un unique seuil. Pour procéder à cette analyse, sélectionnez « Other » (Autre) puis « Scatter Graph Analysis » (Analyse du graphique à points) dans la fenêtre « Analysis » (Analyse).

Lorsque vous réalisez une analyse du graphique à points, il ne suffit pas de double-cliquer sur un canal pour l'analyser car cette analyse est effectuée à l'aide de 2 canaux en même temps. Pour procéder à 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, avec une coche en regard. Cela indique qu'ils seront tous utilisés dans une analyse. Pour retirer 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 inclus à une autre analyse du graphique à points. Vous ne pouvez utiliser un canal que dans une seule analyse à la fois.

**Reports (Rapports) :** Permet d'ouvrir le rapport « Scatter Analysis » (Analyse du graphique à points) pour le consulter.

**Results (Résultats) :** Permet d'afficher la fenêtre « Scatter Analysis Results » (Résultats de l'analyse du graphique à points). Le génotype pour chaque échantillon est déterminé par les régions définies par l'utilisateur sur le graphique à points.

Options de normalisation :

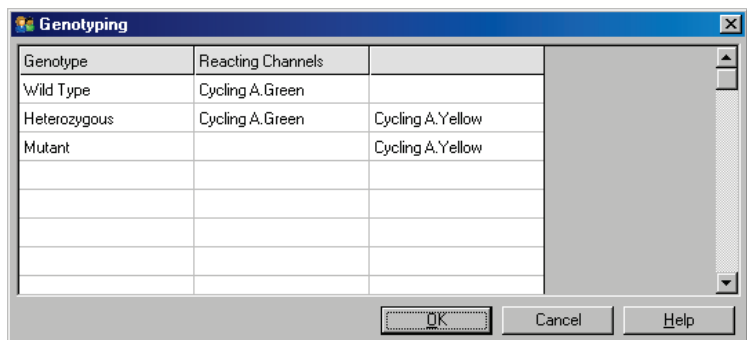
Diverses options sont proposées pour optimiser la normalisation des tracés des données brutes :

- Tube dynamique (Normalisation du tube dynamique)
- Pente correcte (Correction de la pente du bruit)
- Ignore first (Ignorer premier) x cycles (Correction du bruit dans les cycles initiaux)
- Ajustement du point de hausse

Pour plus de détails, voir page 7-30.

Génotypes... :

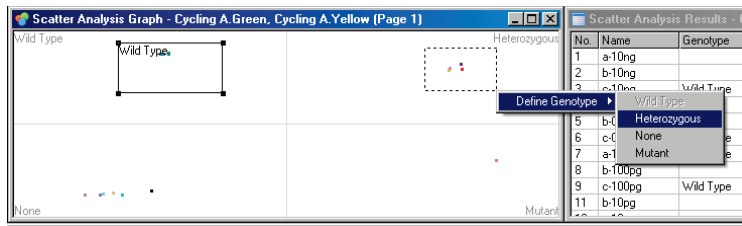
Permet d'ouvrir la fenêtre « Genotyping » (Génotypage), qui est utilisée pour définir le génotype détecté dans chaque canal. Dans cette fenêtre, les génotypes peuvent être attribués en fonction des canaux dans lesquels un échantillon réagit. Les canaux sélectionnés seront utilisés pour marquer les angles du graphique à points et guideront l'utilisateur jusqu'à la zone générale du graphique dans laquelle les régions doivent être définies.



Graphique  
à points :

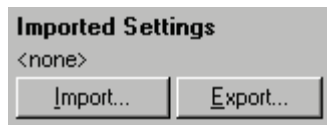
Le graphique à points affiche l'expression relative des 2 canaux sélectionnés. L'affichage est normalisé pour montrer les multiples augmentations dans chaque canal et log transformé pour accentuer les différences d'expression entre les échantillons.

Pour procéder au génotypage, l'utilisateur définit des régions en cliquant sur une sélection et en la faisant glisser sur le graphique. La sélection peut ensuite être marquée en fonction des génotypes configurés dans la fenêtre « Genotyping » (Génotypage).



Modèles  
d'analyse du  
graphique  
à points :

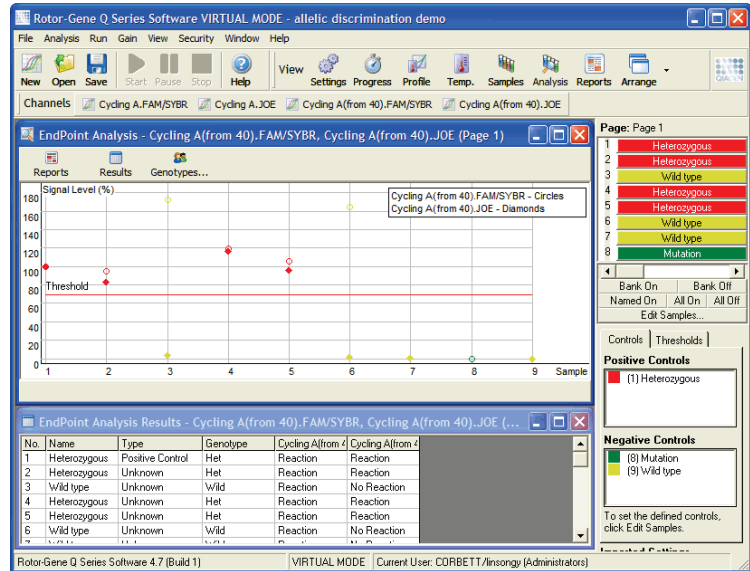
Les modèles d'analyse du graphique à points permettent d'exporter les paramètres de génotype et de région dans un même fichier \*.sct. Ce fichier peut être importé et appliqué à d'autres expériences. Voir la section 8.1 pour plus de détails.



## 7.6.9 Analyse finale

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

L'analyse finale est illustrée sur la capture d'écran ci-dessous.



L'analyse finale est similaire à la discrimination allélique car les résultats sont qualitatifs et les noms peuvent être attribués à certaines permutations de réactions sur différents canaux. Toutefois, une seule valeur apparaît dans l'analyse finale, contrairement à la discrimination allélique, qui utilise une valeur cycle par cycle pour chaque échantillon. Cela signifie 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 du niveau de signal comme seuil.

### Termes utilisés dans une analyse finale

Certains des termes utilisés dans une analyse finale sont expliqués ci-dessous.

Contrôle positif : Échantillon connu pour amplifier.

Contrôle négatif : Échantillon connu pour ne pas amplifier.  
Il représente le signal de bruit de fond type.

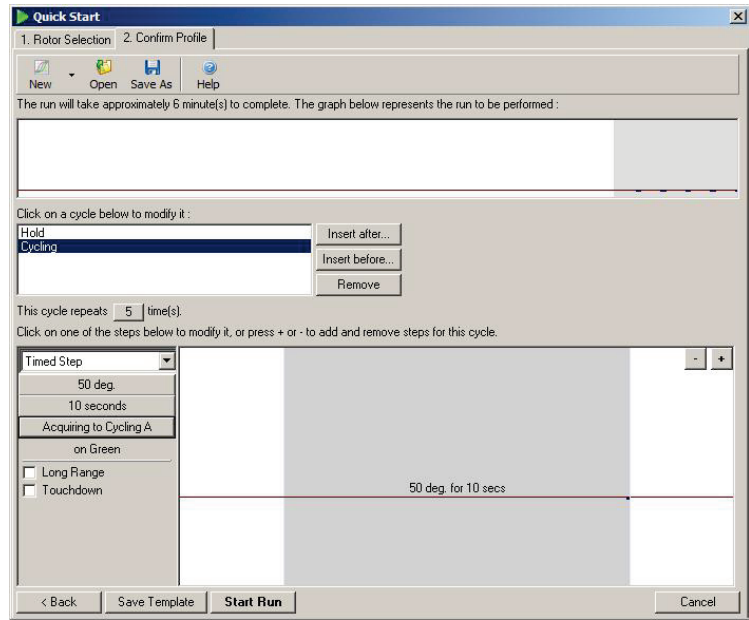
Seuil : Le seuil est un niveau de signal au-delà duquel un échantillon est dit positif (amplifié). L'utilisateur doit ajuster ce paramètre pour chaque cycle d'exécution.

Niveau de signal : Pourcentage du signal de fluorescence, normalisé de sorte que le signal maximal des contrôles positifs soit de 100 % et le signal minimal des contrôles négatifs de 0 %.

Génotype : Interprétation de différentes permutations de réactions sur différents canaux. Par exemple, le génotype « Heterozygous » (Hétérozygote) peut être attribué à des échantillons qui réagissent dans les deux canaux, vert et jaune. Le génotype peut aussi permettre de rapporter les résultats de réactions avec des contrôles internes. Par exemple, les résultats peuvent être rapportés comme « inhibited » (inhibés), « positive » (positifs) ou « negative » (négatifs), selon qu'une réaction a été observée dans certains canaux ou pas.



## Configuration du profil

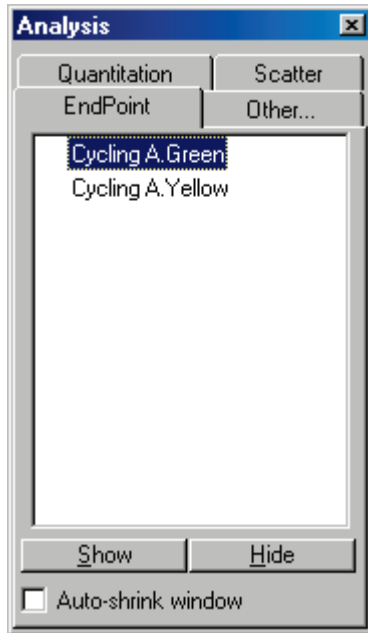


Pour procéder à une analyse finale, effectuez un profil avec un maintien à 50 °C pendant plusieurs minutes puis un cycle à 1 étape (50 °C pendant 10 secondes), en faisant l'acquisition sur le canal requis. Définissez le nombre de répétitions sur 5, comme indiqué ci-dessus. Ces durées ne sont qu'une indication, elles peuvent varier pour votre application. Plus il y a de répétitions dans le profil, plus il y a d'informations pour procéder à l'analyse. L'analyse fait automatiquement la moyenne de toutes les valeurs pour obtenir une seule valeur pour chaque échantillon. Aucun nombre de répétitions spécifique n'est requis. Sauf à vouloir un niveau de précision particulièrement élevé, 5 répétitions sont généralement suffisantes.

### Analyse

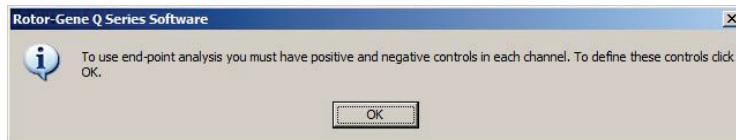
Vous pouvez procéder à une analyse finale sur plusieurs canaux en même temps. Pour créer une nouvelle analyse, cliquez sur l'onglet « EndPoint » (Finale), sélectionnez les

canaux en passant dessus le pointeur de la souris puis cliquez sur « Show » (Afficher).



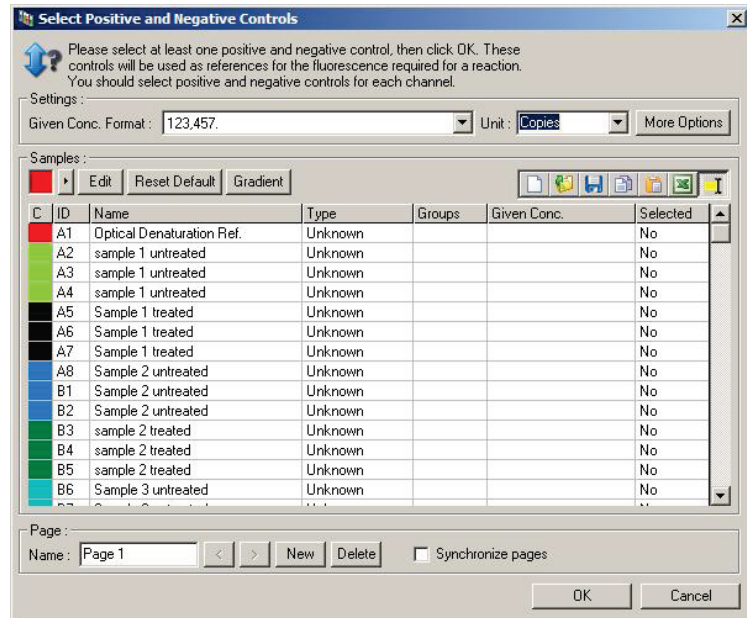
### Définir les contrôles

Lorsque vous ouvrez une analyse finale pour la première fois, le message suivant apparaît si les contrôles positifs et négatifs n'ont pas été définis.



Cliquez sur « OK ». La fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons) apparaît, elle vous permet de définir les 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 qui convient dans le menu déroulant.

**Remarque :** Pour pouvoir procéder à l'analyse, vous devez définir les contrôles sur « on » (activé) à l'aide du bouton bascule à droite de la fenêtre principale.



Cet écran fonctionne comme la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons) (Section 6.1.4).

## Normalisation

La normalisation des données de l'analyse finale permet de restreindre tous les niveaux de signal à la plage 0–100 %. Vous devez sélectionner au moins un contrôle positif et un négatif, ou davantage si vous analysez plusieurs canaux et que les étalons ne sont pas multiplexés. Vous devez analyser plus d'un contrôle positif et un négatif s'il y a un risque qu'un contrôle positif puisse ne pas amplifier.

1. Pour chaque canal, tous les contrôles positifs sont analysés et celui dont la fluorescence est maximale est défini sur 100 %. Cela signifie que si les contrôles dupliqués sont analysés, un contrôle positif peut échouer sans affecter le cycle d'exécution.

2. Tous les contrôles négatifs sont analysés et celui dont le niveau de fluorescence est minimal est défini sur 0 %.
3. Les valeurs de fluorescence brutes des échantillons restants sont mises à l'échelle par rapport au contrôle positif le plus élevé et au contrôle négatif le plus faible.

Par exemple :

| Échantillon | Type             | Fluorescence |
|-------------|------------------|--------------|
| 1           | Contrôle positif | 56,3         |
| 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 réussi puisque les 2 contrôles positifs et les 2 contrôles négatifs sont proches l'un de l'autre et se trouvent hors des valeurs de fluorescence des échantillons.

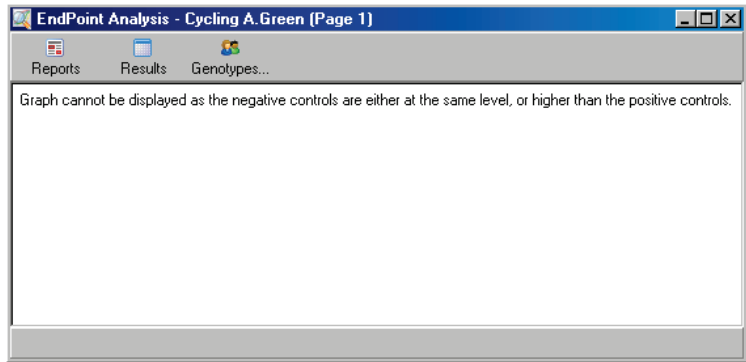
Les valeurs normalisées sont :

| Échantillon | Type             | Expression (%) |
|-------------|------------------|----------------|
| 1           | Contrôle positif | 100,0          |
| 2           | Contrôle positif | 93,7           |
| 3           | Contrôle négatif | 0,4            |
| 4           | Contrôle négatif | 0,0            |
| 5           | Échantillon      | 84,2           |
| 6           | Échantillon      | 4,0            |

L'échantillon 1 était le contrôle positif avec la fluorescence maximale, 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 donc 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 %. Pour un résultat supérieur à 100 %, on peut supposer que l'échantillon est exprimé plus fortement que les contrôles positifs. Pour un résultat inférieur à 0 %, on peut supposer plus probable que les contrôles négatifs aient amplifié plutôt que l'échantillon. Dans la mesure où cette analyse est qualitative, de tels résultats sont hors de propos.

Si les contrôles négatifs affichent une fluorescence supérieure aux contrôles positifs, les échantillons ont été configurés de façon incorrecte et le message suivant apparaît.



### Normalisation dans plusieurs canaux

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

Une seule définition d'échantillon par position de tube est indiquée dans la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons), mais la normalisation est effectuée indépendamment pour chaque canal.

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

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

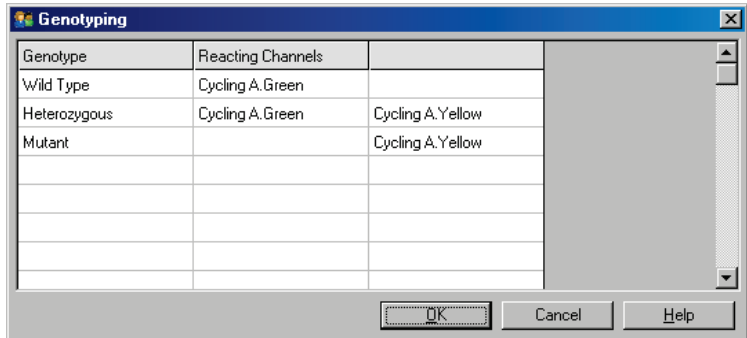
### **Seuil**

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

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

## Génotypes

Cette option permet d'ouvrir la fenêtre « Genotyping » (Génotypage), qui est utilisée pour définir le génotype détecté dans chaque canal.



Cette fenêtre permet d'attribuer les génotypes aux canaux. Dans l'exemple ci-dessus, un échantillon est hétérozygote si les valeurs dans les canaux Cycling A.Green (Cycle A. vert) et Cycling A.Yellow (Cycle A. jaune) franchissent le seuil.

## Modèles d'analyse finale

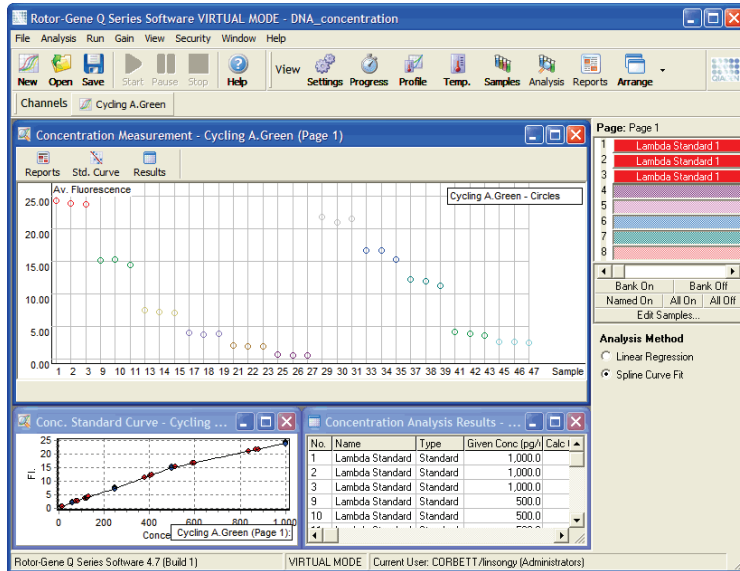
Les modèles d'analyse finale permettent à l'utilisateur d'exporter les paramètres de génotype et de seuil dans un même fichier \*.ent. Ce fichier peut être importé et appliqué à d'autres expériences. Voir la section 8.1 pour plus de détails.



## 7.6.10 Analyse de concentration

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

La capture d'écran ci-dessous montre cette analyse.



## Préparation d'un cycle d'exécution

Pour procéder à une analyse de concentration, commencez par préparer les étalons et les échantillons de fluorescence, idéalement en triple.

## Préparation des étalons

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

L'ADN utilisé pour la courbe étalon doit être de type semblable 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 minimum 3 étalons (avec réplicats). Il est important de souligner que les étalons



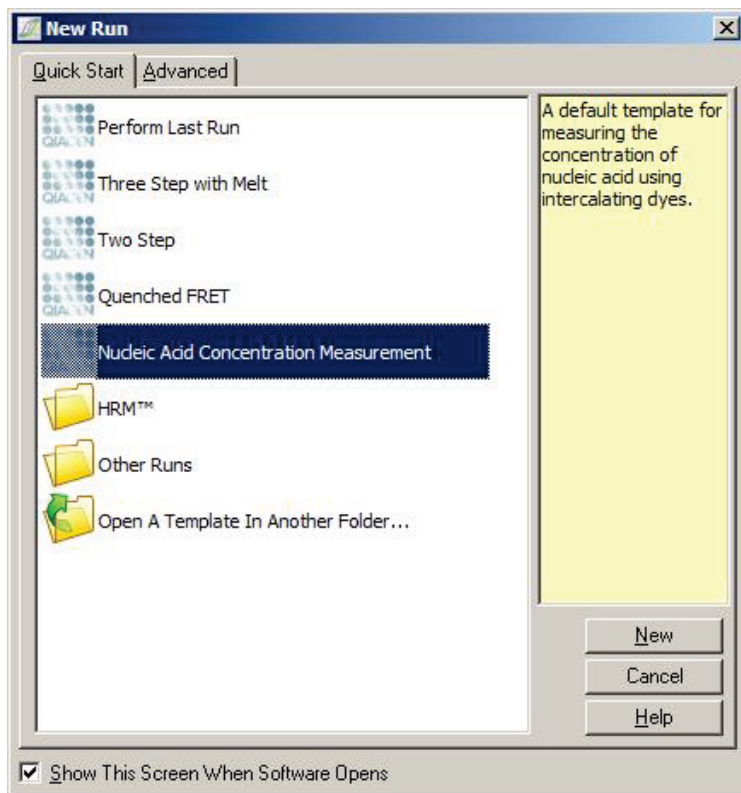
d'ADN utilisés dans la détection par fluorescence sont uniquement linéaires dans la plage 1–100 ng/ $\mu$ l. Dans cette plage, si la concentration en ADN est réduite de moitié, la valeur de fluorescence l'est également. Les intervalles de confiance pour une concentration hors de cette plage sont très larges compte tenu de la non-linéarité du produit.

### **Type d'ADN mesuré**

Des différences ont été observées dans la mesure de diverses formes d'ADN (p. ex. ADN génomique comparé à ADN plasmidique). Vous devez donc mesurer uniquement des types d'ADN similaires en même temps, et vous devez éviter d'utiliser de 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 en acides nucléiques) dans l'assistant de démarrage rapide.



**Remarque** : Veillez à analyser un contrôle positif, comme un étalon à forte concentration, dans la position de tube 1. Sans un contrôle positif, le logiciel est incapable d'optimiser les paramètres de gain pour une sensibilité maximale. Vous verrez une invite en ce sens avant chaque cycle d'exécution.

### Analyse

L'analyse de concentration relie le niveau de fluorescence à une valeur de concentration. Deux modèles d'analyse existent. L'analyse optimale à choisir dépend du produit et de l'application.

La « Linear Regression » (Régression linéaire) permet d'analyser des données en supposant une relation linéaire et en estimant les valeurs inconnues d'après un modèle linéaire généré. Elle détermine l'erreur de mesure en examinant l'écart

des valeurs par rapport au modèle linéaire. Si les valeurs de concentration sont linéaires, il s'agit de l'analyse la plus adaptée car elle fournit une analyse statistique de variation (ANOVA) à l'utilisateur.

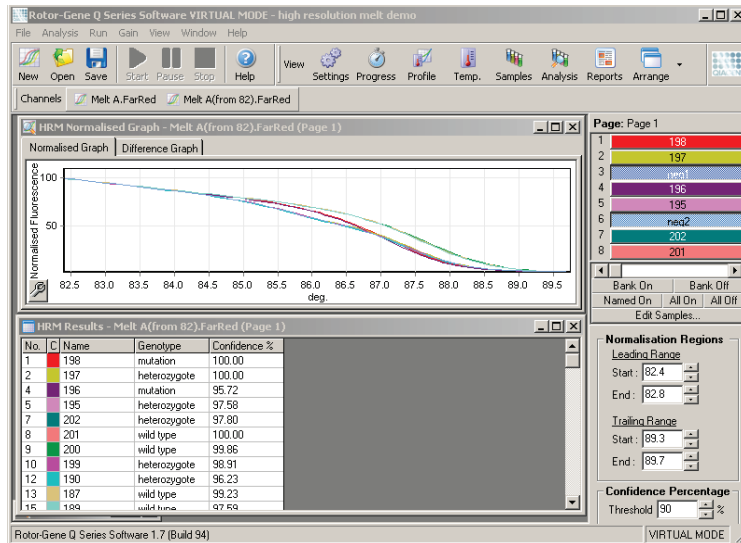
Le « Spline Curve Fit » (Ajustement de la courbe spline) suppose uniquement que les valeurs de concentration augmentent avec la fluorescence. Bien que cette approche rende les estimations des données non linéaires plus précises, elle ne peut pas fournir d'ANOVA car elle n'utilise pas un modèle linéaire.

### **7.6.11 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 les applications de génotypage, telles que l'analyse des mutations génétiques ou les polymorphismes mononucléotidiques (Single nucleotide polymorphism, SNP), et dans les applications épigénétiques pour l'analyse du statut de méthylation de l'ADN. L'analyse HRM donne des résultats de précision et permet d'économiser les sondes et les étiquettes par rapport à d'autres méthodes.

Pour procéder à l'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 finals de chaque échantillon soient identiques à la moyenne.

## Interface utilisateur d'analyse



L'appel automatique des échantillons se fait en cliquant sur « Genotypes » (Génotypes). Saisissez le nom du génotype suivi du numéro de l'échantillon, qui est utilisé comme contrôle positif pour appeler automatiquement les échantillons inconnus.

HRM Genotypes

| Genotype     | Control |
|--------------|---------|
| mutation     | 198     |
| wild type    | 201     |
| heterozygote | 197     |
|              |         |
|              |         |
|              |         |

Clear OK Cancel Help

Pour plus de détails sur l'analyse HRM, voir la section 11.

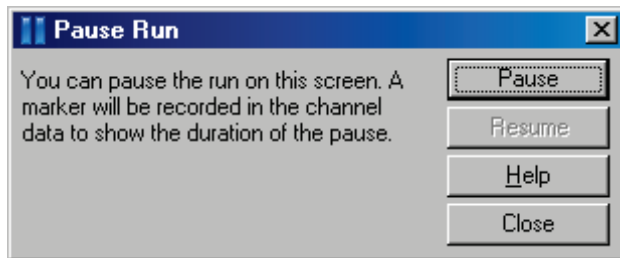
## 7.7 Menu de cycle d'exécution

### 7.7.1 Démarrer le cycle d'exécution

Cette option permet de démarrer le profil de température défini avec les paramètres de gain actuels. Avant que le cycle d'exécution démarre, la fenêtre « Profile Run Confirmation » (Confirmation cycle d'exécution de profil) apparaît. Une représentation graphique du profil de température ainsi que les paramètres de gain pour chaque canal apparaissent.

### 7.7.2 Suspendre le cycle d'exécution

Cette option permet de suspendre un cycle d'exécution puis de le reprendre. Ces actions peuvent avoir un impact non négligeable sur les résultats d'un cycle d'exécution. Ainsi, un repère dans les données indiquera que le cycle d'exécution a été suspendu et précisera la durée de la pause. Un message apparaît également sous l'onglet des messages dans la fenêtre « Run Settings » (Paramètres de cycle d'exécution) (voir page 7-75).



#### AVERTISSEMENT



#### Surface chaude

[W18]

Lorsqu'un cycle d'exécution est suspendu, 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 quelconque de l'instrument.

### 7.7.3 Arrêter le cycle d'exécution

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

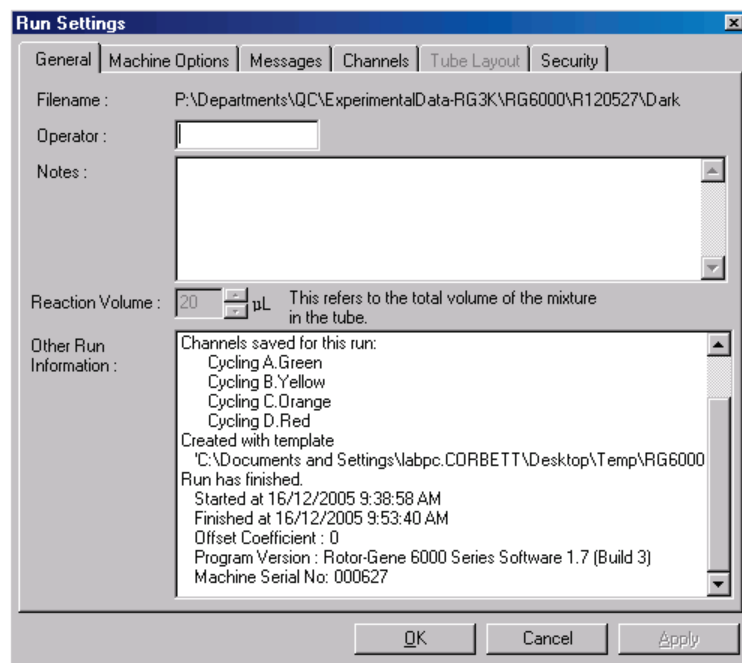
## 7.8 Menu d'affichage

### 7.8.1 Paramètres de cycle d'exécution

#### Général

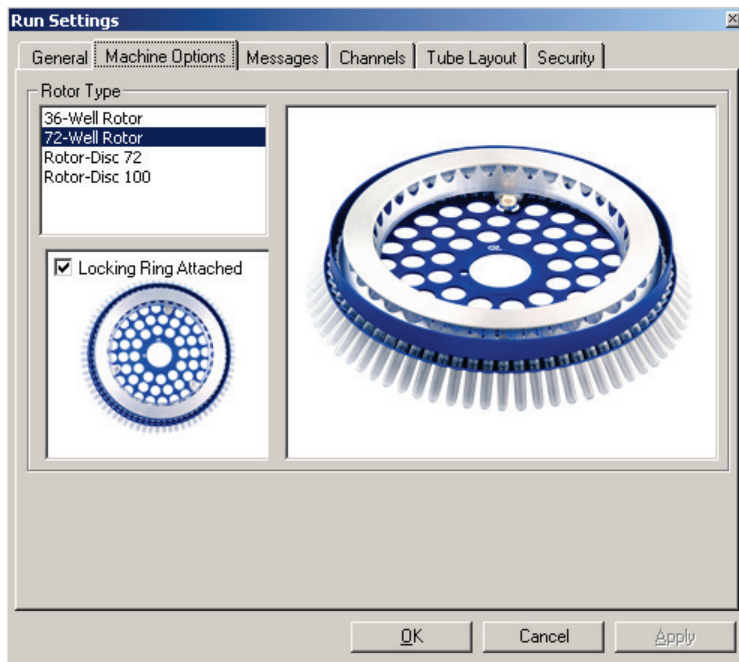
Cette fenêtre permet de configurer les informations sur le cycle d'exécution, le nom de fichier du cycle d'exécution, la date d'analyse, l'opérateur et toutes remarques pertinentes.

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 : machine utilisée, paramètres de gain, nombre de canaux, heure de début et de fin.



## Options de la machine

Cet onglet affiche les paramètres destinés à la configuration du Rotor-Gene Q MDx.



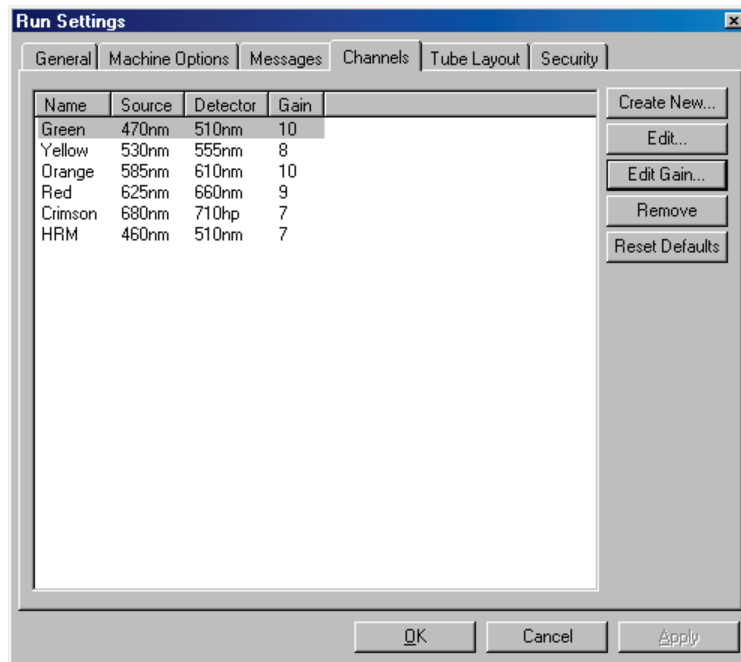
Le rotor défini doit être celui qui est installé dans le Rotor-Gene Q MDx. Si vous ouvrez un cycle d'exécution existant, ce paramètre concerne le rotor qui était installé dans la machine au moment dudit cycle.

## Messages

Cet onglet affiche des messages indiquant si l'utilisateur a apporté des modifications, par exemple en suspendant la machine ou en sautant des cycles au cours d'un cycle d'exécution. Il affiche également les avertissements reçus au cours du cycle d'exécution. Vous devez vérifier cet onglet si les résultats ne sont pas comme prévu.

### Canaux

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



Name (Nom) : Nom du canal.

Source : Indique la longueur d'onde d'excitation de la DEL source.

Detector (Détecteur) : Indique la longueur d'onde de détection et le type de filtre (nm = passe-bande, hp = passe-haut).



|  |  |
|--|--|
| Gain :                                   | Indique le gain pour ce canal en particulier.  |
| Create New...<br>(Créer<br>nouveau...) : | Cette fonctionnalité permet la création de nouveaux canaux. Cliquez sur « Create New... » (Créer nouveau...) pour ouvrir une fenêtre qui vous demande un nouveau nom, une nouvelle source et un nouveau filtre de détection. Vous pouvez choisir les filtres à l'aide du menu déroulant en regard de chaque fenêtre. |
| Channels<br>(Canaux) :                   | Les canaux vert, jaune, orange et rouge sont les configurations standard pour une détection multiplexe à 4 canaux.   |

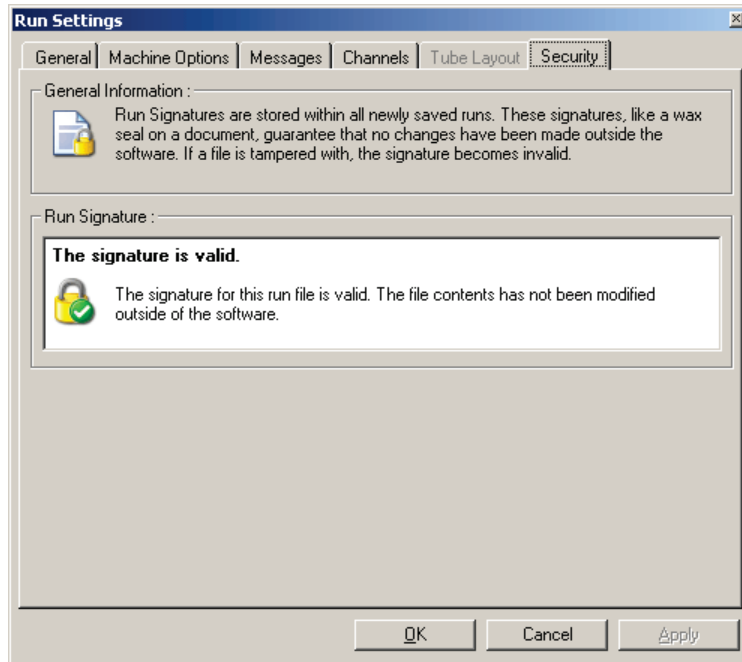
### **Disposition des tubes**

Si vous utilisez un 72-Well Rotor, vous pouvez disposer les échantillons pour correspondre au mieux à l'étiquetage sur un bloc de 9 × 8. Par défaut, l'onglet de disposition des tubes permet aux échantillons d'être étiquetés dans l'ordre (1, 2, 3...). Autrement dit, les échantillons sont étiquetés dans l'ordre dans lequel ils sont placés dans le Rotor-Gene Q MDx. Les échantillons peuvent aussi être étiquetés 1A, 1B, 1C, etc. Cette option peut être utile si vous avez installé les échantillons avec une pipette multicanaux.

### **Sécurité**

L'onglet de sécurité affiche des informations sur la Run Signature (Signature des cycles d'exécution). La signature du cycle d'exécution est une clé définitive qui est renouvelée chaque fois que le fichier est modifié. Si une section du fichier **\*.rex** est modifiée en dehors du logiciel, la signature et le fichier ne correspondent plus. La vérification de la signature permet de confirmer que les données brutes n'ont pas été modifiées en dehors de l'application, que le profil n'a pas été altéré et que le graphique de température est valide. La signature protège aussi contre la corruption, comme les erreurs du système de fichiers.

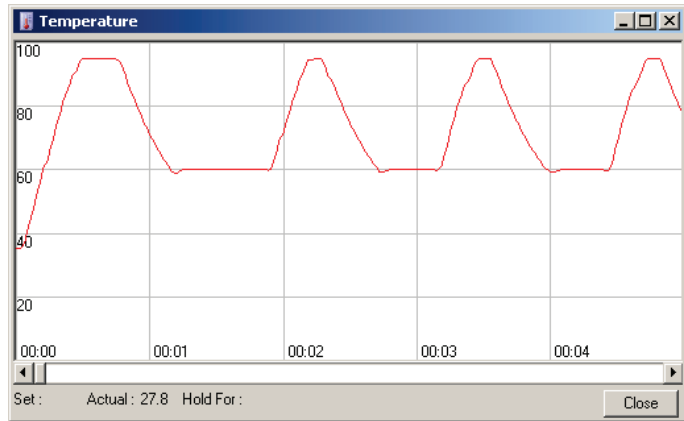
**Remarque :** Si les fichiers \*.rex sont envoyés par courriel, le processus de chiffrement peut invalider la signature. Pour éviter cela, zippez le fichier avant de l'envoyer.



### 7.8.2 Graphique de température

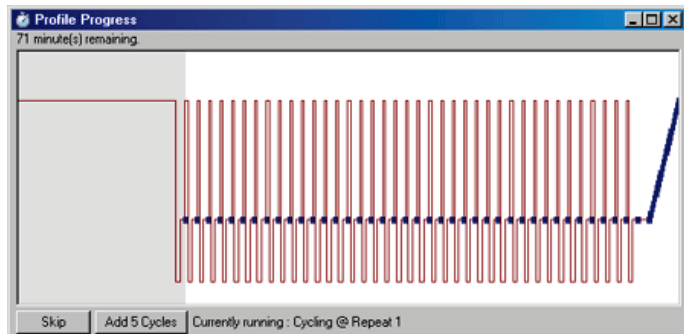
Sélectionnez « Temperature Graph » (Graphique de température) dans le menu « View » (Affichage) ou cliquez sur le bouton « Temp. » pour ouvrir la fenêtre « Temperature » (Température). Le graphique affiche l'évolution des températures définies pendant le cycle. Il ne montre pas une mesure de la température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

Utilisez la barre de défilement pour faire défiler la fenêtre « Temperature » (Température).



### 7.8.3 Progression du profil

Sélectionnez « Profile Progress » (Progression du profil) dans le menu « View » (Affichage) 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 procédez à un cycle d'exécution, la partie ombrée de la fenêtre indique le nombre de cycles qui ont été effectués. Il y a aussi une estimation du nombre de minutes restantes jusqu'à la fin du cycle d'exécution.

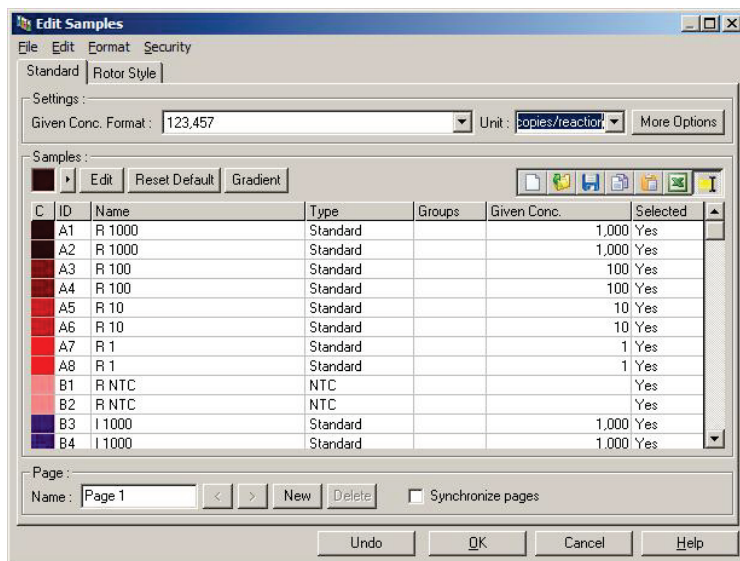


Skip (Ignorer) : « Skip » (Ignorer) permet de sauter des étapes du profil.

Add 5 Cycles (Ajouter 5 cycles) : « Add 5 Cycles » (Ajouter 5 cycles) permet d'ajouter 5 répétitions à l'étape du cycle en cours.

### 7.8.4 Modifier les échantillons

Cliquez sur le bouton « Samples » (Échantillons) pour ouvrir la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons). La fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons) est également accessible par un clic droit sur la liste des échantillons à droite de l'écran. Cette fenêtre fonctionne exactement comme la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons) dans les assistants, sauf 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) (vierge), 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.

### Onglet Standard



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



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



### Bouton



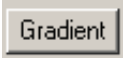
Style de ligne :

### Importance




Vous pouvez modifier le style de ligne pour améliorer la lisibilité des graphiques sur les imprimantes en noir et blanc. Vous pouvez accentuer certaines lignes en modifiant leur style. Pour accéder à cette fonctionnalité, cliquez sur le bouton de flèche vers la droite à gauche du bouton « Edit » (Modifier).



La barre d'outils affiche le style par défaut « Solid » (Continu). Vous pouvez le changer en « Dashed » (Tirets), « Dotted » (Pointillés), « Hairline » (Filet), « Thin » (Fin) or « Thick » (Épais). Lorsque vous avez terminé, cliquez sur le bouton de flèche vers la gauche pour revenir à la vue Edit (Modifier), Reset Default (Réinitialiser valeurs par défaut) et Gradient.

| Bouton  | Importance  |
|---|---|
|  | Appuyez sur « Edit » (Modifier) pour ouvrir le sélecteur de couleurs. Vous pouvez choisir plusieurs lignes lorsque vous attribuez une couleur aux tubes.                        |
|  | Cliquez sur « Reset Default » (Réinitialiser valeurs par défaut) pour rétablir la couleur par défaut de toutes les cellules de couleur sélectionnées.                           |
|  | « Gradient » permet de choisir un gradient de la première à la dernière couleur sélectionnée. Plusieurs gradients peuvent être définis dans une configuration des échantillons. |



| Bouton  | Importance  |
|---|---|
|    | L'icône « New » (Nouveau) efface la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons) en préparation de la saisie des données.   |
|  | L'icône « Open » (Ouvrir) ouvre une boîte de dialogue dans laquelle vous pouvez sélectionner un fichier Rotor-Gene Q MDx à importer.<br><b>Remarque :</b> Le nombre d'échantillons dans la fenêtre ouverte doit correspondre à celui dans le fichier importé. |
|  | L'icône « Save » (Enregistrer) ouvre une boîte de dialogue dans laquelle vous pouvez saisir le nom et le dossier dans lequel enregistrer une copie des définitions d'échantillons en cours.   |



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



L'icône « Paste » (Coller) permet de coller les cellules qui avaient été sélectionnées avec la commande Copier à la position sélectionnée sur la grille.



L'icône « Excel » ouvre une boîte de dialogue qui vous invite à choisir un nom de fichier et un dossier dans lequel enregistrer les informations relatives à l'échantillon. Une fois que vous appuyez sur « Save » (Enregistrer), le fichier Excel s'ouvre automatiquement.



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

Types  
d'échantillons :

Les échantillons peuvent être définis sur l'un des types répertoriés dans le tableau suivant.

| Type d'échantillon | Description  |
|--------------------|--|
| Aucun              | Aucun échantillon à cette position   |
| NTC                | Contrôle sans matrice  |
| Contrôle négatif   | Contrôle négatif   |
| Contrôle positif   | Contrôle positif   |
| Inconnu            | Échantillon inconnu à analyser   |
| Étalon             | Des valeurs standard sont utilisées pour définir une courbe étalon afin de calculer des concentrations d'échantillons inconnus           |
| Étalon (RQ)        | Une valeur de 1 est attribuée à l'étalon et toutes les autres concentrations d'échantillons sont calculées par rapport à cet échantillon |

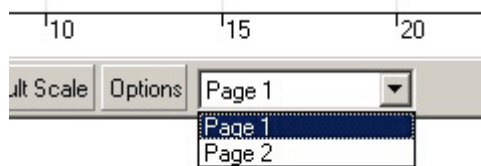
Page :

Cette fonction permet à l'utilisateur d'avoir différentes définitions d'échantillons et de séparer les expériences dans le même cycle d'exécution. C'est utile pour l'analyse de différents produits dans différents canaux. Utilisez les boutons fléchés pour faire défiler les pages d'échantillons. Utilisez les boutons « New » (Nouveau) et « Delete » (Supprimer) pour créer et supprimer des pages. Il est possible d'avoir plusieurs définitions d'échantillons pour le même canal, afin d'analyser plusieurs courbes étalons sans multiplexage. Il suffit de définir les échantillons d'intérêt et leurs courbes étalons sur des pages distinctes. Vous pouvez ensuite analyser indépendamment le canal avec chaque série de définitions. Vous pouvez étiqueter les pages d'échantillons « Page 1 », « Page 2 » etc. ou leur donner un nom

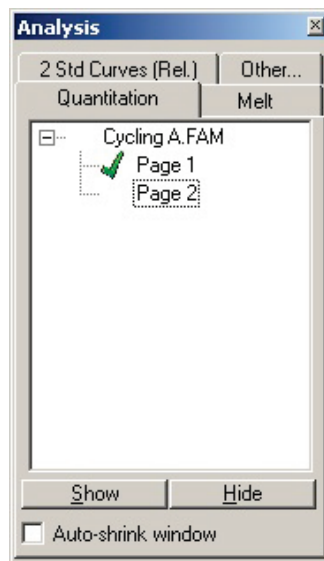


(p. ex. « Housekeeper » [Domestique]).  
Ce nom figurera dans les rapports.

Lorsque vous visualisez les données brutes, les définitions d'échantillons utilisées pour afficher les données peuvent être sélectionnées à l'aide du menu déroulant en regard du bouton « Options » :



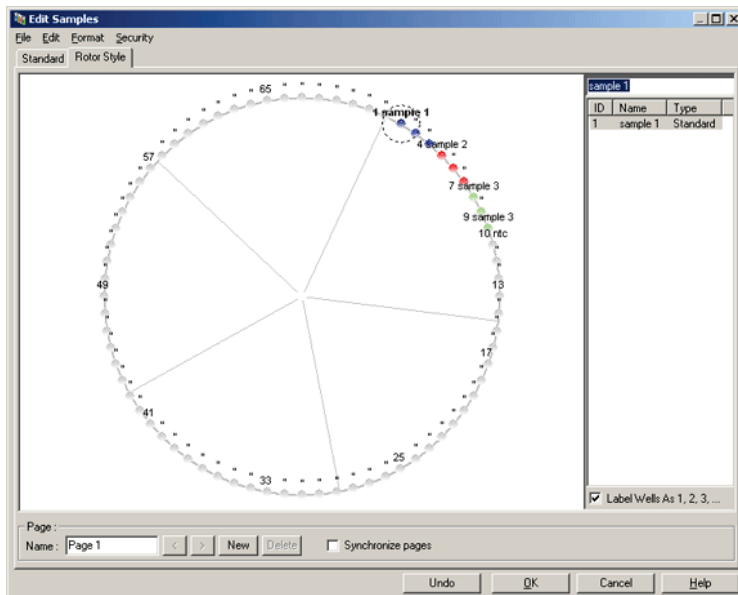
Vous pouvez choisir la page d'échantillons à utiliser pour procéder à une analyse dans la fenêtre « Analysis » (Analyse) (voir la section 7.6.1).



- Conc. donnée : Permet d'afficher la concentration pour chaque étalon. Les unités peuvent être définies en nombre décimal ou en logarithme. Si les étalons sont dans une série de dilution, il suffit de saisir les 2 premiers étalons. En appuyant sur Entrée, le programme ajoute automatiquement la prochaine dilution dans l'ordre logique de la série.
- 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 seront saisies sur chaque ligne. Cela fonctionne aussi pour sélectionner les types d'échantillons, choisir les couleurs ou saisir les concentrations.
- Raccourci clavier du 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 du type d'échantillon puis appuyez sur N pour NTC. Tous les échantillons seront convertis en NTC.
- Enregistrer, réutiliser : Vous pouvez enregistrer une description complète d'échantillon dans un fichier d'échantillon (\*.smp) et la charger dans les futurs cycles d'exécution de même configuration d'échantillon.

## Onglet Rotor Style

Cet onglet de la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons) offre un autre moyen de saisir les noms des échantillons. Sélectionnez les répliquats en cliquant sur l'image du rotor et en faisant glisser le pointeur de la souris. La liste à droite de la fenêtre est actualisée. Vous pouvez saisir le nom de l'échantillon, cela définit le même nom pour la sélection en cours. Le logiciel reconnaît ces puits comme des répliquats.

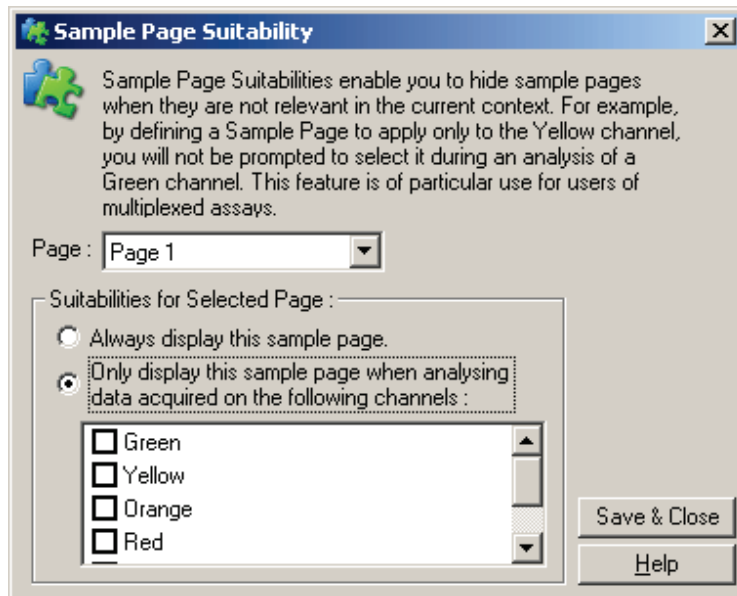


L'onglet « Rotor Style » (Style de rotor) est une version abrégée de l'onglet « Standard » (Étalon), il est destiné aux utilisateurs qui souhaitent définir rapidement les noms des échantillons et les couleurs. Sous cet onglet, il n'est pas possible de définir certains paramètres, par exemple si l'échantillon représente un étalon ou la concentration connue de chaque étalon. Si vous devez définir de tels paramètres, utilisez l'onglet Standard (Étalon).

### Adéquation de la page d'échantillons

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

La fenêtre « Sample Page Suitability » (Adéquation de la page d'échantillons) est illustrée ci-dessous.

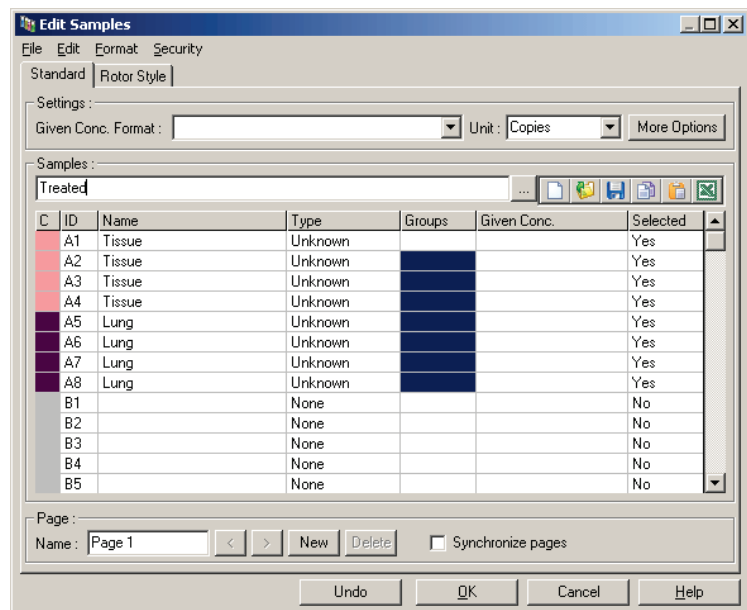


**Remarque :** Lorsque vous configurez un dosage, créez toutes les pages d'échantillons et leurs adéquations puis enregistrez-les comme modèle. Cela limite la configuration requise pour chaque cycle d'exécution.

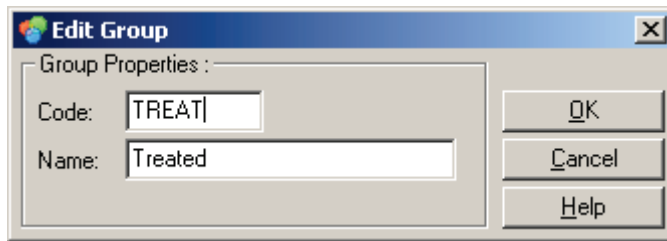
## Groupes

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

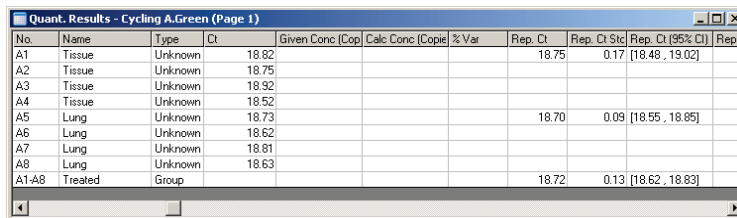
1. Pour définir un groupe, saisissez son nom complet en regard d'un échantillon puis appuyez sur Entrée.



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



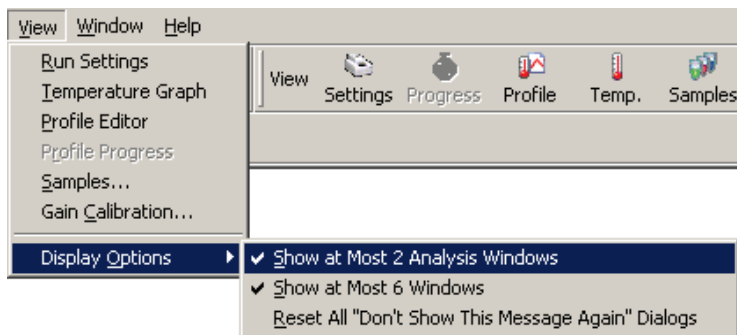
3. Définissez une abréviation adaptée puis cliquez sur « OK ». L'abréviation peut ensuite être utilisée pour configurer les groupes. Des résultats groupés, comme la valeur moyenne et les intervalles de confiance de 95 %, sont calculés automatiquement pour les groupes dans n'importe quelle analyse.



| 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]   |      |

### 7.8.5 Options d'affichage

Le menu des 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 y aura au maximum 2 fenêtres d'analyse affichées à la fois. Si plusieurs fenêtres sont ouvertes, la lisibilité peut s'en trouver compromise. En cochant cette option, vous fermez la première fenêtre d'analyse, remplacée par la dernière fenêtre ouverte. Si cette option est décochée, il est possible d'afficher plus de 2 fenêtres d'analyse.   |
| Show at Most 6 Windows (Afficher 6 fenêtres maximum) :  | Pour améliorer la lisibilité, le logiciel supprimer les fenêtres non utilisées lorsque vous en ouvrez de nouvelles. Cette option est activée par défaut, elle permet de ne pas encombrer l'écran du logiciel Rotor-Gene Q. Si vous devez afficher 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 vous aviez coché la case « Do not display this message again » (Ne plus afficher ce message). Ces boîtes de dialogue contiennent des messages sur des paramètres douteux qui avaient été configurés pour ne plus apparaître. Cela peut être utile pour un nouvel utilisateur qui ne maîtrise pas le Rotor-Gene Q MDx ou le logiciel Rotor-Gene Q. |

## 7.9

### Protection d'accès pour le logiciel RGQ

**Remarque :** Ce chapitre décrit la protection d'accès pour le logiciel Rotor-Gene Q. Consultez le manuel d'utilisation Rotor-Gene AssayManager 1.0 Core Application (US) IVD dans la partie II du volume 2 du manuel d'utilisation QIASymphony RGQ MDx (US) ou le manuel d'utilisation Rotor-Gene AssayManager v2.1 MDx Core Application pour plus d'informations sur le logiciel Rotor-Gene AssayManager.

Le logiciel Rotor-Gene Q contient des fonctionnalités qui lui permettent de fonctionner en toute sécurité. Lorsqu'il est correctement configuré, le logiciel Rotor-Gene Q peut assurer les fonctions suivantes :

- Accès au Rotor-Gene Q MDx ou au logiciel d'analyse limité aux groupes d'utilisateurs
- Modifications des fichiers de cycle d'exécution consignées
- Modifications non autorisées détectées (signatures)
- Modèles utilisés pour les cycles d'exécution consignés
- Noms des échantillons protégés

### Intégration à la sécurité de Windows

Pour offrir un niveau optimal 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 de Windows (Sécurité de Windows). Grâce à l'intégration, le mot de passe permettant d'accéder aux fichiers réseau et aux programmes est également utilisé pour contrôler l'accès au logiciel Rotor-Gene Q, ce qui implique moins de gestion. Dans les établissements de grande taille par exemple, les administrateurs réseau peuvent aisément annuler l'accès des anciens utilisateurs grâce au modèle de sécurité centralisé.

Ainsi, la configuration du logiciel Rotor-Gene Q en toute sécurité implique avant tout de configurer les rôles de sécurité de Windows conformément aux meilleures pratiques.

### Conditions requises

Pour pouvoir utiliser la sécurité, vous devez exécuter Windows 10 ou Windows 7 Professionnel. Les fonctionnalités de sécurité ne peuvent pas être utilisées avec Windows 10 ou Windows 7 en édition familiale car cette dernière ne dispose pas du modèle d'accès avancé utilisé par le logiciel. Le logiciel doit être installé avec l'option « Force authentication through Windows domain » (Forcer l'authentification par le domaine Windows).

**Remarque :** Le menu Sécurité de Windows n'apparaît pas si vous êtes connecté à un domaine Samba sous Linux. Il vous



faut une connexion locale ou un serveur Windows pour pouvoir utiliser les fonctionnalités de sécurité.

### **7.9.1 Configuration pour Windows 7**

Cette section décrit la configuration du système pour exécuter le logiciel Rotor-Gene Q en toute sécurité.

Pour pouvoir utiliser les fonctionnalités de sécurité, le logiciel doit être installé avec l'option « Force authentication through Windows domain » (Forcer l'authentification par le domaine Windows). Cette option demande au domaine Windows votre niveau d'accès et vos informations d'identification, et elle est essentielle pour l'octroi de la responsabilité et des fonctionnalités de sécurité.

#### **Exécution en tant qu'administrateur**

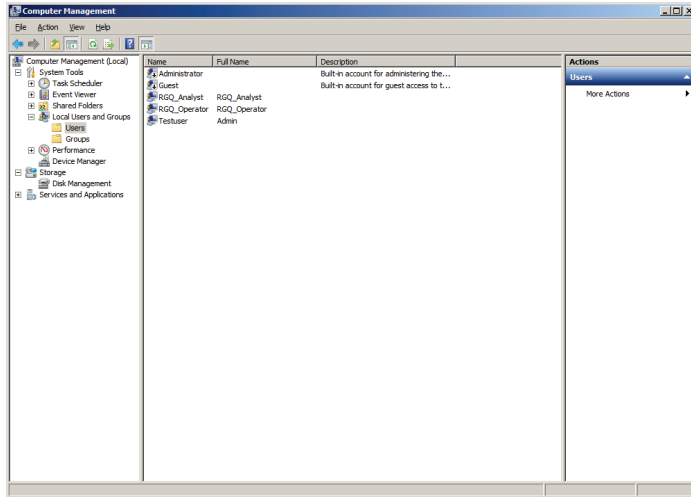
Bon nombre d'utilisateurs utilisent leur ordinateur en tant qu'administrateur, sans mot de passe. Même si c'est pratique, il est impossible de savoir qui utilise l'ordinateur. Cela supprime la responsabilité et empêche l'activation de nombreuses mesures de sécurité du logiciel Rotor-Gene Q. Lorsque vous exécutez en tant qu'administrateur, toutes les fonctionnalités logicielles sont activées. Cela permet ainsi aux utilisateurs qui n'ont pas besoin des fonctionnalités de sécurité d'accéder à toutes les fonctionnalités logicielles.

#### **Création d'un nouveau compte d'utilisateur**

Créez un compte d'utilisateur pour chaque utilisateur du logiciel. Pour chaque utilisateur, répétez les étapes ci-dessous 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 apparaît, sélectionnez le dossier « Users » (Utilisateurs). Faites un clic droit dans la fenêtre de droite puis sélectionnez « New User » (Nouvel utilisateur).



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

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

- User name: newuser
- Full name: New User
- Description: (empty)
- Password: (masked with 6 dots)
- Confirm password: (masked with 6 dots)
- User must change password at next logon
- User cannot change password
- Password never expires
- Account is disabled

Buttons at the bottom: Help, Create (highlighted), Close.

4. Cliquez sur « Create » (Créer). Vous pouvez à présent vous connecter en tant que cet utilisateur.

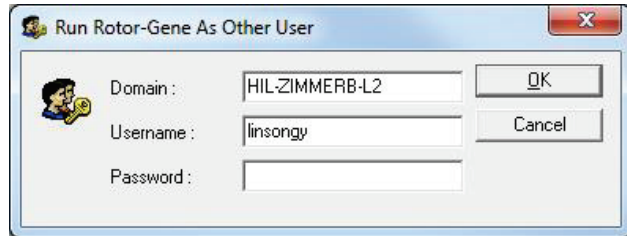
### Attribution des rôles à chaque utilisateur

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

- Opérateur Rotor-Gene Q – peut lancer un cycle d'exécution mais pas générer de rapports ni procéder à une analyse
- Analyste Rotor-Gene Q – peut analyser les données d'exécution et générer des rapports mais pas lancer de nouveaux cycles d'exécution
- Opérateur et Analyste Rotor-Gene Q – peut endosser les deux rôles
- Administrateur – peut déverrouiller les noms des échantillons et réaliser toutes les opérations des analystes et des opérateurs
- Aucun – tout accès au logiciel est refusé

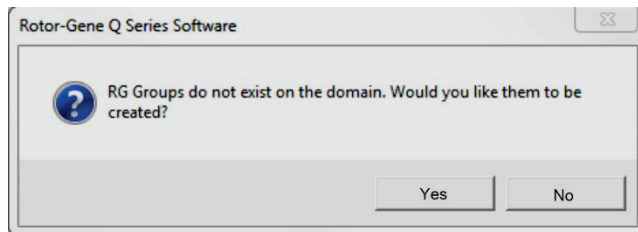
Pour attribuer les rôles :

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 connecter.

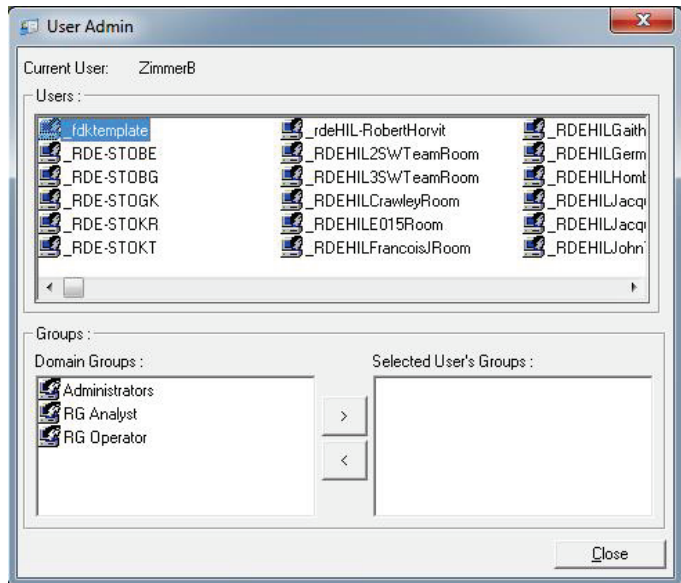


**Remarque :** Pour créer des groupes RG avec le logiciel Rotor-Gene Q, il faut exécuter le logiciel avec des droits d'administrateur. Pour cela, faites un clic droit sur l'icône du bureau puis choisissez « Run as administrator » (Exécuter en tant qu'administrateur) dans le menu contextuel.

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.

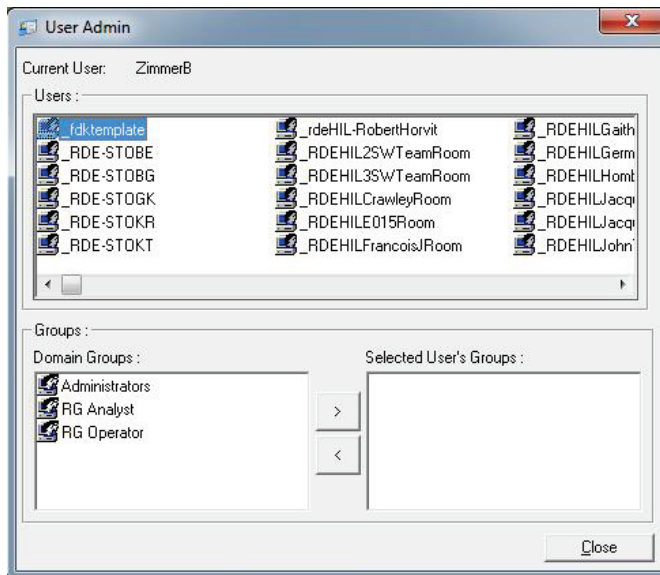


3. Cliquez sur « Yes » (Oui). La fenêtre « User Admin » (Administrateur d'utilisateurs) apparaît. Dans le volet supérieur, tous les utilisateurs de l'ordinateur apparaissent. Certains comptes sont utilisés par le système, vous ne les connaissez donc pas. Le volet inférieur affiche les groupes attribués à l'utilisateur.

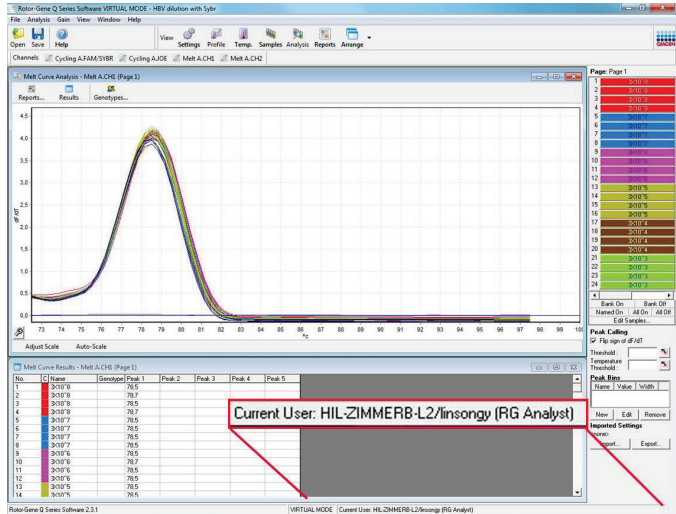


4. Pour attribuer un groupe à un utilisateur, sélectionnez le nom de l'utilisateur dans la liste. Le volet inférieur est actualisé. Si l'utilisateur n'a aucun groupe, il ne peut lancer le logiciel.

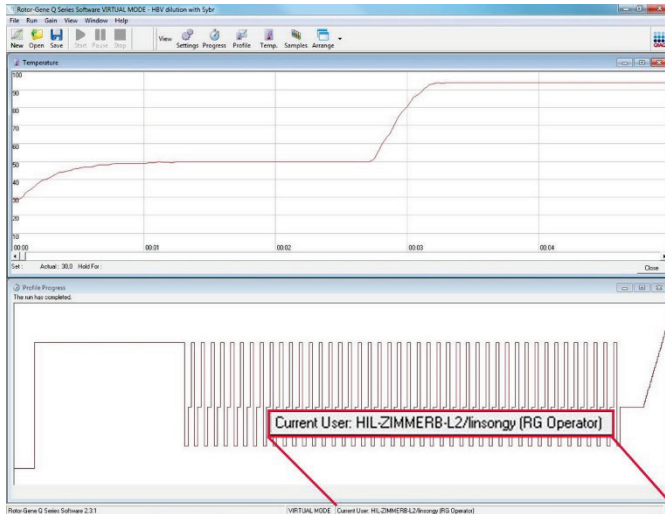
Dans l'exemple suivant, l'utilisateur « linsongy » est attribué au groupe Analyste RG en sélectionnant le groupe à gauche puis en cliquant sur le bouton « > ». Vous pouvez supprimer des groupes en les sélectionnant puis en cliquant sur le bouton « < ».



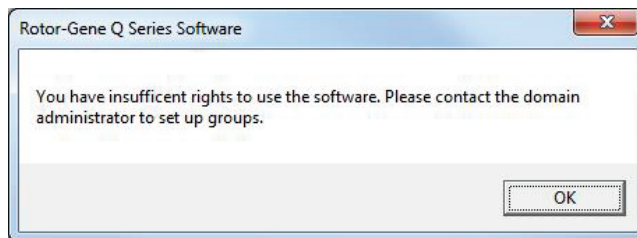
- À présent, connectez-vous en tant que cet utilisateur. En tant qu'analyste RG, le menu de cycle d'exécution et le bouton « Profile » (Profil) n'apparaissent pas. Mais les fichiers existants peuvent être ouverts et analysés, comme indiqué sur la capture d'écran ci-dessous. La barre d'état indique que l'utilisateur « linsongy » est un analyste RG.



- En vous connectant de nouveau en tant qu'administrateur, vous pouvez attribuer des droits d'opérateur RG à « linsongy » et supprimer de nouveau les droits d'analyste RG. Vous devez ensuite redémarrer le logiciel. Cette fois, le menu d'analyse et le bouton « Reports » (Rapports) n'apparaissent pas et le menu de cycle d'exécution est activé. La barre d'état indique que l'utilisateur « linsongy » fait partie du groupe Opérateur RG.



- Si vous vous connectez en tant qu'administrateur et supprimez tous les groupes de l'utilisateur « linsongy », le message suivant apparaîtra lorsque « linsongy » ouvrira le logiciel.





## 7.9.2 Configuration pour Windows 10

Cette section décrit la configuration du système pour exécuter le logiciel Rotor-Gene Q en toute sécurité.

Pour pouvoir utiliser les fonctionnalités de sécurité, le logiciel doit être installé avec l'option « Force authentication through Windows domain » (Forcer l'authentification par le domaine Windows). Cette option demande au domaine Windows votre niveau d'accès et vos informations d'identification, et elle est essentielle pour l'octroi de la responsabilité et des fonctionnalités de sécurité.

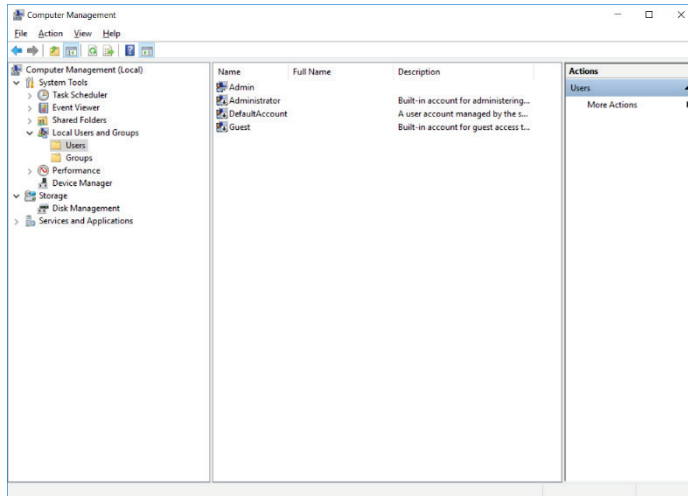
### Exécution en tant qu'administrateur

Bon nombre d'utilisateurs utilisent leur ordinateur en tant qu'administrateur, sans mot de passe. Même si c'est pratique, il est impossible de savoir qui utilise l'ordinateur. Cela supprime la responsabilité et empêche l'activation de nombreuses mesures de sécurité du logiciel Rotor-Gene Q. Lorsque vous exécutez en tant qu'administrateur, toutes les fonctionnalités logicielles sont activées. Cela permet ainsi aux utilisateurs qui n'ont pas besoin des fonctionnalités de sécurité d'accéder à toutes les fonctionnalités logicielles.

### Création d'un nouveau compte d'utilisateur

Créez un compte d'utilisateur pour chaque utilisateur du logiciel. Pour chaque utilisateur, répétez les étapes ci-dessous jusqu'à avoir créé tous les comptes.

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



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

The 'New User' dialog box is shown with the following fields and options:

- User name:** newuser
- Full name:** New User
- Description:** (empty)
- Password:** (masked with 6 dots)
- Confirm password:** (masked with 6 dots)
- User must change password at next logon
- User cannot change password
- Password never expires
- Account is disabled

Buttons at the bottom: Help, Create, Close.

4. Cliquez sur « Create » (Créer). Vous pouvez à présent vous connecter en tant que cet utilisateur.

### Attribution des rôles à chaque utilisateur

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

- Opérateur Rotor-Gene Q – peut lancer un cycle d'exécution mais pas générer de rapports ni procéder à une analyse
- Analyste Rotor-Gene Q – peut analyser les données d'exécution et générer des rapports mais pas lancer de nouveaux cycles d'exécution
- Opérateur et Analyste Rotor-Gene Q – peut endosser les deux rôles
- Administrateur – peut déverrouiller les noms des échantillons et réaliser toutes les opérations des analystes et des opérateurs
- Aucun – tout accès au logiciel est refusé

**Remarque :** Dans Microsoft Windows 10, il est impossible de créer des groupes d'utilisateurs avec le logiciel Rotor-Gene Q. Les groupes doivent être créés dans le domaine par un administrateur de domaine, il en va de même pour l'attribution des utilisateurs à un groupe spécifique. Le menu de cycle d'exécution est activé. La barre d'état indique que l'utilisateur « linsongy » fait partie du groupe Opérateur RG.

### 7.9.3

### Exécution de plusieurs utilisateurs sur un même ordinateur

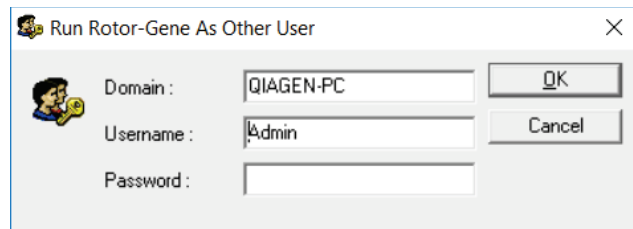
Pour pouvoir utiliser le logiciel Rotor-Gene Q à plusieurs utilisateurs, créez un compte d'utilisateur qui n'a pas accès au logiciel Rotor-Gene Q. Connectez-vous à Windows avec ce compte afin que les utilisateurs ne puissent pas accéder de façon anonyme au Rotor-Gene Q MDx.

1. Les utilisateurs peuvent utiliser l'icône « Rotor-Gene Q Software Login » (Connexion au logiciel Rotor-Gene Q)

pour 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 fenêtre qui s'ouvre.



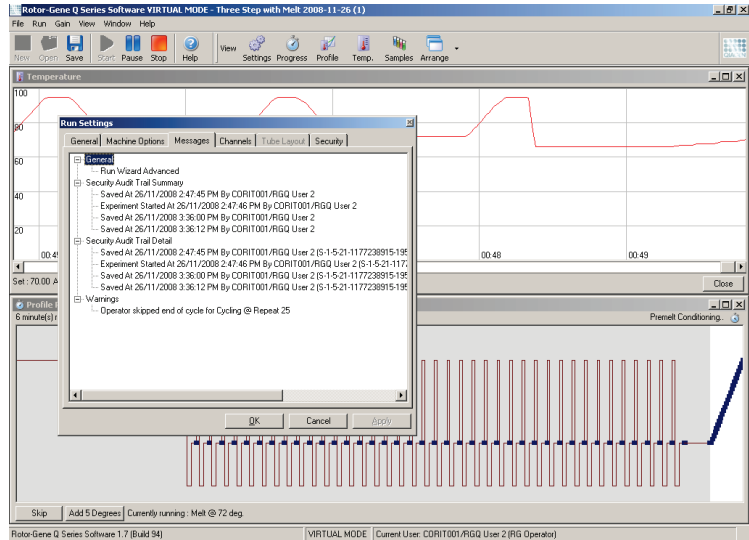
3. Le domaine est l'ordinateur sur lequel vous êtes connecté ou le nom de votre réseau local, accompagné du nom d'hôte. Demandez à votre administrateur réseau si vous ne savez pas quel domaine saisir dans ce champ.

**Remarque :** Après la connexion, tous les fichiers utilisateur sont disponibles pour cet utilisateur. Chaque utilisateur peut enregistrer des fichiers dans sa propre zone. Cela garantit un niveau de sécurité élevé.

**Remarque :** Chaque utilisateur doit se déconnecter lorsqu'il a fini afin d'éviter que d'autres utilisateurs ne se connectent en utilisant son nom.

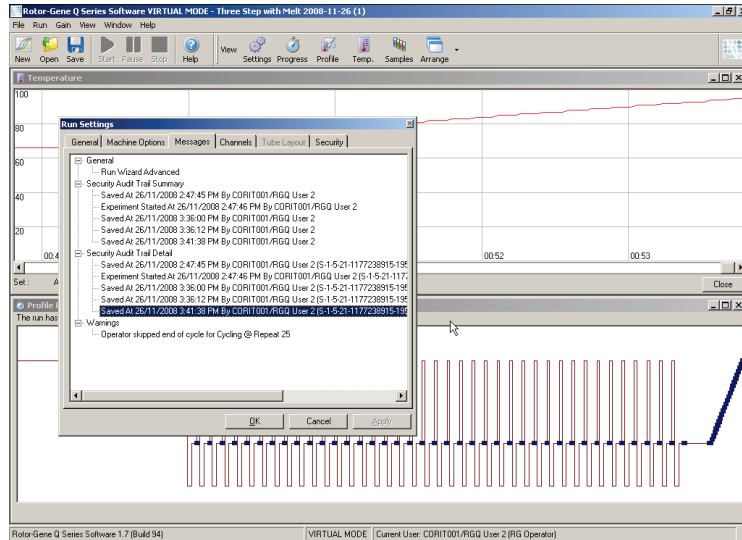
## 7.9.4 Pistes d'audit

Chaque fois qu'un fichier est enregistré par un utilisateur, les détails le concernant sont enregistrés dans « Run Settings » (Paramètres de cycle d'exécution) sous l'onglet « Messages » en tant que Security Audit Trail Summary (Résumé de la piste d'audit de sécurité) et Security Audit Trail Detail (Détail de la piste d'audit de sécurité).



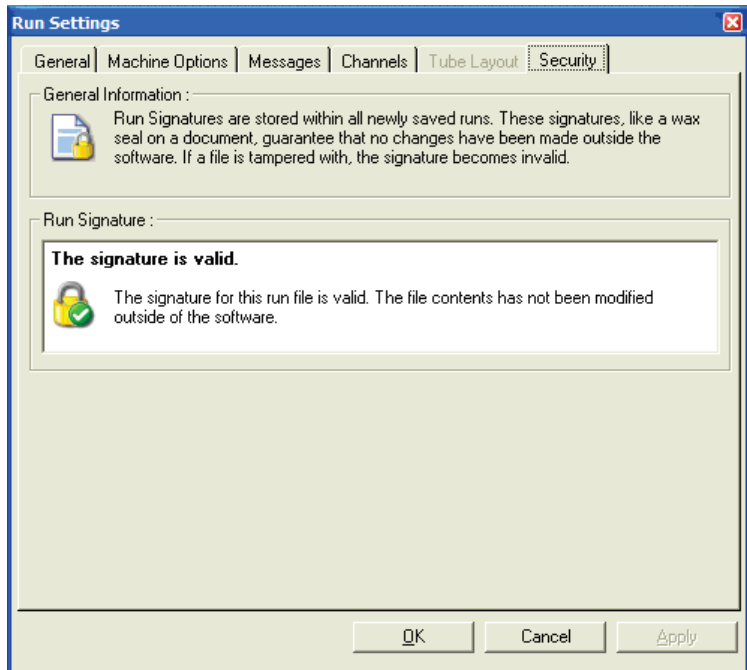
Cela peut permettre de savoir qui a modifié le contenu d'un fichier. Le Security Audit Trail Detail (Détail de la piste d'audit de sécurité) contient davantage de détails, tels que l'identifiant unique de l'utilisateur. Cet identifiant est important, il empêche un utilisateur de créer un compte du même nom sur un autre ordinateur en usurpant l'identité d'un autre utilisateur. Dans ce cas, les noms d'utilisateur sont identiques mais les identifiants des comptes sont différents.

L'identifiant du compte CORIT001/RGQ User 2, S-1-5-21-1177238915-195, apparaît dans les détails.

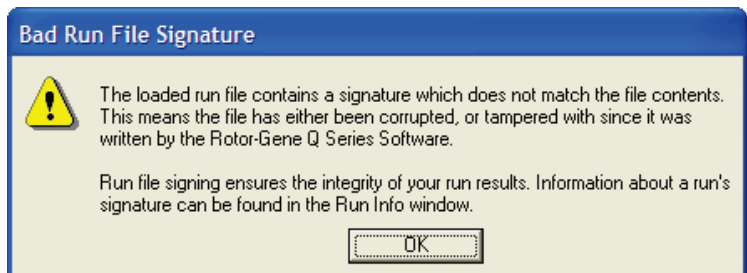


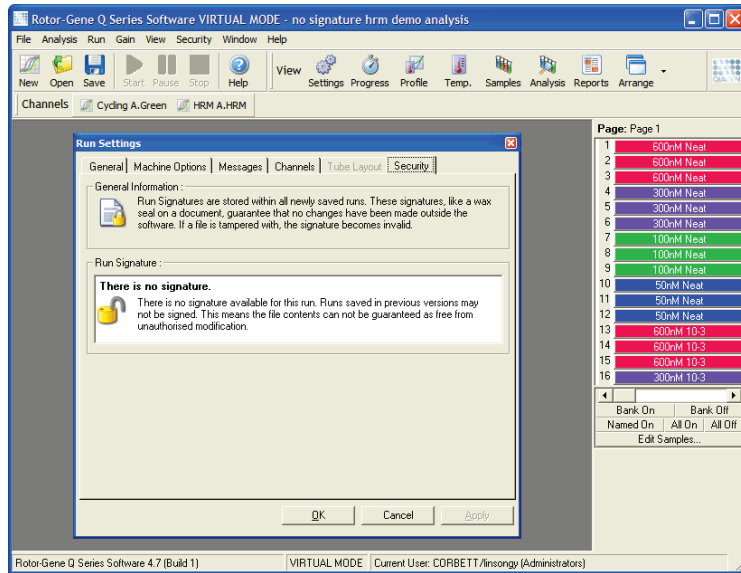
### 7.9.5 Run Signatures (Signatures des cycles d'exécution)

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, vous devez les conserver à un emplacement sûr accessible uniquement pour les comptes Windows désignés. Mais si ces fichiers sont enregistrés en zone partagée, Run Signatures (Signatures des cycles d'exécution) apporte une sécurité supplémentaire. La capture d'écran suivante montre l'onglet « Security » (Sécurité) dans les Run Settings (Paramètres de cycle d'exécution) pour un fichier ayant une Run Signature (Signature des cycles d'exécution).



La Run Signature (Signature des cycles d'exécution) est un identifiant long généré chaque fois que le fichier est enregistré et qui est lié à son contenu. Par exemple, la signature pour ce fichier est 517587770f3e2172ef9cc9bd0c36c081. Si vous ouvrez le fichier dans le Bloc-notes et y apportez une modification (p. ex. la date du cycle d'exécution est avancée de 3 jours), le message suivant apparaît lorsque le fichier est rouvert.





**Remarque :** Si les fichiers sont envoyés par courriel, le processus de chiffrement peut invalider la signature. Pour éviter cela, zippez le fichier avant de l'envoyer.

### 7.9.6 Verrouillage d'échantillon

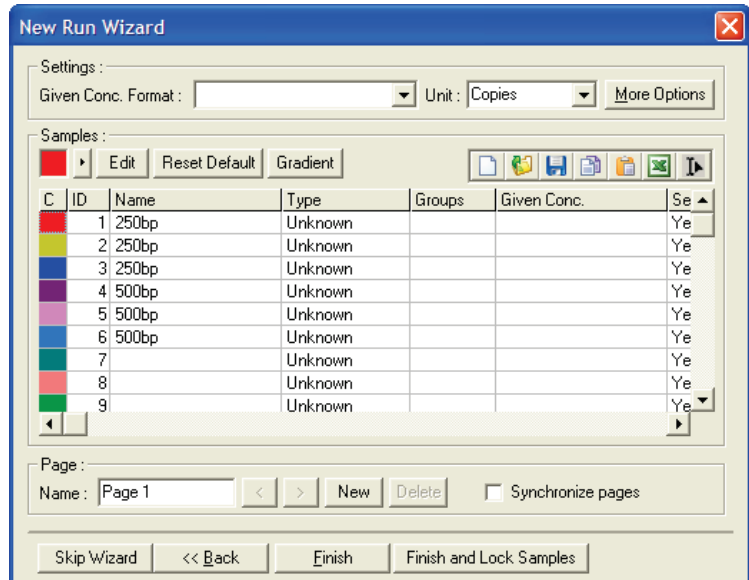
Il est important de s'assurer que les noms des échantillons ne soient pas modifiés accidentellement ou intentionnellement une fois qu'un utilisateur a lancé un cycle d'exécution. C'est pourquoi le logiciel Rotor-Gene Q permet le verrouillage d'échantillon. Les noms des échantillons peuvent être verrouillés par n'importe quel utilisateur mais ne peuvent être déverrouillés que par un administrateur. Pour les utilisateurs qui exécutent leur ordinateur en mode administrateur, cette option a une portée limitée. Pour utiliser cette option, l'ordinateur doit être configuré de façon sûre comme décrit 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 Opérateur RG et Analyste RG puis gardez le mot de passe administrateur secret. Les utilisateurs

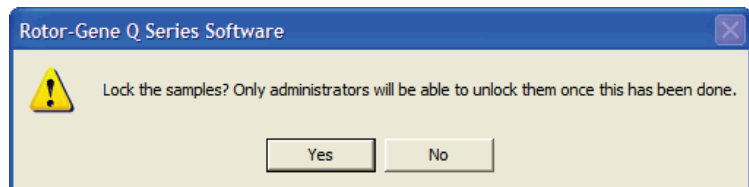


demandent ensuite l'autorisation à l'administrateur pour déverrouiller des fichiers.

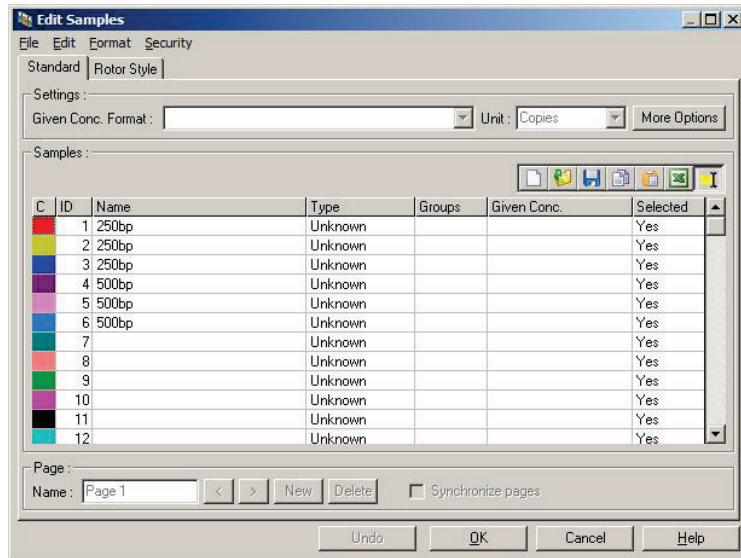
Lorsque vous utilisez l'assistant avancé, vous pouvez verrouiller des échantillons avant de lancer un cycle d'exécution, il suffit de cliquer sur « Finish and Lock Samples » (Terminer et verrouiller les échantillons).



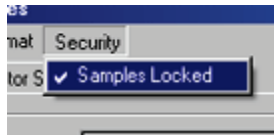
L'avertissement suivant apparaît. Cliquez sur « Yes » (Oui) pour confirmer.



Une fois les échantillons verrouillés, il sera impossible de les modifier dans la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons).



Les échantillons peuvent également être verrouillés et déverrouillés dans la fenêtre « Edit Samples » (Modifier les échantillons). Mais seul un administrateur peut les déverrouiller une fois qu'ils ont été verrouillés.

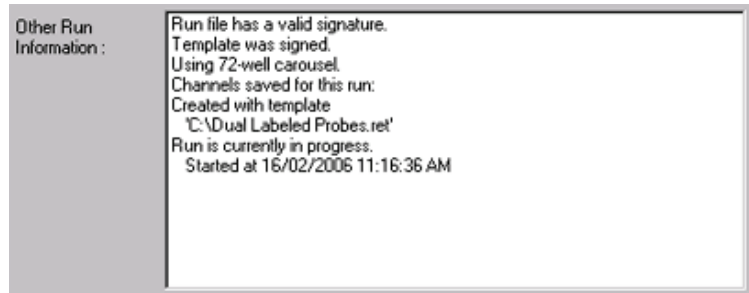


Toute modification non autorisée apportée au fichier invalide la Run Signature (Signature des cycles d'exécution).

### 7.9.7 Modèles verrouillés

Pour le moment, il est impossible pour l'utilisateur de créer des fichiers de modèles en lecture seule avec le logiciel Rotor-Gene Q. Néanmoins, vous pouvez si vous le souhaitez demander à ce que tous les cycles d'exécution soient effectués avec un fichier de modèle spécifique. Pour assurer un accès en lecture seule à ce modèle, vous devez l'enregistrer sur un lecteur réseau sur lequel les utilisateurs ne peuvent pas modifier les données. Les utilisateurs peuvent toujours exécuter et modifier leurs propres profils, mais le modèle sur

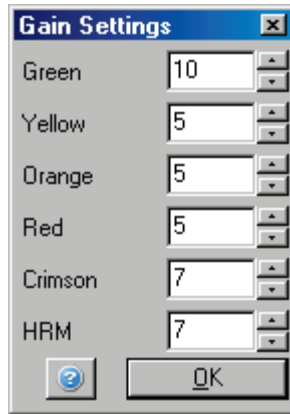
un lecteur réseau de ce type est protégé. Pour savoir quel modèle a été utilisé, le logiciel Rotor-Gene Q enregistre le nom du fichier de modèle qui a été exécuté. Cette information est accessible en cliquant sur le bouton « Settings » (Paramètres), qui ouvre la fenêtre « Run Settings » (Paramètres de cycle d'exécution). Les informations sur le modèle sont enregistrées dans « Other Run Information » (Autres informations sur le cycle d'exécution).



## 7.10 Menu Gain

Cliquez sur le menu Gain pour afficher les « Gain Settings » (Paramètres de gain) du cycle d'exécution en cours. Cela permet de définir le gain du canal spécifié avant un cycle d'exécution. Les paramètres de gain du dernier cycle d'exécution sont conservés. Vous pouvez les modifier si le cycle d'exécution n'a pas encore démarré ou au cours des cycles initiaux. Utilisez les flèches vers le haut/le bas en regard de chaque champ de texte pour modifier les champs. Cliquez ensuite sur « OK ».

Le gain peut être modifié au cours des cycles initiaux. Une ligne rouge apparaîtra dans le canal concerné pour indiquer où le gain a été modifié. Les cycles antérieurs à la modification du gain sont exclus de l'analyse.



### 7.11 Menu Fenêtre

Ce menu permet d'organiser les fenêtré verticalement ou horizontalement, ou de les disposer en cascade. D'autres options sont accessibles en cliquant sur la flèche à droite du bouton « Arrange » (Organiser).

### 7.12 Fonction d'aide

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

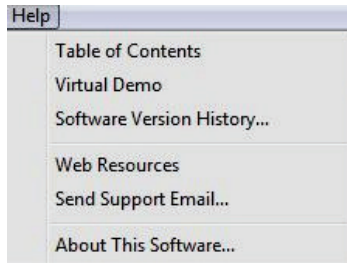


Table of Contents (Table des matières) :

Permet d'accéder à la fonction d'aide.

|  |   |
|--|---|
| Virtual Demo (Démo virtuelle) :  | Renvoie à une page Web QIAGEN qui présente une démonstration interactive du logiciel.   |
| Software Version History... (Historique des versions logicielles...) : | Donne un bref aperçu des nouvelles fonctionnalités ajoutées depuis la version logicielle précédemment installée.  |
| Web Resources (Ressources Web) :                                       | Permet d'ouvrir une nouvelle fenêtre du navigateur avec une page Web QIAGEN qui contient des informations importantes à jour sur les instruments Rotor-Gene Q MDx et les réactifs correspondants. |
| About This Software... (À propos de ce logiciel) :                     | Donne des informations sur la machine connectée, le numéro de série du Rotor-Gene Q MDx et la version logicielle.   |

### 7.12.1 Envoyer un courriel de support

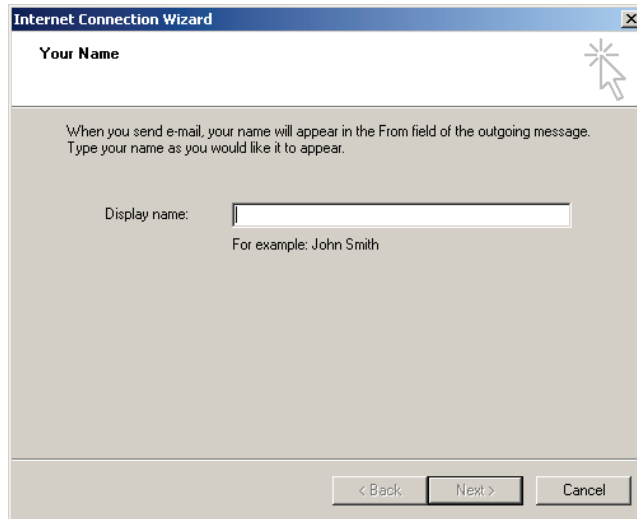
L'option « Send Support Email... » (Envoyer un courriel de support...) dans le menu d'aide vous permet d'envoyer un courriel de support à QIAGEN contenant toutes les informations pertinentes d'un cycle d'exécution. L'option « Save As » (Enregistrer sous) permet d'enregistrer toutes les informations dans un fichier que vous pouvez copier sur un disque ou sur un réseau si vous n'avez pas accès à la messagerie électronique sur l'ordinateur qui exécute le Rotor-Gene Q MDx.

Lorsque vous utilisez pour la première fois la fonction de courriel de support sur l'ordinateur portable fourni avec le Rotor-Gene Q MDx (selon les pays), vous devez configurer vos paramètres de courrier électronique.

**Remarque :** Vous pouvez faire les saisies du responsable informatique de votre établissement.

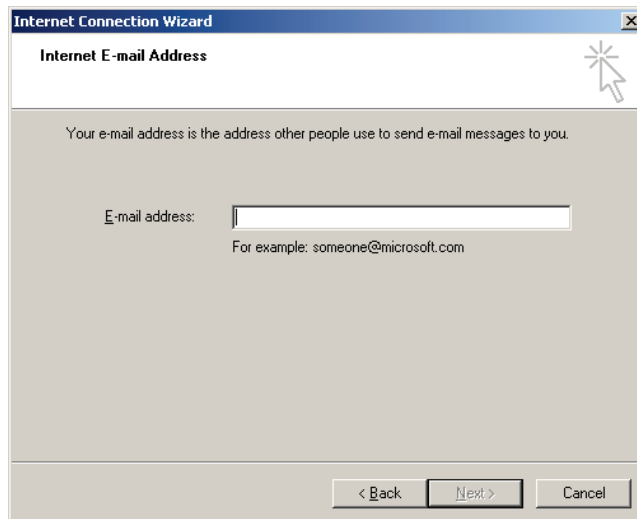
### Configurer les paramètres de courrier électronique

Cliquez sur l'option « Send Support Email... » (Envoyer un courriel de support...). La fenêtre suivante s'ouvre.



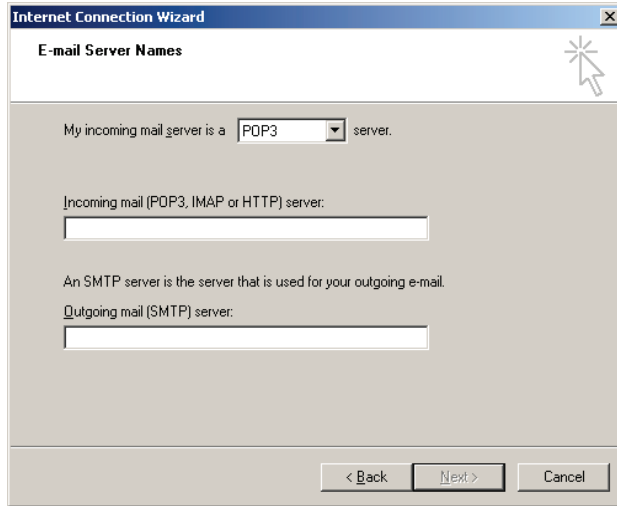
The screenshot shows a window titled "Internet Connection Wizard" with a close button (X) in the top right corner. The main heading is "Your Name". Below the heading is a mouse cursor icon. The text reads: "When you send e-mail, your name will appear in the From field of the outgoing message. Type your name as you would like it to appear." There is a text input field labeled "Display name:" with the example text "For example: John Smith" below it. At the bottom, there are three buttons: "< Back", "Next >", and "Cancel".

1. Saisissez votre nom puis cliquez sur « Next » (Suivant). La fenêtre « Internet Email Address » (Adresse courriel sur Internet) s'ouvre.



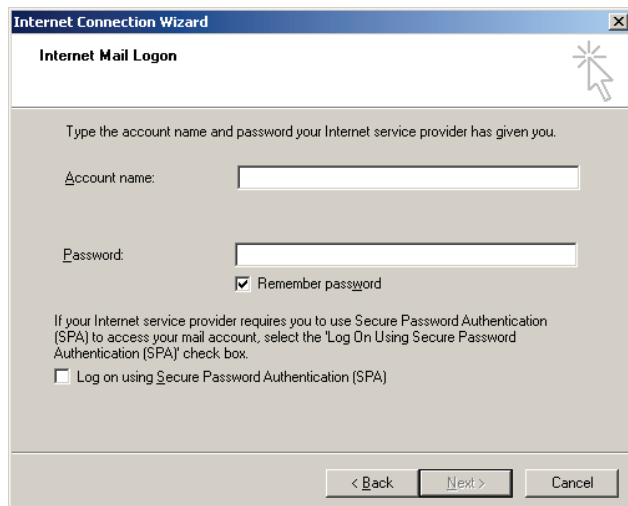
The screenshot shows a window titled "Internet Connection Wizard" with a close button (X) in the top right corner. The main heading is "Internet E-mail Address". Below the heading is a mouse cursor icon. The text reads: "Your e-mail address is the address other people use to send e-mail messages to you." There is a text input field labeled "E-mail address:" with the example text "For example: someone@microsoft.com" below it. At the bottom, there are three buttons: "< Back", "Next >", and "Cancel".

2. Saisissez votre adresse courriel puis appuyez sur « Next » (Suivant). La fenêtre « Email Server Names » (Noms des serveurs de messagerie) s'ouvre.



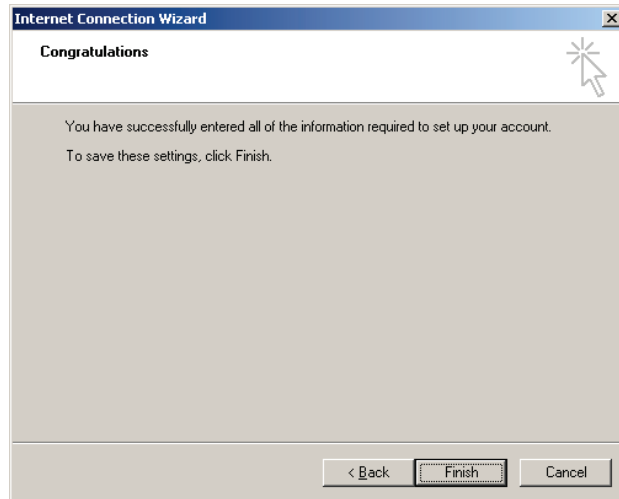
The screenshot shows the 'E-mail Server Names' dialog box. It has a title bar 'Internet Connection Wizard' and a close button. The main title is 'E-mail Server Names'. Below the title, there is a text field for the incoming mail server name, with a dropdown menu set to 'POP3'. The text reads: 'My incoming mail server is a POP3 server.' Below this, there is a label 'Incoming mail (POP3, IMAP or HTTP) server:' followed by an empty text input field. Further down, there is a label 'An SMTP server is the server that is used for your outgoing e-mail.' followed by 'Outgoing mail (SMTP) server:' and another empty text input field. At the bottom, there are three buttons: '< Back', 'Next >', and 'Cancel'.

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



The screenshot shows the 'Internet Mail Logon' dialog box. It has a title bar 'Internet Connection Wizard' and a close button. The main title is 'Internet Mail Logon'. Below the title, there is a text field for the account name, with the label 'Account name:'. Below that, there is a text field for the password, with the label 'Password:'. Below the password field, there is a checked checkbox labeled 'Remember password'. At the bottom, there is a paragraph of text: 'If your Internet service provider requires you to use Secure Password Authentication (SPA) to access your mail account, select the 'Log On Using Secure Password Authentication (SPA)' check box.' Below this text, there is an unchecked checkbox labeled 'Log on using Secure Password Authentication (SPA)'. At the bottom, there are three buttons: '< Back', 'Next >', and 'Cancel'.

4. Saisissez vos nom de compte et mot de passe puis sélectionnez l'option correspondante si votre serveur utilise une authentification par mot de passe sécurisé. Cliquez ensuite sur « Next » (Suivant). La fenêtre « Congratulations » (Félicitations) s'ouvre.

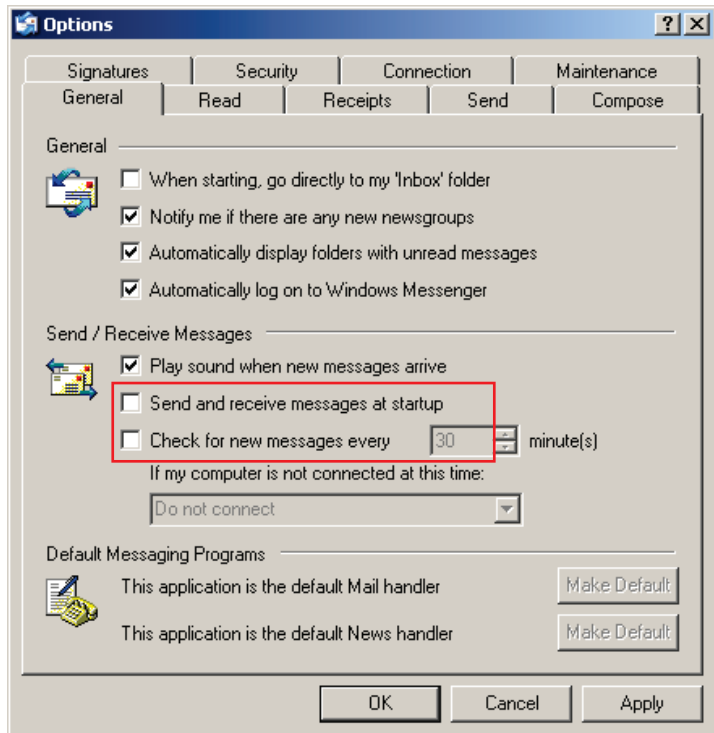


5. Confirmez en cliquant sur « Finish » (Terminer) pour terminer la configuration du compte de messagerie.

### Configuration dans Outlook

1. Ouvrez « Outlook Express » dans le menu de démarrage (Start, All programs, Outlook Express [Démarrer, Tous les programmes, Outlook Express]).
2. Sélectionnez Tools (Outils) puis Options. La fenêtre suivante apparaît.





**Important :** Pour éviter toute récupération de courriels pendant les cycles d'exécution de PCR, désactivez les entrées par défaut sur l'écran « Send/Receive Messages » (Envoyer/Recevoir des messages).

3. Décochez « Send and receive messages at startup » (Envoyer et recevoir les messages au démarrage).
4. Décochez « Check for new messages every 30 minutes » (Vérifier les nouveaux messages toutes les 30 minutes).
5. Confirmez les modifications avec « OK ».

Cette page est intentionnellement laissée vierge

## 8 Fonctions supplémentaires

### 8.1 Modèles d'analyse

Certaines analyses requièrent de l'utilisateur qu'il définisse des seuils, des paramètres de normalisation et des paramètres de génotype. Bien souvent, ces paramètres sont réutilisés dans de multiples expériences.

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

La quantification, la fusion, la discrimination allélique, l'analyse du graphique à points et l'analyse finale viennent compléter les modèles d'analyse. Ces analyses permettent à l'utilisateur d'exporter un modèle qui est propre à l'analyse (p. ex. l'analyse de quantification permet d'exporter et importer des fichiers \*.qut qui contiennent les paramètres de quantification).

Une fois qu'un modèle d'analyse a été importé ou exporté, le nom de fichier du modèle apparaît pour référence ultérieure.

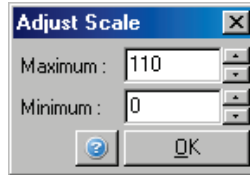


### 8.2 Ouverture d'un deuxième cycle d'exécution

Lorsque vous effectuez un cycle d'exécution, il est possible d'ouvrir et analyser des cycles d'exécution précédents. Plusieurs fonctions, telles que les boutons « New » (Nouveau) ou « Start Run » (Démarrer le cycle d'exécution), 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.

### 8.3 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 » (Échelle automatique), cliquez sur « Auto-Scale... » (Échelle automatique...) au bas de la fenêtre principale ou faites un clic droit sur le graphique puis sélectionnez « Auto-Scale... » (Échelle automatique...) dans le menu qui apparaît. « Auto-Scale » (Échelle automatique) permet d'ajuster l'échelle aux valeurs maximale et minimale dans les données.

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 0 à 100 unités de fluorescence.

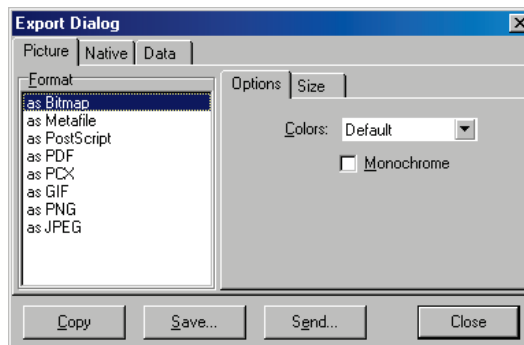
### 8.4 Exportation des graphiques

#### Exportation d'images

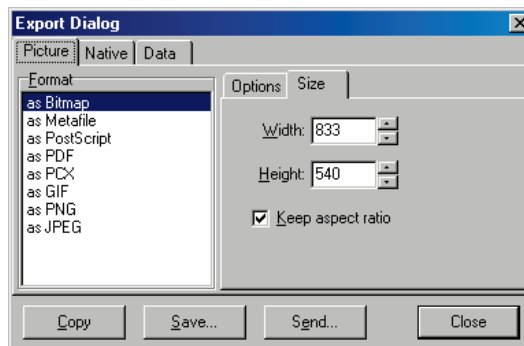
Les étapes suivantes décrivent comment enregistrer une image.

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 souhaité dans la liste « Format ».



3. Sélectionnez l'onglet « Size » (Taille) puis 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 sera 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 image d'une résolution supérieure, nous vous recommandons d'augmenter la taille de l'image jusqu'à ce que vous soyez satisfait ou d'enregistrer le graphique en tant que métafichier (\*.emf, \*.wmf). Il s'agit d'un format vectoriel qui peut être ouvert dans des logiciels comme

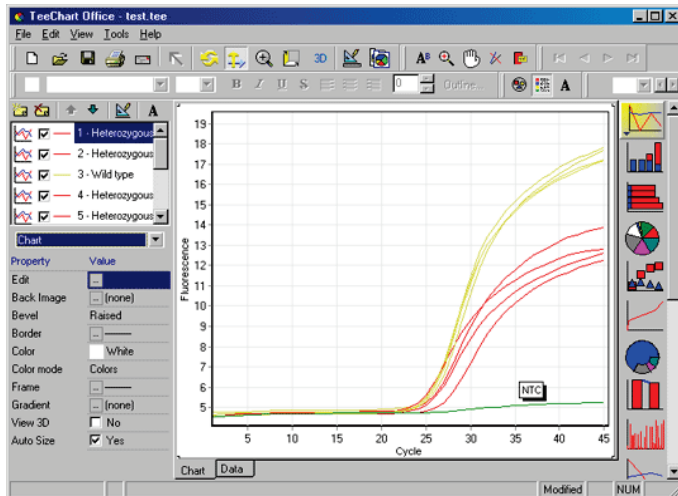
Adobe® Illustrator®, cela permet à l'utilisateur de créer une image de n'importe quelle résolution.

### Exportation du format natif

Les graphiques dans le logiciel Rotor-Gene Q utilisent le composant tiers TeeChart® développé par le logiciel Steema. 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. Il permet à l'utilisateur d'utiliser TeeChart Office à partir du logiciel Steema. TeeChart Office est un logiciel gratuit, il est installé dans l'ensemble logiciel Rotor-Gene Q. Pour accéder au logiciel, cliquez sur l'icône TeeChart sur le bureau.

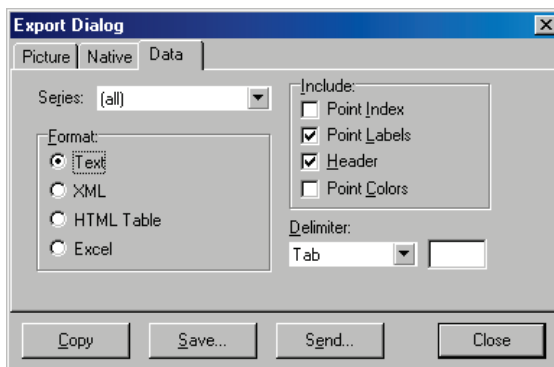


TeeChart Office permet la manipulation de graphiques exportés, notamment pour changer les couleurs des courbes, ajouter des annotations, modifier les polices et ajuster les points de données.



## 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 dans le graphique.

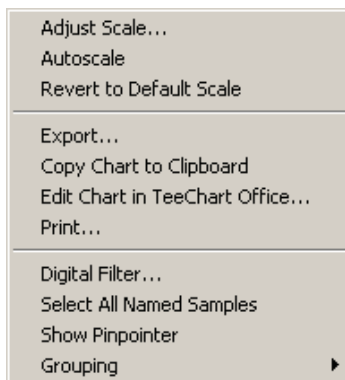


Vous pouvez aussi exporter des données brutes et des données d'analyse en sélectionnant « Save As » (Enregistrer sous) dans le menu « File » (Fichier) (voir la section 7.5).

## 8.5 Icône de clé

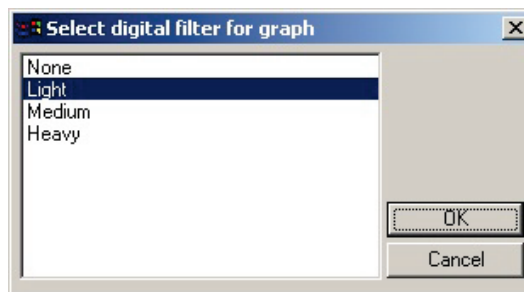


L'icône de clé apparaît en bas à gauche de la fenêtre principale. Cliquez dessus pour activer plusieurs options. Ces options sont également accessibles en faisant un clic droit sur le graphique.



- Adjust Scale (Ajuster l'échelle), Autoscale (Échelle automatique), Revert to Default Scale (Revenir à l'échelle par défaut) : Voir la section 8.3.
- Export... (Exporter...) : Permet d'enregistrer le graphique dans divers formats (voir la section 8.4).
- 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 pour le modifier (voir la section 8.4).
- Print (Imprimer) : Permet d'imprimer le graphique.
- Digital Filter... (Filtre numérique...) : Permet de modifier le filtre numérique actuel sur le graphique. Le filtre numérique lisse les données à l'aide d'une fenêtre glissante de points.



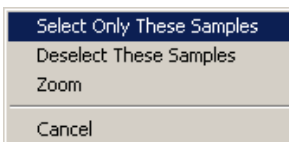


Show Pinpointer (Afficher le réticule) : Permet d'ouvrir une fenêtre qui affiche les coordonnées exactes de la position du pointeur de la souris.

Grouping (Groupes) : Permet de regrouper visuellement les échantillons qui ont des noms identiques. Cela peut être utile pour des cycles d'exécution sur le rotor entier. La sélection de cette option n'affecte en rien les valeurs calculées.

## 8.6 Options de la zone sélectionnée

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



Select Only These Samples (Sélectionner uniquement ces échantillons) : Les échantillons extérieurs à la zone sélectionnée sont désélectionnés.

## Fonctions supplémentaires

---

|   |  |
|---|--|
| Deselect These Samples<br>(Désélectionner ces échantillons) : | Tous les échantillons dans la zone sélectionnée sont désélectionnés.   |
| Zoom :  | Permet d'agrandir la zone sélectionnée du graphique. Cliquez sur le bouton « Default Scale » (Échelle par défaut) pour la réduire. |

## 9 Procédures de maintenance

Il est facile d'entretenir les performances de fonctionnement du Rotor-Gene Q MDx. Pour entretenir les performances optiques, veillez à la propreté des lentilles situées au niveau des sources d'émission et de détection. Pour ce faire, passez délicatement sur les lentilles avec un coton-tige imprégné d'éthanol ou \* d'isopropanol.

**Remarque :** Nettoyez les lentilles au moins une fois par mois, selon l'utilisation. Nettoyez la chambre du rotor en même temps.

Laissez la paille propre et sans poussières ni feuilles de papier. L'entrée d'air du Rotor-Gene Q MDx se trouve sur la partie inférieure et des résidus, tels que le papier ou la poussière, peuvent compromettre les performances.



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

\* Lors de la manipulation de produits chimiques, portez toujours un sarrau 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 du produit.

## Procédures de maintenance

---

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

## 10 Vérification de la température optique

La vérification de la température optique (Optical Temperature Verification, OTV) est une méthode qui permet de vérifier la température interne des tubes du Rotor-Gene Q MDx. La validation de la température interne des tubes peut être une procédure importante dans les laboratoires agréés. L'OTV est réalisée à l'aide d'une trousse Rotor-Disc OTV Kit (voir en Annexe C). Dans le présent document, seule une brève introduction au principe de l'OTV est fournie. La procédure d'OTV est expliquée dans le logiciel Rotor-Gene Q. Pour une description plus détaillée de la procédure d'OTV, ainsi qu'un guide de dépannage, reportez-vous au *Manuel Rotor-Disc OTV*.

### 10.1 Principe de l'OTV

L'OTV utilise les propriétés optiques de 3 cristaux liquides thermochromiques (Thermochromatic liquid crystal, TLC)\* comme références de température absolues. Lorsqu'ils sont chauffés, les TLC opaques deviennent transparents à des températures très précises (50 °C, 75 °C et 90 °C). Les TLC ne sont eux-mêmes pas fluorescents. Il est donc nécessaire de recouvrir la source d'excitation d'un insert fluorescent de sorte que les points de transition des TLC puissent être détectés par le système optique du Rotor-Gene Q MDx. Les TLC en deçà de leur température de transition sont opaques et reflètent la lumière. Une partie de la lumière reflétée se diffuse jusqu'au détecteur, ce qui augmente la fluorescence. Lorsque la température interne des tubes atteint le point de transition des TLC, les TLC deviennent transparents et la lumière traverse l'échantillon au lieu d'être reflétée vers le détecteur, cela entraîne une diminution de la fluorescence. Le changement de fluorescence permet de déterminer la température de transition précise de chaque TLC. La température de transition est comparée à la température figurant dans le fichier d'étalonnage d'usine pour le Rotor-Disc

\* Lors de la manipulation de produits chimiques, portez toujours un sarrau 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 du produit.

OTV afin de vérifier si le Rotor-Gene Q MDx est bien dans les spécifications de température.

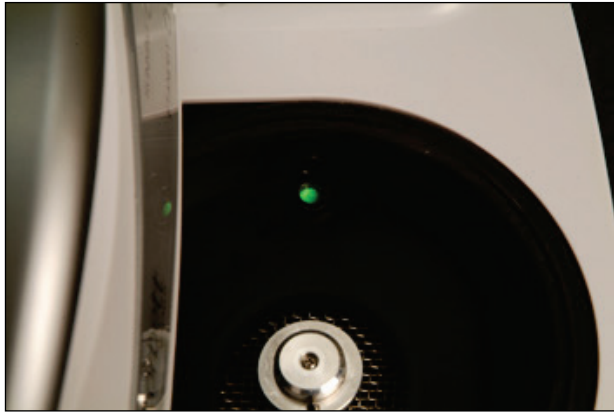
### 10.2 Composants du Rotor-Disc OTV Kit

Les composants suivants sont nécessaires pour réaliser une OTV :

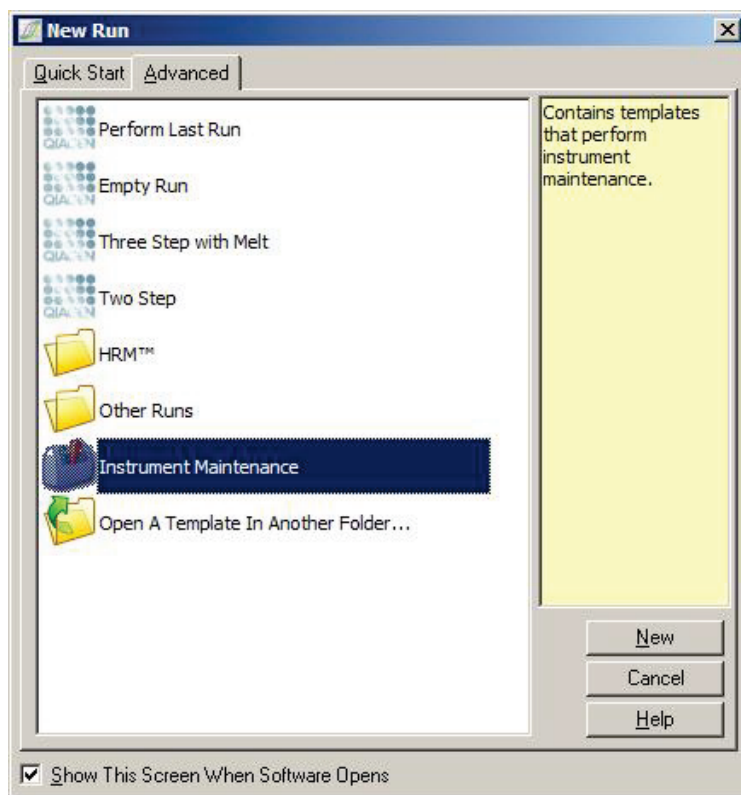
- Une trousse Rotor-Disc OTV Kit, qui comprend :
  - Rotor OTV étanche Rotor-Disc 72 (qui contient les TLC)
  - Insert fluorescent de plaque diffusante (instrument Rotor-Gene 3000 ou instruments Rotor-Gene Q/6000)
  - CD contenant les fichiers suivants : Fichier de numéro de série et date d'expiration du rotor OTV (\*.txt); fichier de modèle de test OTV (\*.ret); fiche produit (\*.pdf); fichier d'étalonnage d'usine (\*.rex)
  - Fiche produit
- Logiciel Rotor-Gene version 1.7 ou supérieure, qui contient l'assistant du rotor OTV facile à utiliser
- Rotor-Disc 72 Rotor
- Rotor-Disc 72 Locking Ring

### 10.3 Réalisation d'une OTV

1. Placez l'insert fluorescent sur la lentille d'émission dans la partie inférieure de la chambre du Rotor-Gene Q MDx.
2. Placez l'OTV Rotor-Disc dans un Rotor-Disc 72 Rotor. Stabilisez l'ensemble avec un Rotor-Disc 72 Locking Ring. Encliquez l'ensemble dans le Rotor-Gene Q MDx. Fermez le capot du Rotor-Gene Q MDx.

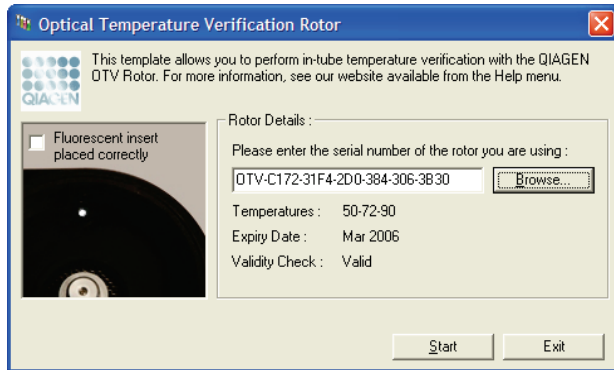


3. Ouvrez l'assistant avancé en sélectionnant l'onglet « Advanced » (Avancé) dans la fenêtre « New Run » (Nouveau cycle d'exécution). Dans l'assistant avancé, cliquez sur « Instrument maintenance » (Maintenance de l'instrument) puis sur « OTV ».

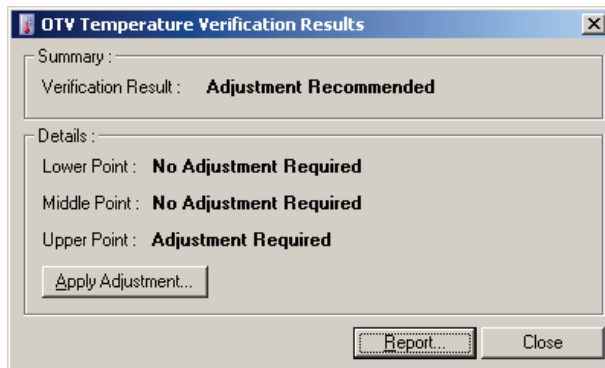




4. L'assistant vous invite à saisir le numéro de série d'OTV. Ce numéro figure sur l'étiquette du OTV Rotor-Disc ou vous pouvez l'importer à partir du CD en cliquant sur « Browse » (Parcourir) puis en choisissant le fichier \*.otv. Une fois le numéro saisi, cliquez sur « Start » (Démarrer).



5. Le logiciel vous demande un nom de fichier pour le cycle d'exécution. Ce dernier commence.
6. Le cycle d'exécution lance une série de fusions qui déterminent les caractéristiques thermiques du Rotor-Gene Q MDx.



7. Au terme du cycle d'exécution, le logiciel indique si les spécifications du Rotor-Gene Q MDx sont correctes.

## Vérification de la température optique

---

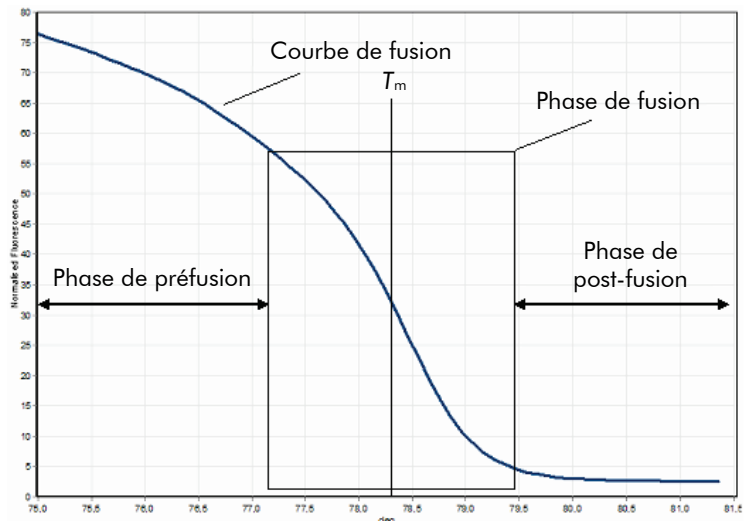
8. Si un ajustement est requis, vous devez cliquer sur « Apply Adjustment » (Appliquer un ajustement). Vous êtes alors invité à effectuer une vérification. Une fois cette vérification terminée, plus aucun ajustement ne doit être nécessaire. Si un ajustement supplémentaire vous est demandé, contactez votre distributeur.
9. Si les spécifications du Rotor-Gene Q MDx sont correctes, vous pouvez vérifier et imprimer un rapport du cycle d'exécution.

Cette page est intentionnellement laissée vierge



# 11 Analyse de fusion haute résolution

L'analyse de fusion haute résolution (High resolution melt, HRM) est une technique innovante basée sur une analyse de fusion de l'ADN. La HRM caractérise les échantillons d'ADN selon 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 collecte les signaux de fluorescence avec une précision optique et thermique extrême, créant ainsi de nombreuses possibilités d'applications.



**Tracé de HRM type.** La courbe de fusion illustre la transition entre la fluorescence élevée de la phase de préfusion initiale et le niveau de base de la fluorescence dans la phase de post-fusion, en passant par la diminution de la fluorescence dans la phase de fusion. La fluorescence diminue au fur et à mesure de la libération du colorant intercalant de l'ADN par l'ADNdb lorsqu'il se divise en brins individuels. 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 de procéder à une analyse HRM, vous devez amplifier la séquence cible à un nombre de copies élevé. Pour cela, vous pouvez utiliser la 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 très fluorescent une fois intercalé. Vous pouvez utiliser la variation de fluorescence pour mesurer l'augmentation de la concentration en ADN au cours de la PCR puis pour mesurer directement la fusion thermique de l'ADN par HRM. Au cours de la HRM, la fluorescence est élevée au début parce que l'échantillon commence en tant qu'ADNdb. Puis la fluorescence diminue avec l'augmentation de la température et l'ADN se divise en brins individuels. Le comportement de fusion observé est caractéristique d'un échantillon d'ADN particulier.

Avec la HRM, le Rotor-Gene Q MDx peut caractériser des échantillons d'après la longueur de la séquence, le taux de GC et la complémentarité de la séquence d'ADN. La HRM peut être utilisée dans les applications de génotypage, comme l'analyse des insertions/délétions ou les polymorphismes mononucléotidiques (Single nucleotide polymorphism, SNP), ou pour rechercher des mutations génétiques inconnues. Elle peut aussi être utilisée dans les applications épigénétiques pour la détection et l'analyse du statut de méthylation de l'ADN. Elle peut également permettre la détection quantitative d'une petite partie du variant d'ADN dans un bruit de fond de séquence de type sauvage à des sensibilités proches de 5 %. Cela peut être utile, par exemple, pour étudier les mutations somatiques acquises ou les variations du statut de méthylation des îlots CpG.

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

- Identification de gènes candidats de prédisposition
- Études d'association (comparant des cas et des contrôles, un génotype et un phénotype)
- Détermination de la prévalence allélique dans une population ou un sous-groupe
- Dépistage et validation des SNP
- Dépistage de la perte d'hétérozygosité
- Identification génétique
- Caractérisation des blocs haplotypiques
- Analyse de méthylation de l'ADN
- Cartographie génétique

- Identification d'espèces
- Découverte de mutations
- Détermination de la proportion de mutations somatiques acquises
- Typage HLA

La HRM est plus simple et moins onéreuse que les dosages de génotypage avec sondes et, contrairement aux méthodes traditionnelles, il s'agit d'un système à tube fermé qui empêche toute contamination avec les produits de la PCR. Les résultats sont comparables avec les méthodes traditionnelles telles que le polymorphisme de conformation de l'ADN simple brin (Single strand conformation polymorphism, SSCP), la chromatographie liquide haute performance sur gel dénaturant (Denaturing high performance liquid chromatography, DHPLC), le polymorphisme de restriction (Restriction fragment length polymorphism, RFLP) et le séquençage d'ADN.\*

### 11.1 Instruments

Le Rotor-Gene Q MDx offre des capacités avancées thermo-optiques en temps réel, requises pour la HRM.

- Éclairage haute intensité
- Détection optique haute sensibilité
- Acquisition des données rapide
- Contrôle précis de la température des échantillons
- Variation thermique et optique minimale d'un échantillon à l'autre

### 11.2 Consignes pour une analyse HRM réussie

La réussite d'une analyse HRM dépend en grande partie de la séquence étudiée. Certains motifs de séquence, tels que les boucles en épingle à cheveux ou autres structures secondaires, les régions localisées de taux de GC anormalement élevé ou faible ou les séquences répétées, peuvent avoir une incidence sur les résultats. En outre, l'utilisation des trousseaux standardisés et des protocoles optimisés de QIAGEN peut

\* Disponible uniquement dans certains pays.

résoudre bon nombre des problèmes potentiels mentionnés. Quelques consignes simples vous sont fournies ci-après pour réussir l'analyse.

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

Analysez des fragments qui ne dépassent pas 250 pb environ. Vous pouvez analyser des fragments plus volumineux mais cela implique généralement une résolution inférieure. Par exemple, une variation d'une seule base a un effet supérieur sur le comportement de fusion d'un amplicon de 100 pb par rapport à un amplicon de 500 pb.

### **Veiller à ce que la PCR contienne uniquement le produit spécifique**

Les échantillons contaminés par des artefacts post-PCR, tels que les dimères d'amorces ou les produits non spécifiques, peuvent compliquer l'interprétation des résultats de la HRM. Les trousseaux QIAGEN pour l'analyse HRM assurent une spécificité maximale sans optimisation requise.

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

L'analyse de données de real-time PCR peut être très utile pour le dépannage des analyses HRM. Les tracés d'amplification doivent présenter un  $C_T$  (cycle seuil) inférieur ou égal à 30 cycles. Les produits qui amplifient au-delà de ce seuil (à cause d'une matrice de départ peu importante ou d'une dégradation de la matrice) donnent habituellement des résultats de HRM variables en raison 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 afin que tous les tracés d'amplification soient à moins de 3  $C_T$  l'un de l'autre. Cela vous garantit que les concentrations saisies restent dans une plage  $\times 10$ .



### **Vérifier les tracés d'amplification aberrants**

Avant de réaliser une HRM, examinez attentivement les données du tracé d'amplification pour détecter une forme d'amplification anormale. Les tracés présentant une phase log-linéaire qui n'est pas nette, qui est irrégulière ou qui atteint un palier de signal faible par rapport à d'autres réactions, peuvent indiquer une amplification médiocre ou un signal de fluorescence trop faible (cela arrive p. ex. si la concentration en amorce était trop basse). Les réactions de mauvaise qualité peuvent être dues à des inhibiteurs ou à une préparation incorrecte de la réaction. Les données de HRM de tels échantillons peuvent être non concluantes ou de faible résolution. Pour éviter les résultats non fiables, nous recommandons les troussees QIAGEN pour la préparation des échantillons et l'analyse HRM.

### **Maintenir des concentrations d'échantillons post-amplification similaires**

La concentration d'un fragment d'ADN affecte sa température de fusion ( $T_m$ ). C'est pourquoi les concentrations en ADN des échantillons doivent rester aussi similaires que possible. Lorsque vous analysez les produits de la PCR, veillez à ce que chaque réaction amplifie jusqu'à la phase de palier. Au palier, toutes les réactions auront amplifié d'une manière similaire, peu importe la quantité de départ. Notez cependant que les réactions de mauvaise qualité peuvent ne pas atteindre le palier avec la même quantité amplifiée en raison, par exemple, d'une configuration de l'analyse incorrecte (p. ex. la concentration en amorce était trop faible).

### **Garantir l'uniformité d'un échantillon à l'autre**

Tous les échantillons doivent présenter un volume identique et contenir la même concentration de colorant. Les sels du mélange réactionnel ont une incidence sur le comportement de fusion de l'ADN, 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 les tubes de réaction d'un même fabricant pour éviter les

différences dues à l'épaisseur du plastique et aux propriétés d'autofluorescence.

### **Prévoir une collecte de données suffisante pour les phases de préfusion et post-fusion**

Capturez des points de données HRM sur une plage d'environ 10 °C, centrée autour de la  $T_m$  observée (voir la figure page 11-1). Cela donne des points de données de base suffisants pour une normalisation efficace de la courbe, et cela permet des réplicats plus reproductibles et une interprétation des données plus facile.

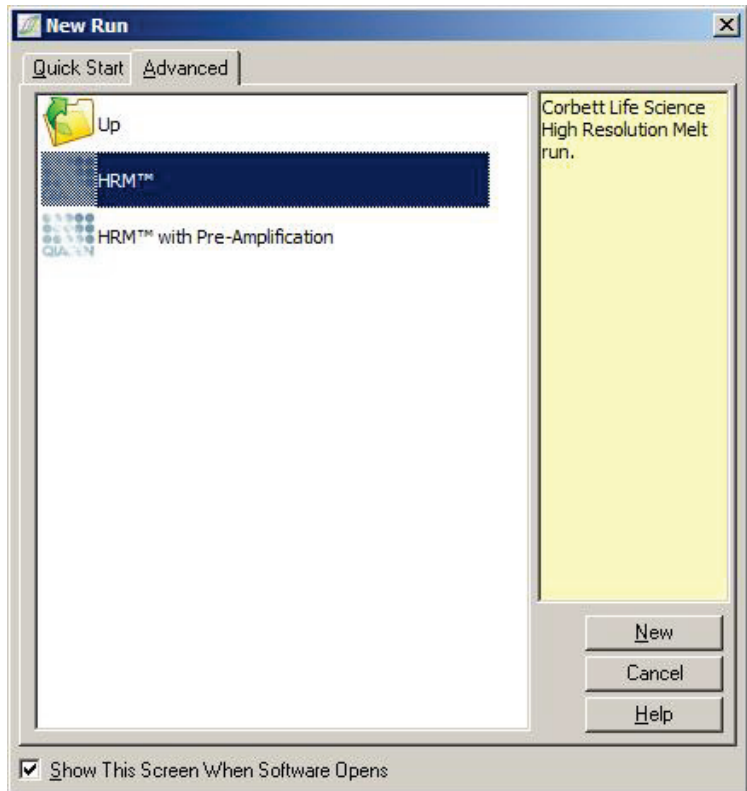
## **11.3 Préparation des échantillons**

Vous devez éviter la dégradation des échantillons au cours de la purification et de la conservation. Évitez les quantités excessives d'inhibiteurs, comme ceux issus d'un transfert d'éthanol. Pour améliorer les résultats de la HRM, nous recommandons de maintenir une quantité de matrice utilisée constante entre les échantillons. L'analyse spectrophotométrique pour déterminer la concentration en ADN et la pureté est recommandée. Nous recommandons les troussees QIAGEN pour la préparation des échantillons.

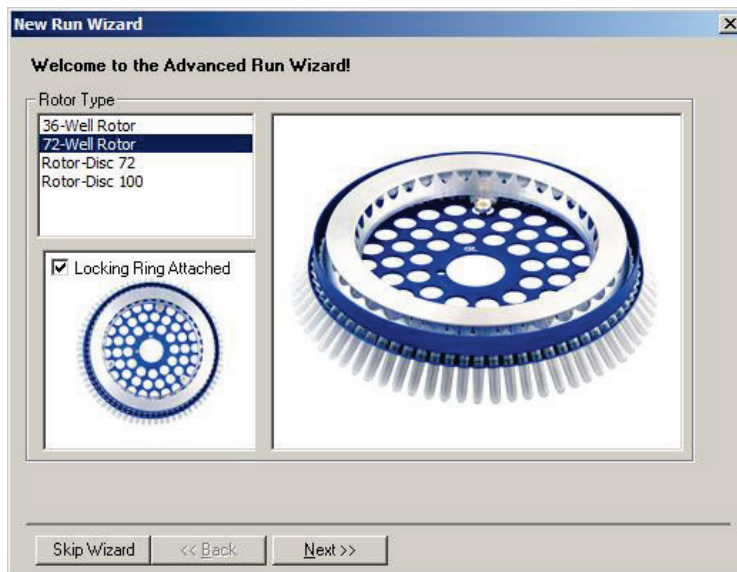
**Remarque :** À 260 nm, une unité d'absorbance est égale à 50 µg/ml d'ADN. L'ADN pur donne un ratio de 1,8 de 260 nm à 280 nm.

## 11.4 Configuration du logiciel

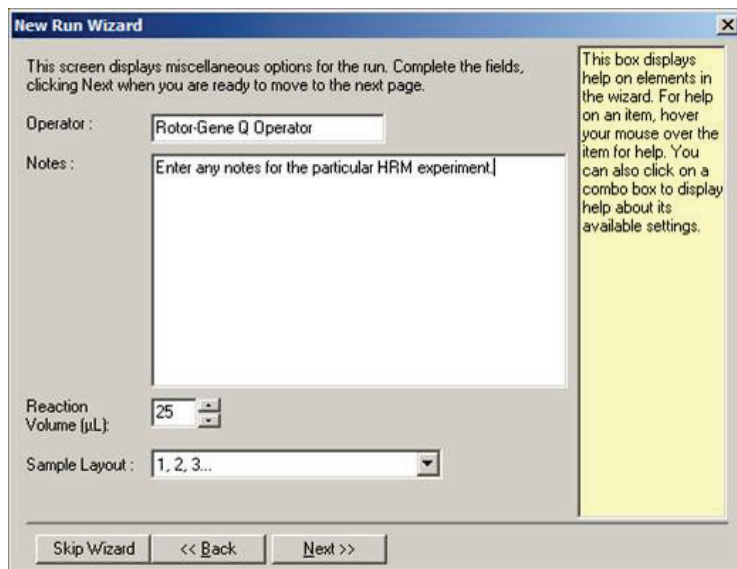
1. Ouvrez un nouveau fichier de cycle d'exécution en sélectionnant « New... » (Nouveau...) dans le menu File (Fichier). Dans l'assistant avancé, sélectionnez « HRM ».



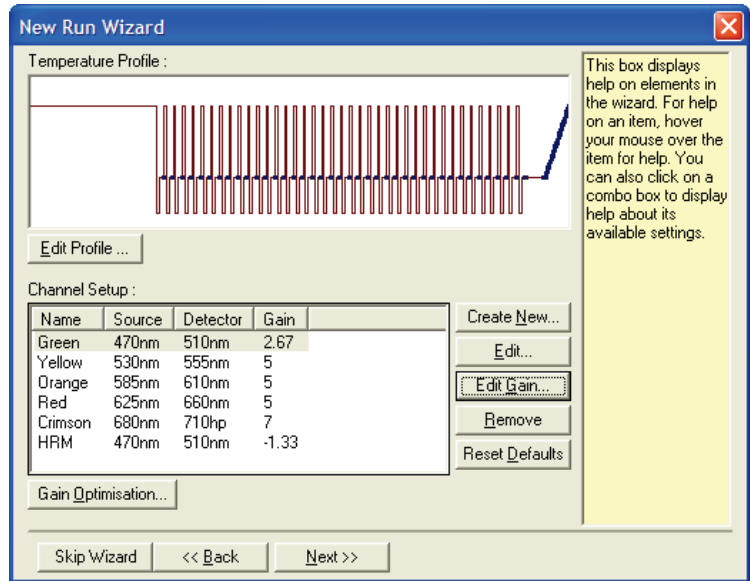
2. Définissez le type de rotor (dans cet exemple, le 72-Well Rotor est utilisé). Veillez à ce que l'anneau de verrouillage soit en place et la case « Locking Ring Attached » (Anneau de verrouillage posé) cochée avant de passer à l'étape suivante.



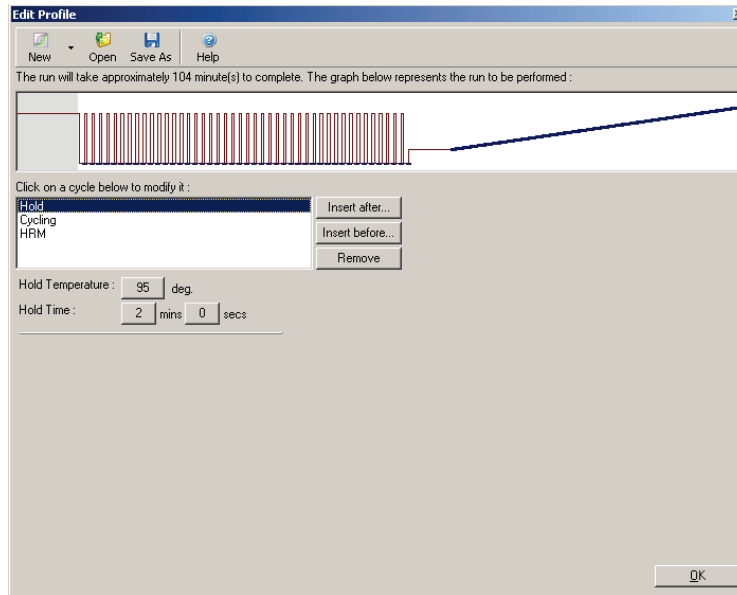
3. Définissez les détails du cycle d'exécution. Saisissez le nom de l'opérateur (facultatif) puis ajoutez des remarques sur l'expérience (facultatif). Sélectionnez le volume réactionnel (requis) ainsi que la disposition des échantillons souhaitée.



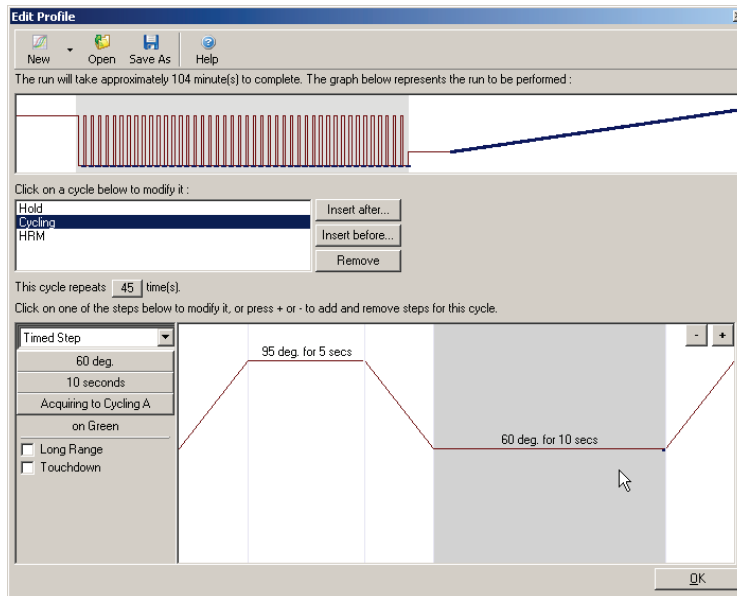
4. Cliquez sur le bouton « Edit Profile... » (Modifier le profil...) pour modifier les durées et les températures de la réaction.



5. Définissez une durée de maintien initiale adaptée. Cette durée dépend du type d'ADN polymérase utilisé.



6. Modifiez le cycle pour correspondre à l'amplicon.



7. Veillez à acquérir les données de fluorescence. Acquérez les données sur le canal vert à la fin de l'étape de renaturation.

**Acquisition**

Same as Previous : (New Acquisition)

Acquisition Configuration :

| Available Channels : <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 80%;">Name</th> <th style="width: 20%;"></th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Crimson</td><td></td></tr> <tr><td>HRM</td><td></td></tr> <tr><td>Orange</td><td></td></tr> <tr><td>Red</td><td></td></tr> <tr style="background-color: #e0e0e0;"><td>Yellow</td><td></td></tr> </tbody> </table> | Name |  | Crimson |  | HRM |  | Orange |  | Red |  | Yellow |  | ><br><<br><< | Acquiring Channels : <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 80%;">Name</th> <th style="width: 20%;"></th> </tr> </thead> <tbody> <tr style="background-color: #e0e0e0;"><td>Green</td><td></td></tr> </tbody> </table> | Name |  | Green |  |
|---|------|--|---------|--|-----|--|--------|--|-----|--|--------|--|--------------|---|------|--|-------|--|
| Name  |      |  |         |  |     |  |        |  |     |  |        |  |              |   |      |  |       |  |
| Crimson   |      |  |         |  |     |  |        |  |     |  |        |  |              |   |      |  |       |  |
| HRM   |      |  |         |  |     |  |        |  |     |  |        |  |              |   |      |  |       |  |
| Orange  |      |  |         |  |     |  |        |  |     |  |        |  |              |   |      |  |       |  |
| Red   |      |  |         |  |     |  |        |  |     |  |        |  |              |   |      |  |       |  |
| Yellow  |      |  |         |  |     |  |        |  |     |  |        |  |              |   |      |  |       |  |
| Name  |      |  |         |  |     |  |        |  |     |  |        |  |              |   |      |  |       |  |
| Green   |      |  |         |  |     |  |        |  |     |  |        |  |              |   |      |  |       |  |

To acquire from a channel, select it from the list in the left and click >. To stop acquiring from a channel, select it in the right-hand list and click <. To remove all acquisitions, click <<.

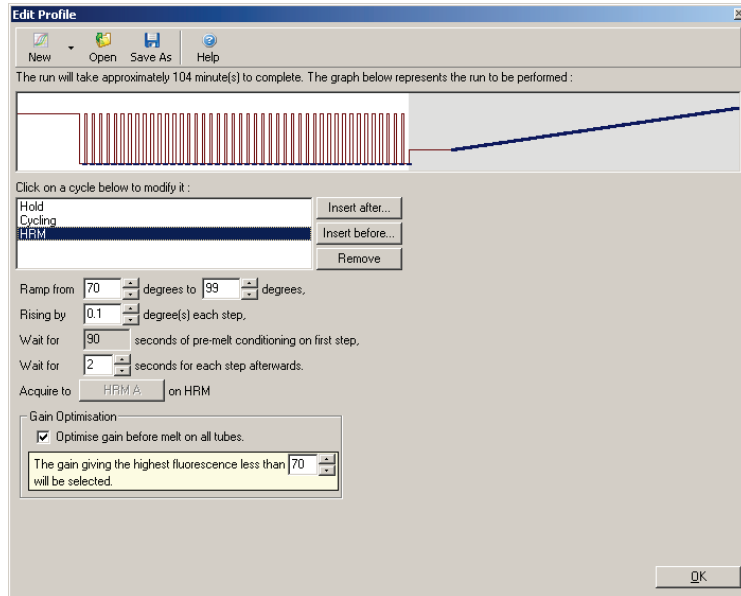
Dye Chart >>
OK
Don't Acquire
Help

**Dye Channel Selection Chart**

| Channel | Source | Detector | Dyes  |
|---------|--------|----------|---|
| Green   | 470nm  | 510nm    | FAM, SybrGreen <sup>®</sup> , alexa488  |
| Yellow  | 530nm  | 555nm    | JOE, CalGold <sup>®</sup> , CalOrange <sup>®</sup> , TET, Yakima Yellow, VIC <sup>®</sup> , HEX, alexa532 |
| Orange  | 585nm  | 610nm    | ROX, Redmond Red <sup>®</sup> , alexa568  |
| Red     | 625nm  | 660nm    | Cy5, Quasar670 <sup>®</sup> , LCRed640 <sup>®</sup>   |
| Crimson | 680nm  | 710hp    | Quasar705 <sup>®</sup> , LCRed705 <sup>®</sup> , alexa680   |
| HRM     | 460nm  | 510nm    | LCGreen <sup>®</sup>  |

8. Définissez les conditions d'exécution de la HRM. Modifiez les conditions pour correspondre à l'amplicon. Prévoyez une large plage de fusion pour la première série d'expériences. Aidez-vous de la  $T_m$  théorique pour déterminer une plage adaptée. Une fois que vous avez déterminé où le produit sera en fusion, réduisez la plage de fusion à 10 °C maximum. Veillez à ce que le début de la fusion survienne 5 °C avant la première transition de la fusion. L'augmentation par défaut est définie à 0,1 °C avec un maintien de 2 secondes à chaque étape. La transition d'augmentation minimale est de 0,05 °C avec un maintien d'une seconde à chaque étape. Les données sont automatiquement acquises sur le canal HRM. « Auto-Gain Optimisation » (Optimisation du gain automatique) est effectuée par défaut. Le logiciel recherche le paramètre de gain optimal pour que la

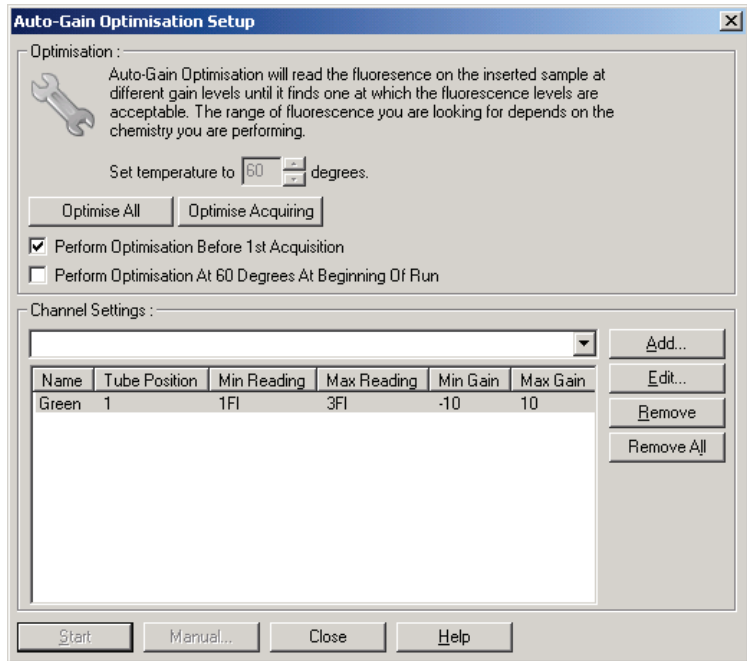
valeur de fluorescence maximale rapportée ne soit pas supérieure à 70 unités sur une échelle de 100. Notez que vous pouvez l'augmenter jusqu'à un maximum de 100.



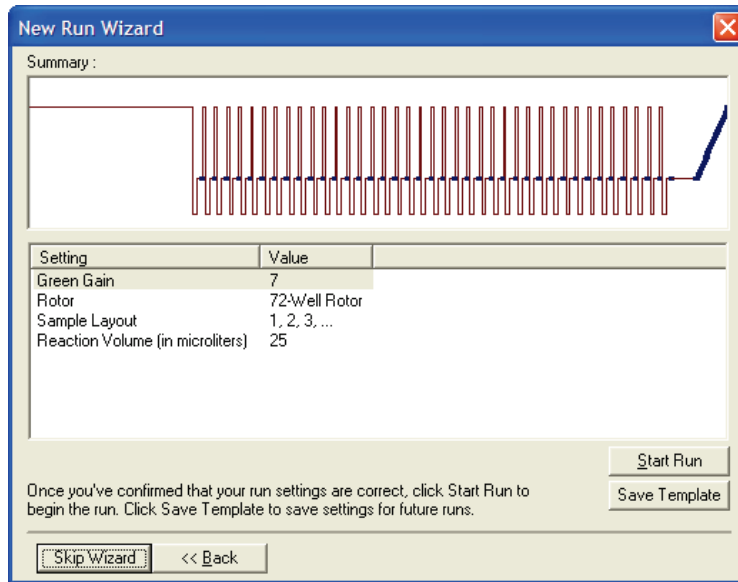
9. Facultatif : Définissez la Auto-Gain Optimisation (Optimisation du gain automatique). Elle ne s'applique qu'à l'étape d'amplification en temps réel et est définie pour le canal vert. Cliquez sur le bouton « Optimize Acquiring » (Optimiser l'acquisition) (pour optimiser uniquement les canaux utilisés par un cycle d'exécution). Le mieux est d'effectuer l'optimisation juste avant la première étape d'acquisition, cochez pour cela la case « Perform Optimization Before First Acquisition » (Effectuer l'optimisation avant la première acquisition). La plage de fluorescence de bruit de fond recommandée pour les colorants intercalants va de 1 à 3 unités de fluorescence. Pour modifier ce paramètre, cliquez sur le nom du canal



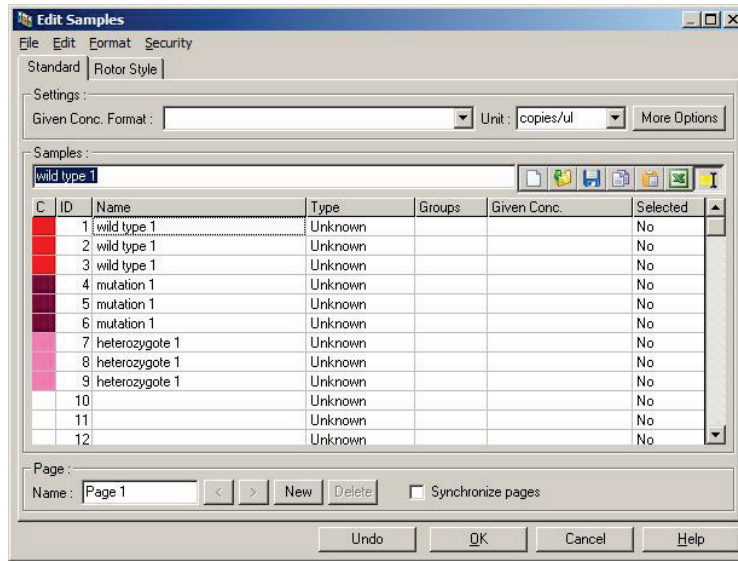
pour le sélectionner dans la liste puis cliquez sur le bouton « Edit » (Modifier).



10. Lancez le cycle d'exécution en cliquant sur « Start Run » (Démarrer le cycle d'exécution) puis enregistrez le fichier du cycle sur votre ordinateur.



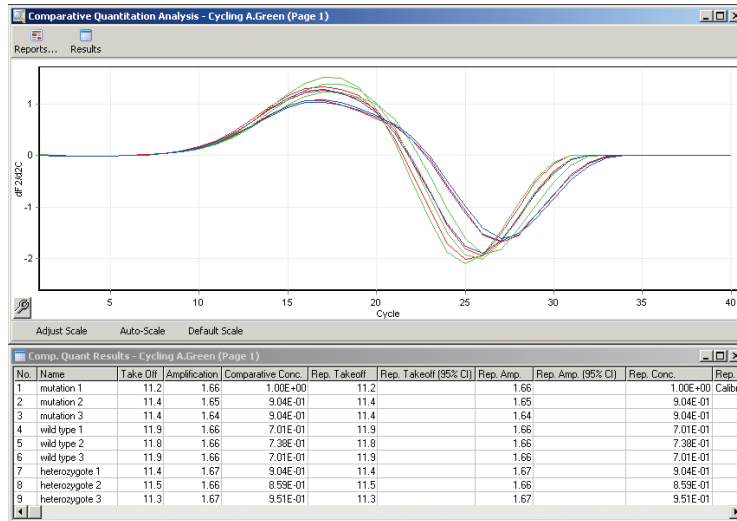
11. Modifiez les noms des échantillons (facultatif). Vous pouvez modifier les noms des échantillons pendant ou après un cycle d'exécution.



## 11.5 Analyse des données de real-time PCR

L'analyse des données de real-time PCR avant celle des données HRM présente un avantage. Les données de real-time PCR peuvent mettre en évidence les dosages mal effectués. L'identification de ces aberrations et leur élimination de l'analyse HRM suivante améliorera nettement l'efficacité globale de l'analyse HRM, car l'analyse d'un produit de la PCR de qualité médiocre donnera des résultats de HRM médiocres. Nous 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 des valeurs de  $C_T$  sont d'au moins 30, les réactions correspondantes sont considérées comme ayant amplifié trop tard. Ces échantillons doivent être analysés avec méfiance ou retirés de l'analyse en tant qu'aberrations. L'amplification tardive est généralement due à une quantité de matrice de départ insuffisante 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, retirez 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 colorants, des niveaux incorrects de composants de la réaction (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 semblable à d'autres réactions de l'expérience ou est inférieure à 1,4 environ, écarterez la réaction en tant qu'aberration.



**Résultats de la quantification comparative.** L'efficacité de la réaction apparaît dans la colonne « Amplification » comme score sur 2 (2 = efficacité de 100 %).

**Remarque :** Si vous suspectez la présence de dimère d'amorces ou de produits non spécifiques, évaluez les réactions en délimitant un tracé dérivé à l'aide de l'option « Melt » (Fusion) dans la fenêtre « Analysis » (Analyse). Assurez-vous qu'il n'y a qu'un seul pic, indiquant un seul produit. Analysez si possible un gel pour vérifier qu'il y a un seul produit d'amplification. S'il y a plusieurs produits, la réaction doit être répétée ou de nouveau optimisée.

## 11.6 Analyse des données HRM

L'analyse HRM permet l'appel visuel et automatique de génotypes. Les résultats peuvent être visualisés sous forme de tracé de fusion normalisé ou de tracé de différence. Les courbes normalisées donnent une représentation de base des différents génotypes d'après le décalage de la courbe (pour les homozygotes) et le changement de forme de la courbe (pour les hétérozygotes).

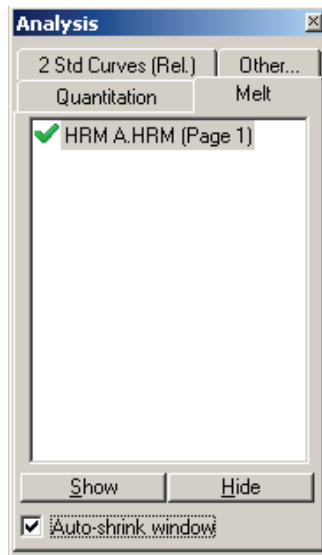
Les tracés de différence constituent une aide à l'interprétation visuelle. Ils représentent la différence de fluorescence d'un

échantillon par rapport à un contrôle sélectionné à chaque transition de température. Les tracés de différence donnent une autre vue des différences entre les transitions des courbes de fusion.

**Remarque :** L'analyse de la courbe de fusion du premier dérivé (utilisée par l'option standard « Melt » [Fusion] dans la fenêtre « Analysis » [Analyse]) est considérée comme inadaptée pour l'analyse HRM. La raison est que tout écart de données ajoute un bruit artificiel et complique l'interprétation des données.

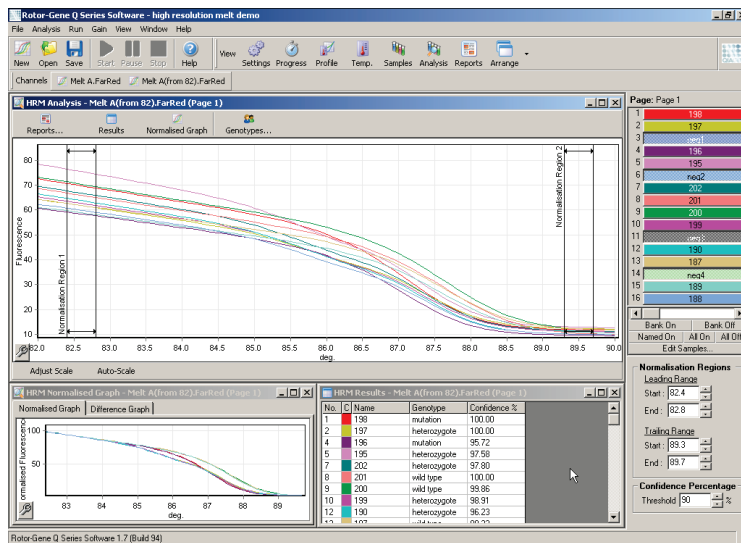
Les étapes suivantes décrivent l'analyse des résultats de HRM avec le logiciel Rotor-Gene Q.

1. Sélectionnez l'option « HRM » dans la fenêtre « Analysis » (Analyse).



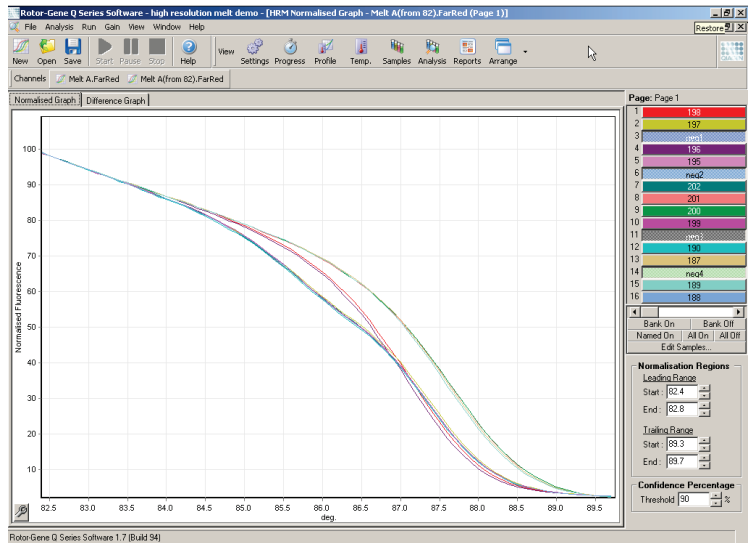
2. La fenêtre s'ouvre, affichant les données brutes, le graphique normalisé et les résultats. La fenêtre des données brutes permet d'ajuster les régions de normalisation. La normalisation permet de comparer toutes les courbes avec le même niveau de signal de fluorescence de début et de fin afin de faciliter l'interprétation et l'analyse. Deux curseurs par région

apparaissent, par défaut à l'extrémité de la courbe. Les données dans les régions permettent de normaliser la fluorescence (axe des ordonnées uniquement) pour le début (Région 1) et la fin (Région 2) du tracé de fusion. Les données extérieures aux régions définies sont ignorées. Ajustez les régions pour qu'elles englobent les données de base représentatives des phases de préfusion et de post-fusion. Élargissez les régions (en cliquant et en faisant glisser) pour que le logiciel ajuste la pente de la ligne de base. Pour garantir la normalisation des courbes, n'élargissez pas les régions de normalisation pendant la phase de fusion.

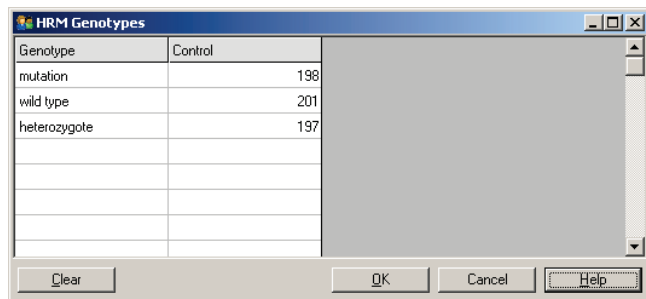


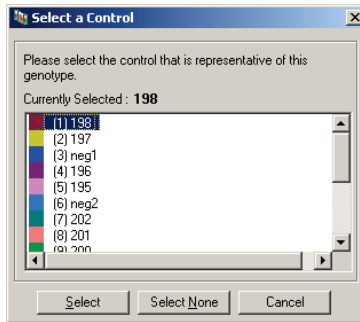
**Remarque :** Nous vous recommandons de déplacer les curseurs uniquement si vous voulez éviter des zones de la courbe de fusion. Le déplacement des curseurs au moment des transitions de la phase de fusion peut affecter les tracés de soustraction et les pourcentages de confiance.

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.

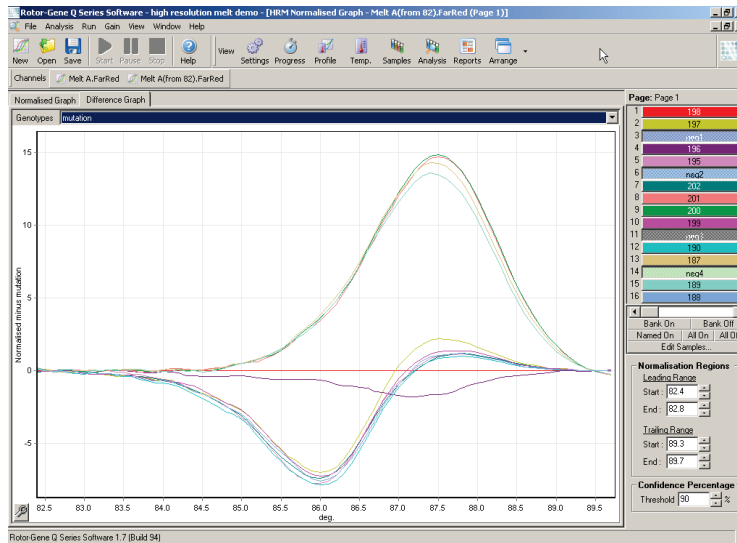


4. Cliquez sur le bouton « Genotypes... » (Génotypes...) pour définir les génotypes. Saisissez chaque nom de catégorie de génotype puis sélectionnez un échantillon représentatif pour chaque échantillon de la liste.





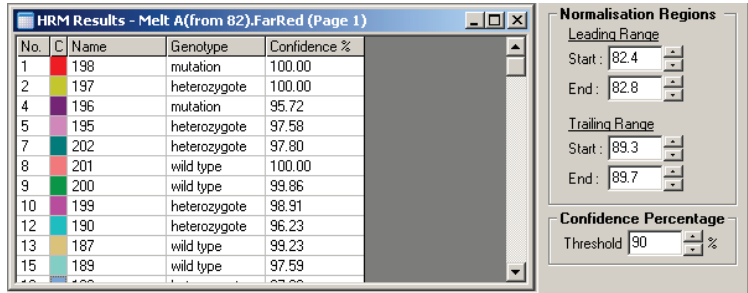
5. Affichez le tracé des différences en sélectionnant l'onglet « Difference Graph » (Graphique des différences). Sélectionnez ensuite le génotype auquel vous voulez comparer tous les autres échantillons à l'aide du menu déroulant en haut de la fenêtre. Dans l'exemple illustré, tous les échantillons sont représentés issus d'un tracé moyen de tous les échantillons marqués « Mutation 1 ».



6. Le logiciel appellera automatiquement les génotypes dans la fenêtre « Results » (Résultats). Une valeur de confiance est fournie comme garantie de l'intégrité des résultats appelés automatiquement. La valeur seuil, au-dessus de laquelle les appels automatiques sont effectués, est



modifiable. Les échantillons en deçà du seuil défini sont marqués comme variation, ils seront analysés plus avant ou de nouveau testés.



The screenshot displays the 'HRM Results - Melt A(from 82).FarRed (Page 1)' window. It features a table with columns for 'No.', 'C', 'Name', 'Genotype', and 'Confidence %'. To the right of the table is a control panel with sections for 'Normalisation Regions' (including 'Leading Range' and 'Trailing Range') and 'Confidence Percentage' (with a '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    | 99.23        |
| 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 %

Cette page est intentionnellement laissée vierge

## 12 Dépannage

### 12.1 Archives des journaux

Le logiciel conserve une copie intacte de chaque cycle d'exécution, ainsi que des informations de diagnostic, dans le dépôt d'archives des journaux. En utilisant l'option Help (Aide), Send Support Email (Envoyer un courriel de support), vous pouvez adresser un courriel contenant toutes les informations de diagnostic nécessaires aux services techniques de QIAGEN (voir la section 7.12.1).

Pour économiser de l'espace disque, seules les archives des journaux des 60 cycles d'exécution les plus récents sont conservées. Les archives des journaux plus anciennes sont écrasées par la création de nouvelles archives.

### 12.2 Dépannage HRM

#### Commentaires et suggestions

---

##### Impossible d'exécuter la HRM

Le modèle de Rotor-Gene Q MDx n'est pas équipé pour la HRM

Contactez un représentant QIAGEN local.

##### Pas de données HRM obtenues

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 correctement préparée.

Effectuez une expérience à contrôle positif (dosage connu pour donner des résultats).

### Commentaires et suggestions

---

#### Les tracés semblent irréguliers

Amplification médiocre ou nulle

Vérifiez si les protocoles et les réactifs utilisés sont les bons. Nous recommandons les troussees QIAGEN pour l'analyse HRM.

Vérifiez si la réaction a été correctement préparée.

Vérifiez les conditions de cycle.

Vérifiez la qualité et la quantité de départ de la matrice. Nous recommandons les troussees QIAGEN pour la préparation des échantillons.

#### Les tracés d'amplification ou de fusion sont saturés

Gain défini trop haut

Utilisez la « Auto-Gain Optimisation » (Optimisation du gain automatique (voir page 6-24)).

#### Les pourcentages de confiance ont changé

Les régions de normalisation ont été déplacées par cliquer-glisser

Déplacez les régions de normalisation seulement si nécessaire pour éviter des zones de la courbe de fusion.

#### Aberrations dans les données

Préparation de la réaction incorrecte

Vérifiez si les réactifs utilisés sont les bons.

Inhibiteurs présents dans l'échantillon

Vérifiez que les tubes utilisés sont uniformes.

Matrice insuffisante ou dégradée

Vérifiez qu'un même mélange principal a été utilisé pour tous les échantillons.

Vérifiez la qualité et la quantité de départ de la matrice.

## **12.3 Erreurs générales liées aux instruments**

### Message d'erreur

### Commentaires et suggestions

---

Can't open the serial port  
<COMPORT> (Impossible  
d'ouvrir le port série  
<PORT COM>)

Cette erreur survient au démarrage du logiciel si ce dernier ne parvient pas à communiquer avec l'instrument par le port COM configuré. Elle est généralement due à des câbles défectueux, des câbles lâches, des ports série défectueux, des ports USB défectueux, un problème de pilote USB ou un problème de pilote du convertisseur USB-série.

Reconnectez ou remplacez le câble. Réinstallez les pilotes concernés. 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.

Chamber Lid Open  
(Capot de la chambre ouvert)

Could not continue run; the  
chamber lid was opened  
during a run (Impossible  
de poursuivre le cycle  
d'exécution, le capot de  
la chambre a été ouvert en  
cours de cycle). Please reset  
the machine, and restart the  
software (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.

**Message d'erreur****Commentaires et suggestions**

Chamber Lid Open (Capot de la chambre ouvert)

The instrument chamber lid is open (Le capot de la chambre de l'instrument est ouvert). Please close the lid and then click Continue (Fermez le capot puis cliquez sur Continuer).

Cette erreur survient lorsque l'utilisateur tente 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 « Continuer » (Continuer).

Communication Corrupted (Communication corrompue)

Cette erreur survient lorsque les données provenant de l'instrument ne sont pas conformes au schéma prévu.

Un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN doit diagnostiquer le problème au niveau de l'instrument.

Veillez contacter votre distributeur ou les services techniques de QIAGEN.

Communication Out Sequence (Communication dans le désordre)

Instrument has received data from the machine that is out of sequence (L'instrument a reçu de la machine des données dans le désordre).

Cette erreur survient lorsque les données provenant de l'instrument ne sont pas dans le bon ordre.

Un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN doit diagnostiquer le problème au niveau de l'instrument.

Veillez contacter votre distributeur ou les services techniques de QIAGEN.

### Message d'erreur

### Commentaires et suggestions

---

Communication Protocol Error (Erreur de protocole de communication)

A communication protocol error occurred with this run (Une erreur de protocole de communication est survenue pendant ce cycle d'exécution).

Detector motor jam, stopped machine (Blocage moteur du détecteur, machine à l'arrêt)

Fatal Hardware Malfunction (Dysfonctionnement matériel fatal)

The instrument detected that there was a fatal hardware malfunction (L'instrument a détecté un dysfonctionnement matériel fatal). Do not attempt to re-use the machine until the machine has been serviced by your distributor (N'utilisez plus la machine tant qu'elle n'a pas été réparée par votre distributeur).

Cette erreur survient lorsque le protocole de communication configuré dans le microprogramme n'est pas le protocole prévu.

Un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN doit diagnostiquer le problème de protocole de communication ou au niveau de l'instrument.

Cette erreur peut survenir lorsque le Rotor-Gene Q MDx est démarré immédiatement après avoir été livré dans un lieu au climat froid.

Dans ce cas, laissez l'instrument se stabiliser 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 de QIAGEN.

Cette erreur survient lorsque le logiciel détecte un dysfonctionnement matériel fatal et active une procédure de sécurité pour mettre la machine hors tension.

Mettez immédiatement l'instrument hors tension et contactez votre distributeur ou les services techniques de QIAGEN.



**Message d'erreur****Commentaires et suggestions**

Machine Error  
(Erreur machine)

This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from (Ce cycle d'exécution a été arrêté car des erreurs machine impossibles à corriger ont été détectées). Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file (Contactez votre distributeur si cela se reproduit, en joignant un fichier d'archive d'entretien).

Machine Unplugged  
(Machine débranchée)

The instrument is not responding and failed with the message <ERROR MESSAGE > (L'instrument ne répond pas, il affiche le message <MESSAGE D'ERREUR>). This is an unrecoverable failure, please reset the instrument and restart the software (Il s'agit d'une erreur irrécupérable, réinitialisez l'instrument et redémarrez le logiciel).

Cette erreur survient lorsque le logiciel détecte des erreurs machine impossibles à corriger. Le logiciel interrompt le cycle d'exécution.

Essayez de lancer un nouveau cycle d'exécution. Si le problème persiste, contactez votre distributeur ou les services techniques de QIAGEN puis joignez un fichier d'archive d'entretien.

Cette erreur survient si l'instrument ne communique pas avec le logiciel au terme d'un délai d'attente défini. C'est souvent dû à une erreur de l'instrument ou à une activité excessive du PC, ce qui entraîne la perte d'un paquet.

Parmi les causes courantes liées au logiciel, on trouve les tâches exigeant d'importantes ressources processeur telles que la protection antivirus résidente ou les analyses antivirus programmées, les cartes sans fil ou les cartes infrarouges.

Désactivez ou désinstallez la tâche/le logiciel exigeant d'importantes ressources processeur.

Réinitialisez l'instrument puis redémarrez le logiciel.

Veillez contacter votre distributeur ou les services techniques de QIAGEN si le problème persiste.

### Message d'erreur

### Commentaires et suggestions

---

Machine Unplugged  
(Machine débranchée)

The instrument is not connected to your computer on <PORT NAME> (L'instrument n'est pas raccordé à votre ordinateur par le <NOM DU PORT>). Reconnect the serial cable to the back of the computer and then click Continue (Rebranchez le câble série à l'arrière de l'ordinateur puis cliquez sur Continuer).

Cette erreur survient lorsque la communication série ou USB avec l'instrument est perdue.

Rebranchez le câble série ou USB à l'arrière de l'ordinateur puis cliquez sur le bouton « Continue » (Continuer).

Object variable or with block variable not set (Variable objet ou variable de bloc With non définie)

Cette erreur survient au démarrage du logiciel si le fichier de modèle d'expérience par défaut est corrompu. Cela peut arriver si le logiciel/l'ordinateur est arrêté sans être quitté correctement, par exemple en cas de coupure de courant.

Supprimez le fichier **C:\Program Files\Rotor-Gene Q Software\Templates\normal.ret** puis redémarrez le logiciel.

Rotor Speed Failure  
(Problème de vitesse du rotor)

Time out while setting the rotor speed (Délai de réglage de la vitesse du rotor écoulé).

Cette erreur survient lorsque le logiciel essaie de régler la cible la vitesse du rotor sans y parvenir dans le temps imparti.

Un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN doit diagnostiquer le problème au niveau de l'instrument.

Veillez contacter votre distributeur ou les services techniques de QIAGEN.

**Message d'erreur****Commentaires et suggestions**

Serial Port In Use (Port série utilisé)

The serial port is currently being used by another application (Le port série est utilisé par une autre application). Close any applications such as communications or synchronization software and then retry (Fermez toutes les applications comme les logiciels de communication ou de synchronisation puis réessayez).

Shutdown timeout (Délai d'attente d'arrêt)

The instrument has exceeded the expected time to shutdown (L'instrument a dépassé le délai imparti pour l'arrêt). Please reset the machine, and reset the software (Réinitialisez la machine puis réinitialisez le logiciel).

Cette erreur survient lorsque le logiciel essaie de se connecter à la machine sur le port COM configuré alors qu'il est utilisé par un autre logiciel.

Fermez toutes les applications comme les logiciels de communication ou de synchronisation puis réessayez.

Cette erreur survient lorsque le logiciel active une commande d'arrêt pour arrêter l'instrument mais que la machine continue à renvoyer des données après le délai de grâce prévu.

Réinitialisez la machine puis redémarrez le logiciel.

### Message d'erreur

### Commentaires et suggestions

---

Temperature Protection  
Activated (Protection de  
température activée)

The instrument detected that the chamber temperature increased above a safe level (L'instrument a détecté l'augmentation de la température de la chambre au-delà du niveau de sécurité). It has therefore entered a self-protection mode (Il est donc passé en mode d'autoprotection). Please turn off the instrument and contact your distributor if the problem persists (Mettez l'instrument hors tension puis contactez votre distributeur si le problème persiste).

Cette erreur survient lorsque le logiciel détecte l'augmentation de la température de la chambre au-delà du niveau de sécurité et active une procédure d'autoprotection.

Mettez immédiatement l'instrument hors tension et contactez votre distributeur ou les services techniques de QIAGEN.

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 (L'instrument a détecté l'ouverture de la thermistance, il se met donc hors tension pour éviter tout dommage à la machine). Please contact your distributor if this occurs again (Contactez votre distributeur si cela se reproduit).

Cette erreur survient lorsque le logiciel détecte l'ouverture de la thermistance et ne peut donc plus lire la température. Le logiciel active alors une procédure d'autoprotection afin de mettre la machine hors tension.

Mettez immédiatement l'instrument hors tension et contactez votre distributeur ou les services techniques de QIAGEN.

**Message d'erreur****Commentaires et suggestions**

---

Unrecoverable errors occurred (Des erreurs irrécupérables se sont produites)

This run was stopped as machine errors occurred that could not be recovered from (Ce cycle d'exécution a été arrêté car des erreurs machine impossibles à corriger ont été détectées). Please contact your distributor if this occurs again, attaching a support archive file (Contactez votre distributeur si cela se reproduit, en joignant un fichier d'archive d'entretien).

Cette erreur survient au milieu du cycle d'exécution après que le logiciel a tout tenté pour récupérer une erreur, en vain.

Un spécialiste de l'entretien sur site QIAGEN doit diagnostiquer le problème au niveau de l'instrument.

Veillez contacter votre distributeur ou les services techniques de QIAGEN.

### 12.4 Messages du logiciel Rotor-Gene Q

Voici une liste de messages d'utilisation, d'avertissement et autres susceptibles de s'afficher dans le logiciel Rotor-Gene Q lors de l'utilisation du matériel et du logiciel. Toute partie du message qui est variable, comme les descriptions d'erreurs caractéristiques, est indiquée entre parenthèses (p. ex. < DESCRIPTION DE L'ERREUR >).

#### Énoncé du message

---

##### Messages généraux

A raw channel already exists for this page (Un canal brut existe déjà pour cette page). If you would like to recreate this page, you must first delete the raw channel via the Options button and then try again (Si vous voulez recréer cette page, vous devez d'abord supprimer le canal brut par le bouton Options puis réessayer).

A serious problem has occurred which requires shutting down the software (Un grave problème s'est produit, il nécessite d'arrêter le logiciel). After you click OK, your current work will be saved, and the machine will be turned off, if possible (Une fois que vous aurez cliqué sur OK, votre travail en cours sera enregistré et la machine se mettra hors tension, si possible). If this problem persists, please contact your distributor (Si ce problème persiste, contactez votre distributeur).

Cannot delete this page (Impossible de supprimer cette page). There must always be at least one sample page (Il faut toujours au moins une page d'échantillon).

Can't connect to instrument on serial port <COMPORT> (Connexion à l'instrument impossible par le port série <PORT COM>). Check the machine is correctly plugged into the back of the computer, then retry (Vérifiez que la machine est correctement branchée à l'arrière de l'ordinateur puis réessayez).

Can't open the serial port <COMPORT> to connect to the instrument (Impossible d'ouvrir le port série <PORT COM> pour la connexion à l'instrument). Check you do not have any communications software open, then retry (Vérifiez qu'aucun logiciel de communication n'est ouvert puis réessayez).

**Énoncé du message**

---

Could not save to run because some data on the form was invalid (Impossible d'enregistrer le cycle d'exécution car certaines données du formulaire ne sont pas valides). Please check your entries then try again (Vérifiez vos saisies puis réessayez).

Couldn't save file (Impossible d'enregistrer le fichier). Confirm the disk has enough space and that it is free of errors (Vérifiez si l'espace disque est suffisant et s'il n'y a pas d'erreurs).

E-mail application could not be started (Impossible de démarrer l'application de messagerie). Confirm that it has been correctly installed on your computer (Vérifiez qu'elle a été correctement installée sur votre ordinateur).

Encountered an error during run: <ERROR DESCRIPTION> (Erreur survenue en cours de cycle d'exécution : <DESCRIPTION DE L'ERREUR>). The run will continue, and a message will be logged in the messages tab of Run Info (Le cycle d'exécution va se poursuivre et un message apparaîtra sous l'onglet des messages dans Informations sur le cycle d'exécution).

Instrument was not detected (L'instrument n'a pas été détecté). Please ensure you have correctly connected the instrument, and that the instrument is turned on (Assurez-vous d'avoir correctement branché l'instrument et de l'avoir mis sous tension).

Logging is currently disabled due to a previous error (La connexion est désactivée à cause d'une erreur antérieure). Archived logs cannot be viewed until the software has been restarted (Impossible d'afficher les journaux archivés avant d'avoir redémarré le logiciel).

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 bas).

Only runs performed with the same rotor as the current run may be imported (Seuls les cycles d'exécution effectués avec le rotor actuel peuvent être importés).

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 seront pas disponibles avant la fin du cycle).

### Énoncé du message

---

Please type valid number of times to repeat (Veuillez saisir un nombre de répétitions valide). It should be more than 0 (Il doit être supérieur à 0).

Problem encountered while updating log data (Problème rencontré lors de l'actualisation des données du journal). Logging has been disabled, but will be reenabled on the next run (La connexion a été désactivée mais sera réactivée au prochain cycle d'exécution).

Run file signing ensures the integrity of your run results (La signature du fichier du cycle d'exécution garantit l'intégrité des résultats du cycle). Information about a run's signature can be found in the Run Info window (Les informations sur la signature du cycle d'exécution se trouvent dans la fenêtre Informations sur le cycle d'exécution).

Sample ID is locked (L'ID échantillon est verrouillé). Cannot paste over locked samples (Impossible de coller par-dessus des échantillons verrouillés).

TeeChart Office has not been installed on this computer (TeeChart Office n'est pas installé sur cet ordinateur). Please re-install the Rotor-Gene software (Réinstallez le logiciel Rotor-Gene).

The COM port configured for the instrument is not selected (Le port COM configuré pour l'instrument n'est pas sélectionné). You must select a COM port (Vous devez sélectionner un port COM).

The loaded run file contains a signature which does not match the file contents (Le fichier du cycle d'exécution contient une signature qui ne correspond pas au contenu du fichier). This means the file has either been corrupted, or tampered with since it was written by the Rotor-Gene software (Soit le fichier a été corrompu, soit il a été modifié puisqu'il a été écrit par le logiciel Rotor-Gene).

The loaded run file has no signature (Le fichier du cycle d'exécution chargé n'a aucune signature). The contents of this file cannot be guaranteed (Son contenu ne peut être garanti).

The Machine serial number is not valid (Le numéro de série de la machine n'est pas valide). Serial numbers must be at least 6 digits long (Les numéros de série doivent comporter au moins 6 chiffres).



---

**Énoncé du message**

---

The machine will now be cooled to <TEMPERATURE> degrees (La machine va à présent refroidir jusqu'à <TEMPÉRATURE> degrés). The chamber and surfaces will still be very hot when opening the machine (La chambre et les surfaces seront toujours très chaudes à l'ouverture de la machine). Please exercise due caution and wear protective gloves if touching any of the surfaces or tubes (Procédez avec prudence et portez des gants de protection pour toucher les surfaces ou les tubes).

The regional settings for your computer are conflicting (Les paramètres régionaux de votre ordinateur sont en conflit). Ensure your currency and numeric decimal placeholders are matching (Assurez-vous que vos paramètres substituables de devise et de décimal correspondent).

The serial number entered in the welcome screen <SERIAL NUMBER1 > does not match the serial number stored in the attached machine <SERIAL NUMBER2 > (Le numéro de série saisi sur l'écran d'accueil <NUMÉRO DE SÉRIE1 > ne correspond pas à celui enregistré dans la machine connectée <NUMÉRO DE SÉRIE2 >). The computer's serial number has now been updated to match the connected machine (Le numéro de série de l'ordinateur a été actualisé pour correspondre à la machine connectée).

There was a problem communicating with the communication board (Un problème de communication est survenu avec la carte de communication). You should reboot the computer and then retry (Vous devez redémarrer l'ordinateur et réessayer).

There was a timeout attempting to talk to the instrument (Délai d'attente expiré en essayant de communiquer avec l'instrument). Check it is correctly plugged in (Vérifiez qu'il est correctement branché).

This feature cannot be used in virtual mode (Cette fonctionnalité ne peut être utilisée en mode virtuel).

This profile file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software (Ce profil a été créé dans une version plus récente du logiciel Rotor-Gene). Certain aspects may not load correctly (Il se peut que certains aspects ne se chargent pas correctement).

### Énoncé du message

---

This run file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software (Ce fichier du cycle d'exécution a été créé dans une version plus récente du logiciel Rotor-Gene). Certain aspects of the run may not load correctly (Il se peut que certains aspects du cycle d'exécution ne se chargent pas correctement).

This sample file was created in a more recent version of the Rotor-Gene software (Ce fichier d'échantillon a été créé dans une version plus récente du logiciel Rotor-Gene). Certain aspects may not load correctly (Il se peut que certains aspects ne se chargent pas correctement).

This software will perform basic simulation of a machine for training and demonstration purposes (Ce logiciel va effectuer une simulation de base d'une machine à des fins de formation et de démonstration). You can disable this setting via the Setup screen, accessible from the File menu (Vous pouvez désactiver ce paramètre via l'écran Configuration, accessible par le menu Fichier).

This template was created in a more recent version of the Rotor-Gene software (Ce modèle a été créé dans une version plus récente du logiciel Rotor-Gene). Certain aspects of the template may not load correctly (Il se peut que certains aspects du modèle ne se chargent pas correctement).

Unable to load this sample file as tube layouts do not match (Impossible de charger ce fichier d'échantillon car les dispositions des tubes ne correspondent pas). Load these samples before starting the run (Chargez ces échantillons avant de lancer le cycle d'exécution).

Unable to open communications with the machine because another application is already using <COMPORT> (Impossible d'ouvrir une communication avec la machine car une autre application utilise déjà le <PORT COM>). Check you do not have any applications running that use the same serial port, then retry (Vérifiez qu'aucune application n'utilise le même port série puis réessayez).

Unrecoverable errors were encountered while attempting to load the file (Des erreurs irrécupérables se sont produites lors de la tentative de chargement du fichier). The file was not loaded (Le fichier n'a pas été chargé).

---

**Énoncé du message**

---

You cannot stop the program while the run is in progress (Vous ne pouvez pas arrêter le programme pendant le cycle d'exécution).

You have insufficient rights to use the software (Vos droits ne vous permettent pas d'utiliser le logiciel). Please contact the domain administrator to set up groups (Contactez l'administrateur de domaine pour définir des groupes).

You must have performed a quantitation analysis to export samples (Vous devez d'abord effectuer une analyse de quantification pour pouvoir exporter des échantillons).

You must select a COM port before continuing (Vous devez sélectionner un port COM avant de poursuivre).

Your run could not be saved to its default location (Votre cycle d'exécution n'a pas pu être enregistré sur son emplacement par défaut). On the following window, select an alternative location to save your run (Dans la fenêtre suivante, sélectionnez un autre emplacement sur lequel enregistrer votre cycle d'exécution).

Your settings have been saved (Vos paramètres ont été enregistrés). Click OK to close the software (Cliquez sur OK pour fermer le logiciel).

You must select a rotor before continuing (Vous devez sélectionner un rotor avant de poursuivre).

You cannot start the run until you tick the checkbox to confirm that the locking ring has been attached (Vous ne pouvez pas lancer le cycle d'exécution avant d'avoir coché la case pour confirmer la fixation de l'anneau de verrouillage).

**Messages d'ajustement du gain automatique**

Manual gain adjustment uses the channels you have defined in your profile (L'ajustement manuel du gain utilise les canaux que vous avez définis dans votre profil). As you have not defined any acquisition points in your profile, you cannot perform manual gain adjustment (Comme vous n'avez défini aucun point d'acquisition dans votre profil, vous ne pouvez pas effectuer d'ajustement manuel du gain).

### Énoncé du message

---

The temperature you entered was not saved because it was outside the range of the machine (La température saisie n'a pas été enregistrée car elle était hors de la plage de la machine). Enter a valid temperature (Saisissez une température valide).

### Messages liés à l'éditeur

Please enter a valid group code (Veuillez saisir un code de groupe valide). Group codes must be a maximum of 5 characters, and contain no spaces or commas (Les codes de groupes doivent comporter au maximum 5 caractères et ne contenir aucune espace ni virgule).

Please enter a valid group name (Veuillez saisir un nom de groupe valide). Group names cannot contain commas or be empty (Les noms des groupes ne peuvent pas contenir de virgules ni être vides).

### Messages liés à l'étalonnage de la dénaturation optique

Unable to set as optical denature point due to calibration failure (Définition en tant que point de dénaturation optique impossible pour cause d'échec de l'étalonnage). Please enter a valid number of seconds to hold (Veuillez saisir un nombre de secondes valide pour le maintien). It should be a positive value (Il doit s'agir d'une valeur positive).

A melt peak could not be detected during Optical Denature Calibration (Aucun pic de fusion n'a pu être détecté au cours de l'étalonnage de la dénaturation optique). This may be because the incorrect tube was selected for calibration, or that an inappropriate chemistry was used for this sample (Cela peut être dû à la sélection d'un tube incorrect pour l'étalonnage ou à l'utilisation d'un produit inapproprié pour cet échantillon). A timed step profile was run instead (Un profil à étapes définies a été exécuté à la place).

### **Messages liés à l'OTV**

You must enter a valid OTV serial number to perform the run (Vous devez saisir un numéro de série d'OTV valide pour effectuer un cycle d'exécution).

This temperature verification file has been corrupted (Ce fichier de vérification de la température a été corrompu). Please uninstall and re-install the Rotor-Gene software to correct this error (Désinstallez puis réinstallez le logiciel Rotor-Gene afin de corriger cette erreur).

This run file is not correctly signed (Ce fichier du cycle d'exécution n'est pas signé correctement). Results cannot be displayed (Les résultats ne peuvent être affichés).

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 pour confirmer le positionnement correct de l'insert fluorescent).

This rotor has expired (Ce rotor a expiré). Please contact your distributor to obtain a replacement (Contactez votre distributeur pour obtenir un remplacement).

### **Messages liés au menu Sécurité**

Could not open the Windows user/group manager (Impossible d'ouvrir le gestionnaire d'utilisateurs/de groupes Windows).

Could not create groups (Impossible de créer des groupes).

Cannot modify access of inbuilt accounts (Impossible de modifier l'accès des comptes intégrés).

### **Menu Analyse**

You have only selected one channel for analysis (Vous n'avez sélectionné qu'un canal pour l'analyse). To select multiple channels, drag a rectangle around the channels you wish to display in the analysis selection window (Pour sélectionner plusieurs canaux, définissez un rectangle autour des canaux à afficher dans la fenêtre de sélection de l'analyse).

You have selected multiple channels for analysis (Vous avez sélectionné plusieurs canaux pour l'analyse). This analysis technique only allows single channels to be analysed (Cette technique d'analyse ne permet d'analyser qu'un seul canal).

### **Messages liés aux mesures de concentration**

Concentration Measurement performs auto-gain optimisation on the first rotor position (La mesure de la concentration effectue l'optimisation du gain automatique sur la première position du rotor). Ensure you have your highest concentration standard in the first rotor position (Veillez à ce que l'étalon à concentration maximale se trouve sur la première position du rotor).

### **Messages liés à l'analyse finale**

To use end-point analysis you must have positive and negative controls in each channel (Pour utiliser l'analyse finale, vous devez avoir des contrôles positifs et négatifs dans chaque canal). To define these controls click OK (Pour définir ces contrôles, cliquez sur OK).

You have not defined any positive controls (Vous n'avez défini aucun contrôle positif). You must define positive controls for each channel you are analysing (Vous devez définir des contrôles positifs pour chaque canal analysé).

You have not defined any negative controls (Vous n'avez défini aucun contrôle négatif). You must define negative controls for each channel you are analysing (Vous devez définir des contrôles négatifs pour chaque canal analysé).

You have not defined any NTC controls (Vous n'avez défini aucun contrôle sans matrice). You must define NTC controls for each group (Vous devez définir des contrôles sans matrice pour chaque groupe).

### **Messages liés à l'analyse HRM**

Genotype <GENOTYPE NAME> does not have a control defined (Le génotype <NOM DU GÉNOTYPE> n'a aucun contrôle défini).

Duplicate genotype combinations are not allowed (Les combinaisons de génotypes en double ne sont pas autorisées).

High resolution melts are not supported on this instrument (Les fusions haute résolution ne sont pas prises en charge sur cet instrument). Please contact your distributor for more information (Contactez votre distributeur pour plus d'informations).

### **Messages liés à l'analyse de fusion**

The genotypes can not be defined until bins have been placed (Les génotypes ne peuvent être définis avant la mise en place des groupes). Please define all bins and then try again (Veuillez définir tous les groupes avant de réessayer).

You must enter an abbreviation for <GENOTYPE NAME> genotype (Vous devez saisir une abréviation pour le génotype <NOM DU GÉNOTYPE>).

### **Messages liés à l'analyse du graphique à points**

Scatter plot analysis requires exactly 2 channels to be selected (L'analyse du graphique à points nécessite de sélectionner exactement 2 canaux). 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 (Pour sélectionner plusieurs canaux, définissez un rectangle autour des canaux à afficher dans la fenêtre de sélection de l'analyse ou cliquez en maintenant enfoncée la touche Maj sur chaque canal).

### **Messages liés à l'analyse de quantification**

The auto-find threshold feature requires that you have defined at least 2 selected standards (La fonctionnalité permettant de trouver automatiquement le seuil nécessite de définir au moins 2 étalons sélectionnés). To set this up, right-click on the sample list and select « Edit Samples... » (Pour la configurer, faites un clic droit sur la liste des échantillons puis sélectionnez « Modifier les échantillons... »).

Cette page est intentionnellement laissée vierge



## 13 Glossaire

| Terme  | Description  |
|--|--|
| Acquisition                                  | L'acquisition est la collecte de données de fluorescence. Chaque acquisition (série de données de fluorescence) d'un canal apparaît 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).  |
| Groupes                                      | Dans une analyse de fusion, les groupes sont définis pour délimiter une région dans laquelle un pic de fusion doit survenir. Les génotypes peuvent être définis d'après la présence de pics dans certains groupes ou certaines combinaisons de groupes.  |
| Canal  | Un canal se compose d'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 convertir 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. |
| « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) | « Gain Optimisation » (Optimisation du gain) est un processus qui ajuste de manière dynamique le paramètre du gain, ce qui permet de sélectionner un réglage approprié et ainsi d'obtenir une détection optimale du signal.  |
| Loading Block                                | Les Loading Blocks supports sont des blocs en aluminium existant en différents formats, ils maintiennent les tubes ou les Rotor-Discs pendant la préparation de la réaction. Les Rotor-Disc Loading Blocks sont également utilisés avec le Rotor-Disc Heat Sealer pour thermosouder les Rotor-Discs.   |

## Glossaire

---

| <b>Terme</b> | <b>Description</b>   |
|--------------|--|
| Locking Ring | Les Locking Rings sont des anneaux métalliques qui s'ajustent au rotor pour empêcher les tubes et les bouchons de se détacher lors du fonctionnement du Rotor-Gene Q MDx. Les bouchons et les tubes qui se détachent peuvent endommager l'instrument.                            |
| Rotor        | Le rotor métallique maintient les tubes ou les Rotor-Discs dans le Rotor-Gene Q MDx. Il permet aux échantillons de tourner dans la chambre de l'instrument et garantit le bon alignement des échantillons sur le système optique. Le rotor est maintenu par un Locking Ring.     |
| Rotor-Disc   | Les Rotor-Discs sont des disques circulaires contenant des puits réactionnels orientés verticalement. Les Rotor-Discs sont disponibles en formats 72 et 100 réactions. Les Rotor-Discs sont étanchéisés avec un Rotor-Disc Heat Sealing Film à l'aide du Rotor-Disc Heat Sealer. |

---

# Annexe A

## Données techniques

QIAGEN se réserve le droit de modifier des spécifications à tout moment.

## Conditions ambiantes

### Conditions de fonctionnement

|  |   |
|--|---|
| Alimentation                               | 100–240 V CA, 50–60 Hz, 520 VA (pic)<br>Consommation propre 60 VA (en veille)<br>Les variations de tension de l'alimentation secteur ne doivent pas excéder 10 % des tensions d'alimentation nominales. |
| Fusible                                    | F5A 250 V   |
| Dissipation thermique/<br>charge thermique | Moyenne : 0,183 kW (632 BTU/heure)<br>Pic : 0,458 kW (1 578 BTU/heure)  |
| Catégorie<br>de surtension                 | II  |
| Température de l'air                       | 18 à 30 °C  |
| Humidité relative                          | 10 à 75 % (sans condensation)   |
| Altitude                                   | Jusqu'à 2 000 m   |
| Lieu de fonctionnement                     | Réservé exclusivement à un usage en intérieur   |
| Niveau de pollution                        | 2   |
| Catégorie<br>environnementale              | 3K2 (CEI 60721-3-3)<br>3M2 (CEI 60721-3-3)  |

### Conditions de transport

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| Température de l'air          | -25 à 60 °C dans l'emballage du fabricant |
| Humidité relative             | 75 % max (sans condensation)              |
| Catégorie<br>environnementale | 2K2 (CEI 60721-3-2)                       |

### Conditions de stockage

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| Température de l'air          | 15 à 30 °C dans l'emballage du fabricant |
| Humidité relative             | 75 % max (sans condensation)             |
| Catégorie<br>environnementale | 1K2 (CEI 60721-3-1)                      |

### Données mécaniques et caractéristiques matérielles

|            |  |        |
|------------|--|--------|
| Dimensions | Largeur :  | 370 mm |
|            | Hauteur :  | 286 mm |
|            | Profondeur (hors câbles) :   | 420 mm |
|            | Profondeur (porte ouverte) :   | 538 mm |
| Poids      | 12 kg, configuration standard  |        |
| Capacité   | Jusqu'à 100 échantillons par cycle d'exécution avec un Rotor-Disc 100                      |        |
| Logiciel   | Logiciel Rotor-Gene Q (version 2.3.4 ou supérieure), fourni sur le CD d'installation joint |        |

## Spécifications thermiques

| Description               | Spécification                             |
|---------------------------|---|
| Plage de température      | 35 à 99 °C                                |
| Précision de température  | ±0,5 °C                                   |
| Résolution de température | ±0,02 °C (incrément minimal programmable) |
| Uniformité de température | ±0,02 °C (écart-type)                     |

## Spécifications optiques

| Description          | Spécification                               |
|----------------------|---|
| Sources d'excitation | Diodes électroluminescentes haute puissance |
| Détecteur            | Photomultiplicateur                         |
| Durée d'acquisition  | 4 secondes                                  |

## Déclaration FCC

L'USFCC (United States Federal Communications Commission – Commission des communications fédérales des États-Unis) a déclaré (dans 47 CFR 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 ne doit pas provoquer d'interférences dangereuses et (2) ce dispositif doit accepter toutes les interférences reçues, dont les interférences susceptibles de provoquer un fonctionnement non souhaité. »

« Cet appareil numérique de classe B est conforme à la norme canadienne ICES-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 (ICES-003) applicable aux appareils 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 allumant et en éteignant l'équipement, 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
- Connecter l'équipement sur une prise électrique d'un circuit différent de celui auquel le récepteur est branché

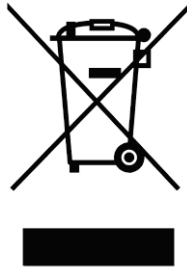
Consultez un revendeur ou un technicien radio/TV expérimenté pour obtenir de l'aide.

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 non autorisée, une telle substitution ou un tel raccordement incombe à l'utilisateur.

## Déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE)

Cette section fournit des informations sur la mise au rebut des déchets d'équipements électriques et électroniques par les utilisateurs au sein de l'Union européenne.

La directive européenne 2011/65/UE sur les DEEE exige la mise au rebut appropriée des équipements électriques et électroniques en fin de vie. 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 d'autres déchets; il doit être rapporté dans un centre de traitement agréé ou un point de collecte dédié pour y être recyclé, conformément à la législation locale. 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 de l'homme et l'environnement.



QIAGEN reconnaît sa responsabilité conformément aux exigences de recyclage spécifiques des DEEE et, lorsqu'un produit de remplacement est fourni par QIAGEN, propose le recyclage gratuit de ses équipements électroniques portant la mention DEEE en Europe. Si un produit de remplacement n'est pas acheté chez QIAGEN, le recyclage peut être effectué sur demande moyennant un coût supplémentaire. Pour le recyclage des équipements électroniques, contactez l'agence commerciale QIAGEN locale pour obtenir le formulaire de renvoi 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.



## Annexe B

Cette annexe décrit plus en détails les techniques mathématiques appliquées.

### Quantification

Les concentrations calculées sont obtenues par un simple modèle de régression linéaire, avec les valeurs connues : les concentrations log (x), et les valeurs issues de l'expérience : les valeurs  $C_T$  (y).

Les concentrations log et les valeurs  $C_T$  des étalons sont utilisées pour définir un modèle comme suit :

$$y = Mx + B$$

### Intervalles de confiance pour les concentrations calculées

Nous utilisons l'intervalle de confiance suivant  $100(1 - \alpha)\%$  pour une estimation d'une nouvelle observation  $x_0$  d'après 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 seule inconnue.

Supposons maintenant que nous ayons k autres observations à  $x = x_0$  et que nous indiquions leur moyenne par  $\bar{Y}_0$ . Alors,

$$\bar{Y}_0 \sim N\left(\beta_0 + \beta_1 x_0, \frac{\sigma^2}{k}\right)$$

et des arguments similaires à ceux ci-dessus donneraient

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left( \frac{1}{k} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

Cette formule indique comment sont déterminés les intervalles de confiance pour les concentrations des inconnues répliquées.

Pour une estimation des étalons, vous pouvez obtenir un intervalle de confiance plus serré :

$$\frac{Y_0 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} \pm \frac{S}{\hat{\beta}_1} \left( \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}} \right)^{\frac{1}{2}} t_{n-2, \alpha/2}$$

L'implication de cette formule est que l'ajout de répliqués à une concentration individuelle standard réduit la largeur de l'intervalle pour toutes les estimations, avec l'augmentation de  $n$ . L'ajout d'un grand nombre de répliqués à une inconnue réduit son incertitude à celle d'un seul étalon. Les répliqués supplémentaires réduisent l'incertitude en raison de l'inconnue qui ne constitue pas une partie du modèle linéaire.

### Intervalles de confiance pour les valeurs $C_T$

On suppose que l'erreur dans les valeurs  $C_T$  des répliqués est linéaire et normalement répartie.

On utilise donc l'intervalle de confiance  $t$  pour un échantillon. Soit  $\mu$  la valeur moyenne pour les valeurs  $C_T$  d'un répliquat ( $x_0 \dots x_{n-1}$ ). Alors un intervalle de confiance de  $100(1 - \alpha) \%$  pour une valeur  $C_T \mu$  est :

$$\left( \bar{x} - t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{x} + t_{\alpha/2, n-1} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Un grand merci à Peter Cook du Département de mathématiques de l'université de Nouvelle-Galles du Sud, à Sydney, en Australie, pour son aide précieuse dans la vérification des approches mathématiques utilisées.

## Annexe C

### Produits, accessoires et consommables Rotor-Gene Q MDx

| Produit                         | Table des matières   | N° de réf.   |
|---------------------------------|--|--------------|
| Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (CA) | Instrument de real-time PCR et analyseur de fusion haute résolution à 5 canaux (vert, jaune, orange, rouge et pourpre) et avec canal HRM, ordinateur portable, logiciel, accessoires, garantie 1 an pièces et main-d'œuvre | 9002370      |
| <b>Accessoires</b>              |  |              |
| Rotor-Disc 100 Starter Kit      | La trousse comprend : 2 ensembles Rotor-Disc 100, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 100 Rotor et Locking Ring, 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            | Pour maintenir les disques Rotor-Disc 100 dans le Rotor-Gene Q MDx; nécessite le Rotor-Disc 100 Locking Ring   | 9018895      |
| Rotor-Disc 100 Locking Ring     | Pour verrouiller un Rotor-Disc 100 dans le Rotor-Disc 100 Rotor  | 9018896      |
| Rotor-Disc 100 Loading Block    | Bloc en aluminium pour la préparation de la réaction manuelle et automatisée dans des disques Rotor-Disc 100   | 9018909      |

\* Disponible uniquement dans certains pays.

## Annexe C

| <b>Produit</b>                     | <b>Table des matières</b>   | <b>N° de réf.</b> |
|------------------------------------|---|-------------------|
| Rotor-Disc Pipetting Aid           | Aide au marquage des puits pendant la préparation de la 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 le 100 Loading Block  | 9018898           |
| Rotor-Disc Heat Sealing Film (60)  | 60 films pour l'étanchéité des disques Rotor-Disc 100 ou Rotor-Disc 72  | 981601            |
| Rotor-Disc Heat Sealing Film (600) | 10 × 60 films pour l'étanchéité des disques Rotor-Disc 100 ou Rotor-Disc 72   | 981604            |
| Rotor-Disc 72 Starter Kit          | La trousse comprend : 3 ensembles Rotor-Disc 72, Rotor-Disc Heat Sealer, Rotor-Disc Heat Sealing Film, Rotor-Disc 72 Rotor et Locking Ring, Rotor-Disc 72 Loading Block, Rotor-Disc Pipetting Aid | Sur demande*      |
| Rotor-Disc 72 (24)                 | 24 disques emballés individuellement pour 1 728 réactions   | 981301            |
| Rotor-Disc 72 (240)                | 10 × 24 disques emballés individuellement pour 17 280 réactions   | 981303            |
| Rotor-Disc 72 Rotor                | Pour maintenir les disques Rotor-Disc 72 dans le Rotor-Gene Q MDx; nécessite le Rotor-Disc 72 Locking Ring  | 9018899           |
| Rotor-Disc 72 Locking Ring         | Pour verrouiller un Rotor-Disc 72 dans le Rotor-Disc 72 Rotor   | 9018900           |
| Rotor-Disc 72 Loading Block        | Bloc en aluminium pour la préparation de la réaction manuelle et automatisée dans des disques Rotor-Disc 72   | 9018910           |
| Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250) | 250 bandes de 4 tubes avec bouchons pour 1 000 réactions  | 981103            |

\* Disponible uniquement dans certains pays.

| <b>Produit</b>                          | <b>Table des matières</b>   | <b>N° de réf.</b> |
|---|---|-------------------|
| Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)     | 10 × 250 bandes de 4 tubes avec bouchons pour 10 000 réactions  | 981106            |
| 72-Well Rotor                           | Pour maintenir les Strip Tubes and Caps, 0.1 ml; nécessite le Locking Ring 72-Well Rotor                        | 9018903           |
| Locking Ring 72-Well Rotor              | Pour 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 la réaction manuelle avec une pipette simple dans 72 tubes de 0,1 ml   | 9018901           |
| Loading Block 72 x 0.1 ml Multi-channel | Bloc en aluminium pour la préparation de la réaction avec des pipettes multicanaux dans 72 tubes de 0,1 ml      | 9018902           |
| PCR Tubes, 0.2 ml (1000)                | 1 000 tubes à paroi mince pour la préparation de 1 000 réactions  | 981005            |
| PCR Tubes, 0.2 ml (10000)               | 10 × 1 000 tubes à paroi mince pour la préparation de 10 000 réactions  | 981008            |
| 36-Well Rotor                           | Pour maintenir les PCR Tubes, 0.2 ml; nécessite le 36-Well Rotor Locking Ring                                   | 9018907           |
| 36-Well Rotor Locking Ring              | Pour 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 la réaction manuelle dans 96 tubes de 0,2 ml au format standard 8 × 12 | 9018905           |

## Annexe C

---

| <b>Produit</b>     | <b>Table des matières</b>  | <b>N° de réf.</b> |
|--------------------|--|-------------------|
| Rotor-Disc OTV Kit | Trousse de vérification de la température optique des systèmes Rotor-Gene comprenant un Rotor-Disc préalablement chargé avec des cristaux liquides thermochromiques, des inserts fluorescents, un CD contenant les fichiers d'étalonnage; nécessite le Rotor-Disc 72 Rotor avec Locking Ring ou le Rotor-Disc 72 Starter Kit | 981400            |
| Rotor Holder       | Support métallique autonome permettant d'assembler les tubes et les Rotor-Discs dans les rotors  | 9018908           |

Pour obtenir des informations actualisées et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel de la trousse ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des troussees et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou peuvent être demandés aux services techniques QIAGEN ou au distributeur local.

## Annexe D

### 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 lecture, 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 membre de la direction de QIAGEN.

### Historique des révisions du document

R3, mai 2018

- Mises à jour de la configuration de sécurité des ordinateurs portables fournis par QIAGEN
- Détails du mot de passe pour le nouveau compte d'administrateur qui est à présent préinstallé sur tous les nouveaux ordinateurs portables QIAGEN
- Informations sur la création des comptes d'utilisateur dans Windows 7
- Mises à jour des recommandations sur les logiciels antivirus
- Mises à jour des paramètres du pare-feu et du réseau



# Index

## A

Accessoires, 4-8, 1  
Acquisition, 6-16  
Adéquations, 7-88  
Affichage des concentrations, 7-81  
Aide  
    À propos de ce logiciel, 7-113  
    Démon virtuelle, 7-113  
    Envoyer un courriel de support, 7-113  
    Historique des versions logicielles, 7-113  
    Ressources Web, 7-113  
    Table des matières, 7-112  
Ajustement du point de hausse, 7-31, 7-57  
Ajuster l'échelle, 7-2  
Amplification exponentielle, 7-35  
Analyse de concentration, 7-68  
    étalons, 7-68  
Analyse de la courbe de fusion, 7-46  
    groupes, 7-48  
    pics, 7-47  
Analyse du graphique à points, 7-56  
Analyse finale, 7-59  
    contrôles, 7-62  
Archives des journaux, 12-1  
Assistance technique, 2-2  
Assistant avancé, 6-7  
Assistant de démarrage rapide, 6-1  
Autoriser l'accès à l'écran, 7-12  
AutoStat, 7-28  
Avertissements, 1-1

## B

Barre d'outils, 7-1  
Bouton bascule, 7-4

## C

Calcul de CT, 7-22  
Canaux, 3-4, 7-76  
Canaux bruts, 7-1  
Coefficient de corrélation, 7-18  
Commentaire Ct, 7-25  
Conditions  
    de fonctionnement, 1-5  
Correction de la pente du bruit, 7-30, 7-57  
Courbe étalon, 7-16  
    calcul, 7-19  
    exporter, 7-18  
    formule, 7-18, 7-35  
    importer, 7-20  
    méthode à deux courbes étalons, 7-37  
    superposer, 7-19  
Cycle d'exécution  
    arrêter, 7-74  
    démarrer, 7-73  
    enregistrer, 6-6, 7-8  
    nouveau, 7-7  
    OTV, 10-2  
    ouvrir, 7-8  
    paramètres, 7-74  
    signatures, 7-106  
    suspendre, 7-73  
Cycle d'exécution vide, 6-8  
Cycles, 6-14

## D

Déballage, 4-7  
Déclaration FCC, 4  
DEEE, 6  
Dépannage  
    archives des journaux, 12-1  
    HRM, 12-1  
    Rotor-Gene Q MDx, 12-3  
Détection automatique, 4-12, 7-13

## Index

---

Deux étapes, 6-2, 6-9  
Dimères d'amorce, 11-16  
Diminution, 6-15  
Discrimination allélique, 7-53  
Disposer les fenêtres, 7-112  
Disposition des tubes, 7-77

## E

Échantillons  
verrouiller, 7-108  
Échelle, 8-2  
Échelle automatique, 7-2  
Échelle par défaut, 7-2  
Efficacité, 7-18, 7-35  
Environnement, 1-5  
Exécuter le dernier cycle d'exécution, 6-2, 6-8  
Exportation  
données, 8-5  
format natif, 8-4  
formats, 7-9  
graphiques, 8-2  
vers LinReg, 7-10

## F

Fenêtre Adéquation de la page  
d'échantillons, 7-88  
Fenêtre de configuration, 7-11  
Fenêtre de résultats de la courbe de  
fusion, 7-49  
Fenêtre des résultats de quantification, 7-24  
Fenêtre du navigateur de rapports, 7-11,  
7-16, 7-48  
Fenêtre Modifier le profil, 6-5, 6-12  
Fenêtre Modifier les échantillons, 6-7, 6-34, 7-80  
onglet Rotor Style, 7-87  
onglet Standard, 7-81  
Filtre numérique, 8-6  
Fluorophores détectés, 3-4  
Fonctionnement  
conditions, 1  
logiciel, 6-1

matériel, 5-1  
FRET supprimé, 6-3  
Fusion, 6-18

## G

Génotypes  
analyse de la courbe de fusion, 7-49  
analyse du graphique à points, 7-57  
analyse finale, 7-60  
analyse finale, 7-67  
discrimination allélique, 7-55  
Glossaire, 13-1  
Graphique  
sélectionner la zone, 8-7  
Graphique de température, 7-78  
Groupes, 7-89

## H

HRM  
analyse, 7-71, 11-1, 11-16  
assistant avancé, 6-9  
assistant de démarrage rapide, 6-3  
configuration du logiciel, 11-7  
consignes, 11-3  
cycle, 6-19  
dépannage, 12-1  
préparation des échantillons, 11-6  
real-time PCR, 11-15  
Hybridation, 6-18

## I

Icône de clé, 8-5  
Installation, 4-1  
Configuration requise de  
l'ordinateur, 4-3  
ensemble de dosage, 4-15  
exigences de lieu d'installation, 4-1  
exigences de mise à la terre, 4-2  
exigences relatives à l'alimentation,  
4-2  
logiciel, 4-10  
matériel, 4-8  
Intervalles de confiance, 1, 2

**L**

- LinReg
  - exportation vers, 7-10
- Loading Block, 5-4
- Locking Ring
  - 36-Well Rotor, 5-2
  - 72-Well Rotor, 5-2
  - Rotor-Disc 100, 5-3
  - Rotor-Disc 72, 5-2
- Logiciel
  - installation, 4-10
  - interface utilisateur, 7-1
  - messages d'erreur, 12-12
  - mises à jour, 4-25
  - outils système, 4-22
  - version, 4-14

**M**

- Maintenance, 9-1
  - assistant avancé, 6-9
- Maintien, 6-13
- Menu
  - affichage, 7-74
  - aide, 7-112
  - analyse, 7-13
  - cycle d'exécution, 7-73
  - fenêtre, 7-112
  - fichier, 7-6
  - gain, 7-111
  - options d'affichage, 7-90
  - sécurité, 7-91
- Message d'erreur, 12-3, 12-12
- Messages, 7-75
- Mesure de la concentration en acides nucléiques, 6-3, 7-68
- Méthode à deux courbes étalons, 7-37
- Mise au rebut des déchets, 1-8
  - DEEE, 6
- Mises à jour
  - logiciel, 4-25
  - système d'exploitation, 4-22
- Mises en garde, 1-1
- Mode virtuel, 4-13, 7-12
- Modèles
  - ajout à l'assistant avancé, 6-9

- ajout à l'assistant de démarrage rapide, 6-3
- analyse de fusion, 7-50, 8-1
- analyse du graphique à points, 7-58, 8-1
- analyse finale, 7-67, 8-1
- discrimination allélique, 7-55
- discrimination allélique, 8-1
- quantification, 7-36, 8-1
- verrouiller, 7-110
- Modifier les échantillons
  - icônes, 7-82

**N**

- Normalisation, 7-3
  - analyse finale, 7-63
  - tube dynamique, 7-30, 7-57
- Normalisation du tube dynamique, 7-30, 7-57
- Numéro de série, 4-12

**O**

- Optical Denature Cycling (cycle de dénaturation optique), 6-19
- Optimisation du gain, 6-12
- Options de la machine, 7-75
- OTV, 10-1
- Outlook, 7-116

**P**

- Page, 7-3, 7-5, 7-84
- Paramètres d'excitation, 3-4
- Paramètres de détection, 3-4
- Paramètres de gain, 7-111
- Pente, 7-35
- Performances thermiques, 3-1
- Pistes d'audit, 7-105
- Plage longue, 6-15
- Port, 4-12, 7-12
- Préparation de la réaction, 5-4
- Progression du profil, 7-79

## Q

Quantification, 7-15, 1  
Quantification comparative, 7-50  
Quantification relative delta delta CT, 7-42

## R

Réplicat d'étalon, 7-52  
Réticule, 8-7  
Rotor  
    36-Well, 5-2  
    72-Well, 5-2  
    Rotor-Disc 100, 5-3  
    Rotor-Disc 72, 5-2  
    sélection, 6-4, 6-10  
    spécifications, 5-4  
    types, 5-1  
Rotor-Disc  
    configuration, 5-9  
    thermoscellage, 5-9  
Rotor-Disc 100, 5-3  
Rotor-Disc 72, 5-2  
Rotor-Disc OTV Kit, 10-2

## S

Sécurité, 7-91  
    biologique, 1-6  
    configuration Windows 7, 7-93  
    danger lié à la chaleur, 1-11  
    dangers mécaniques, 1-9  
    échantillons, 1-6  
    électrique, 1-4  
    intégration à la sécurité de Windows, 7-92  
    maintenance, 1-11  
    mise au rebut des déchets, 1-8  
    produits chimiques, 1-8  
    utilisation appropriée, 1-2  
    vapeurs toxiques, 1-8  
Seuil, 7-23

Signature, 7-106  
Spécifications  
    matériel, 2  
    optiques, 3  
    thermiques, 3  
Stockage, 2  
Style de ligne, 7-81  
Support, 7-113  
Suppression des aberrations, 7-32  
Supprimer les cycles, 7-3  
Symboles, 1-12  
Système optique, 3-2

## T

TeeChart Office, 8-4, 8-6  
Transport, 2  
Trois étapes avec fusion, 6-2, 6-8  
Trouver automatiquement le seuil, 7-24  
Types d'échantillons, 7-83

## U

Utilisateur  
    attribution des rôles Win7, 7-95, 7-103  
    création d'un compte Win7, 7-93, 7-101  
    plusieurs comptes, 7-103  
Utilisation prévue, 2-3

## V

Vapeurs  
    toxiques, 1-8  
Vérification de la température optique, 10-1  
Verrouiller  
    échantillons, 7-108  
    modèles, 7-110  
Version  
    logiciel, 4-14  
    manuel d'utilisation, 2-3

Marques de commerce : QIAGEN®; Rotor-Disc®; Rotor-Gene® (Groupe QIAGEN); Adobe®; Illustrator® (Adobe Systems, Inc.); Alexa Fluor®, FAM™, HEX™, JOE™, Marina Blue®, ROX™, SYBR®, SYTO®, TET™, Texas Red®, VIC® (Life Technologies Corporation); 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); TeeChart® (Steema Software SL); Yakima Yellow® (Nanogen, Inc.). Les noms déposés, les marques de commerce, etc., cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, doivent être considérés comme protégés par la loi.

Les noms déposés, les marques de commerce, etc., cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, doivent être considérés comme protégés par la loi.

TeeChartOffice : Copyright 2001–2002, 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 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 une trousse. Pour plus d'informations sur l'achat de droits supplémentaires, contactez le Director of Licensing chez Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California, 94404, États-Unis.

Pour les pays concernés :

L'achat de ce produit confère à son acquéreur une licence limitée non transférable en vertu d'un ou de plusieurs 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 diagnostic in vitro chez l'être humain ou l'animal. Aucun droit n'est transmis expressément, par implication ou par préclusion, pour tout réactif ou trousse, 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 trousse et dosages QIAGEN sous licence complète. Pour toute information sur l'achat de licences pour les applications de diagnostic in vitro ou les réactifs, veuillez contacter Roche Molecular Systems, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588, États-Unis.

Pour obtenir des informations actualisées et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel de la trousse ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des trousse et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou peuvent être demandés aux services techniques QIAGEN ou aux distributeurs locaux.

Mai 2018 HB-1818-003 © 2018 QIAGEN, tous droits réservés.





---

Canada ■ [techservice-ca@qiagen.com](mailto:techservice-ca@qiagen.com)

