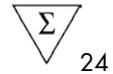


Novembre 2019

Manuel de l'*artus*[®] EBV QS-RGQ kit



Diagnostics quantitatifs in vitro

Pour utilisation avec les appareils QIA Symphony[®] SP/AS et Rotor-Gene[®] Q

Version 2

IVD

CE

REF

4501363



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1 **MAT**

1119830FR

Sommaire

Utilisation prévue	3
Résumé et explication	4
Informations sur l'agent pathogène.....	4
Principe de la procédure	4
Ensembles de contrôles et de paramètres d'essai	5
Matériel fourni	6
Contenu du kit	6
Matériel nécessaire mais non fourni	7
Avertissements et précautions.....	8
Informations de sécurité.....	8
Précautions générales	9
Stockage et manipulation des réactifs	9
Manipulation et stockage des prélèvements	10
Extraction de l'ADN et configuration de l'essai sur le QIA Symphony SP/AS.....	11
Réalisation de la PCR sur le Rotor-Gene Q.....	17
Guide de dépannage	18
Contrôle qualité	21
Limitations	21
Caractéristiques de performances.....	21
Symboles.....	22
Informations pour commander	24
Historique des révisions du document.....	25

Utilisation prévue

L'*artus*[®] EBV QS-RGQ Kit est un test d'amplification d'acide nucléique in vitro visant à quantifier l'ADN du virus d'Epstein-Barr (Epstein-Barr Virus, EBV). Ce kit de test diagnostique est fondé sur le principe de l'amplification en chaîne par polymérase (Polymerase Chain Reaction, PCR) et configuré pour une utilisation avec les appareils QIASymphony SP/AS et Rotor-Gene Q. Pour plus d'informations sur les échantillons biologiques humains spécifiques pour lesquels le kit a été validé, voir les fiches d'application disponibles en ligne à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

QIAGEN continue de développer et de valider d'autres applications pour les *artus* QS-RGQ Kits, telles que l'utilisation avec d'autres types d'échantillons.

La version la plus récente de ce manuel et les fiches d'application associées sont disponibles en ligne à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit est destiné à être utilisé en lien avec le tableau clinique et d'autres biomarqueurs afin d'établir le pronostic de la maladie.

Dans la mesure où QIAGEN surveille les performances du test et valide de nouvelles revendications en permanence, les utilisateurs doivent s'assurer de travailler en suivant la dernière version du mode d'emploi.

Remarque : avant de procéder à la réalisation des tests, vérifier la disponibilité de nouvelles versions des notices électroniques à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

Tous les kits peuvent être utilisés avec les différentes instructions à condition que le numéro de version du manuel et les autres informations sur les étiquettes correspondent au numéro de version du kit. Le numéro de version est inscrit sur chaque étiquette de boîte de kit. QIAGEN garantit la compatibilité entre tous les lots de kits de test présentant le même numéro de version.

Résumé et explication

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit constitue un système prêt à l'emploi pour la détection de l'ADN de l'EBV (virus d'Epstein-Barr) à l'aide d'une amplification en chaîne par polymérase (Polymerase Chain Reaction, PCR) sur les appareils Rotor-Gene Q, la préparation des échantillons et la configuration de l'essai étant effectuées à l'aide des appareils QIASymphony SP/AS.

Informations sur l'agent pathogène

La transmission du virus d'Epstein-Barr (Epstein-Barr Virus, EBV) se fait par voie orale, principalement par salive contaminée. En général, l'infection à EBV est asymptomatique, en particulier si le virus est contracté pendant l'enfance. Le signe clinique d'une infection aiguë est la mononucléose infectieuse avec fièvre, fatigue, angine de poitrine et inflammation des ganglions lymphatiques et de la rate. Chez certains patients, ces symptômes réapparaissent de manière chronique. Des formes sévères de l'infection à l'EBV peuvent être observées chez les patients immunodéficients et les personnes présentant des anomalies des lymphocytes T.

Principe de la procédure

L'EBV RG Master contient des réactifs et des enzymes pour l'amplification spécifique d'un fragment de 97 pb du génome de l'EBV et pour la détection directe de l'amplicon spécifique sur le canal de fluorescence Cycling Green de Rotor-Gene Q.

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit comprend également un deuxième système d'amplification hétérologue pour déceler une éventuelle inhibition de la PCR. Elle est décelée en tant que contrôle interne (Internal Control, IC) du canal de fluorescence Cycling Yellow de Rotor-Gene Q. Cela ne diminue pas la limite de détection de la PCR analytique de l'EBV.

Les contrôles positifs externes (EBV RG QS 1–4) étant fournis, la quantité d'ADN viral peut être déterminée. Pour plus d'informations, voir la fiche d'application appropriée à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

Ensembles de contrôles et de paramètres d'essai

Les ensembles de contrôles d'essai se composent d'un protocole et de paramètres supplémentaires, tels que le contrôle interne, pour la purification d'échantillons avec le QIASymphony SP. Un ensemble de contrôles d'essai par défaut est préinstallé pour chaque protocole.

Les ensembles de paramètres d'essai se composent d'une définition de l'essai et de paramètres définis supplémentaires, tels que le nombre de répliquats et le nombre d'étalons de l'essai pour la configuration de l'essai sur le QIASymphony AS.

Pour des cycles intégrés sur le QIASymphony SP/AS, l'ensemble de paramètres d'essai est directement combiné avec un ensemble de contrôles d'essai en amont spécifiant le processus de purification d'échantillons associé.

Matériel fourni

Contenu du kit

artus EBV QS-RGQ Kit			(24)
Référence catalogue			4501363
Nombre de réactions			24
Couleur du bouchon	Nom du composant	Symbole	Quantité
Bleu	EBV RG Master*	MASTER †	3 x 360 µl
Rouge	EBV QS 1 [†] (5 x 10 ⁴ copies/µl)	QS †	200 µl
Rouge	EBV QS 2 [†] (5 x 10 ³ copies/µl)	QS †	200 µl
Rouge	EBV QS 3 [†] (5 x 10 ² copies/µl)	QS †	200 µl
Rouge	EBV QS 4 [†] (5 x 10 ¹ copies/µl)	QS †	200 µl
Vert	EBV RG IC [§]	IC †	1 000 µl
Blanc	Water (PCR grade) (eau de qualité PCR)		1 000 µl
Manuel			1

* Contient du 1,2,4-triazole. Voir Informations de sécurité.

† Voir page 22 pour la liste des symboles et les définitions.

‡ Étalon de quantification.

§ Contrôle interne.

Matériel nécessaire mais non fourni

Remarque importante : vérifier que les appareils utilisés au cours de cette procédure ont été contrôlés et calibrés conformément aux recommandations du fabricant.

Équipement général de laboratoire

- Pipettes réglables et pointes de pipette stériles avec filtre
- Agitateur Vortex
- Bain-marie permettant l'incubation à 37 °C
- Centrifugeuse de paillasse avec rotor pour tubes réactionnels de 2 ml permettant la centrifugation à 6 800 x g.

Équipement et matériel supplémentaires pour la préparation d'échantillons

- QIASymphony SP (module de QIASymphony RGQ) (réf. catalogue 9001297)
- QIASymphony AS (module de QIASymphony RGQ) (réf. catalogue 9001301)
- Logiciel QIASymphony version 4.0
- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit (réf. catalogue 937055)
- QIASymphony DSP DNA Mini Kit (réf. catalogue 937236)

Équipement supplémentaire pour la PCR

- Appareil Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ou Rotor-Gene Q 5plex HRM (module de QIASymphony RGQ)
- Logiciel Rotor-Gene Q version 2.1 ou ultérieure

Remarque : d'autres informations sur le matériel requis pour des applications spécifiques sont fournies dans la fiche d'application appropriée à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

Avertissements et précautions

Pour utilisation diagnostique in vitro.

Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, porter systématiquement une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Elles sont disponibles en ligne au format PDF à l'adresse www.qiagen.com/safety, où il est possible de trouver, consulter et imprimer les FDS de chaque kit et composant de kit QIAGEN.

Pour les informations de sécurité sur les QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits, consulter le manuel correspondant. Pour les informations de sécurité sur le QIASymphony DSP DNA Mini Kit, consulter le manuel correspondant. Pour les informations de sécurité relatives aux modules des appareils, consulter le manuel d'utilisation de l'appareil concerné.

Jeter les restes d'échantillons, les restes d'essais et les liquides usagés conformément aux règles nationales et locales relatives à la sécurité et à la protection de l'environnement.

EBV RG Master



Contient: 1,2,4-triazole. Attention! Susceptible de nuire à la fertilité ou au fœtus. Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage.

Précautions générales

Toujours faire attention aux éléments suivants :

- Utiliser des pointes de pipette stériles avec filtre.
- Pendant les étapes manuelles, laisser les tubes fermés autant que possible et éviter toute contamination.
- Décongeler complètement tous les composants à température ambiante (entre 15 et 25 °C) avant de commencer un test.
- Une fois qu'ils sont décongelés, mélanger les composants (par aspiration-refoulement avec une pipette ou par vortexages brefs et répétés) et les centrifuger brièvement. Vérifier que les tubes de réactifs ne contiennent pas de mousse ou de bulles.
- Ne pas mélanger de composants issus de kits portant des numéros de lots différents.
- Veiller à ce que les adaptateurs nécessaires soient prérefroidis entre 2 et 8 °C.
- Travailler rapidement et laisser les réactifs pour PCR sur de la glace ou dans le bloc réfrigérant avant le chargement.
- Procéder sans interruption d'une partie du protocole de travail à une autre. Ne pas dépasser 30 minutes de temps de transfert entre chaque module (du QIASymphony SP au QIASymphony AS et du QIASymphony AS au Rotor-Gene Q).

Stockage et manipulation des réactifs

Les composants de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit doivent être stockés entre -30 et -15 °C et sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Éviter de répéter les cycles de congélation-décongélation (pas plus de deux fois), car cela peut diminuer les performances de l'essai.

Manipulation et stockage des prélèvements

Les informations sur la manipulation et le stockage des prélèvements pour des applications spécifiques sont indiquées dans la fiche d'application appropriée à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

Purification de l'ADN viral

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit a été validé en incluant la réalisation d'une étape de purification de l'ADN viral du plasma humain sur le QIASymphony SP à l'aide du QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Voir le *manuel du QIASymphony DSP Virus/Pathogen* pour toutes les informations sur la manière de préparer la cartouche de réactifs pour l'étape de purification des échantillons sur le QIASymphony SP.

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit a été validé en incluant la réalisation d'une étape de purification de l'ADN viral du sang total humain sur le QIASymphony SP à l'aide du QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Voir le *manuel du QIASymphony DNA* pour toutes les informations sur la manière de préparer la cartouche de réactifs pour l'étape de purification des échantillons sur le QIASymphony SP.

Utilisation d'un contrôle interne et d'ARN entraîneur (CARRIER)

L'utilisation des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits et du QIASymphony DSP DNA Mini Kit en association avec l'*artus* EBV QS-RGQ Kit nécessite l'introduction d'un contrôle interne (EBV RG IC) dans la procédure de purification pour surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'essai en aval. De plus, les QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits et le QIASymphony DSP DNA Mini Kit peuvent nécessiter la préparation d'ARN entraîneur (CARRIER). Pour des informations spécifiques sur le contrôle interne et l'utilisation d'ARN entraîneur (CARRIER), voir la fiche d'application appropriée à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

Rendement en acides nucléiques

Les éluats préparés avec de l'ARN entraîneur (CARRIER) peuvent contenir plus d'ARN entraîneur (CARRIER) que d'acides nucléiques cibles. Il est recommandé de déterminer les rendements à l'aide de méthodes d'amplification quantitatives.

Stockage des acides nucléiques

Pour un stockage à court terme d'une durée maximale de 24 heures, nous conseillons de stocker les acides nucléiques purifiés à une température comprise entre 2 et 8 °C. Pour un stockage à long terme de plus de 24 heures, nous conseillons de les stocker entre -30 et -15 °C.

Prise en main des appareils QIASymphony SP/AS

1. Fermer tous les tiroirs et les capots.
2. Allumer les appareils QIASymphony SP/AS et attendre que l'écran **Sample Preparation** (Préparation des échantillons) s'affiche et que l'initialisation soit terminée.
3. Se connecter à l'appareil (cela entraîne le déverrouillage des tiroirs).

Extraction de l'ADN et configuration de l'essai sur le QIASymphony SP/AS

La description suivante est un protocole général pour l'utilisation des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits et du QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Les informations détaillées pour une application spécifique, notamment les volumes et les tubes, sont indiquées dans la fiche d'application appropriée à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

Points importants avant de commencer

- Veiller à bien savoir utiliser les appareils QIASymphony SP/AS. Se référer aux manuels d'utilisation fournis avec les appareils et aux dernières versions disponibles en ligne sur le site qiagen.com/products/qiasymphony-rgq pour le mode d'emploi.
- Avant la première utilisation d'une cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC), vérifier que le Buffer QSL2 et le Buffer QSB1 dans la cartouche ne contiennent pas de précipité. Si nécessaire, retirer les bacs contenant le Buffer QSL2 et le Buffer QSB1 de la cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC) et les incubent pendant 30 minutes à 37 °C, en agitant de temps à autre pour dissoudre le précipité. Veiller à remettre les bacs à la bonne position. Si la cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC) est déjà perforée, vérifier que les bacs sont scellés à l'aide de bandelettes d'étanchéité et incubent l'ensemble de la cartouche au bain-marie pendant 30 minutes à 37 °C en agitant de temps à autre.
- Éviter d'agiter vigoureusement la cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC) afin de ne pas former de mousse, car elle peut entraîner des problèmes de détection du niveau de liquide.
- Travailler rapidement et laisser les réactifs pour PCR sur de la glace ou dans le bloc réfrigérant avant le chargement.
- Les volumes de réactifs sont optimisés pour 24 réactions par kit et par cycle.
- Avant chaque utilisation, veiller à décongeler complètement tous les réactifs, à bien les mélanger (par aspiration-refoulement à l'aide d'une pipette ou par passage rapide dans l'agitateur), puis à les centrifuger pendant au moins 3 secondes à 6 800 x g. Éviter la formation de mousse dans les réactifs.
- Il a été démontré que les éluats de la préparation d'échantillons et tous les composants de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit sont stables dans l'appareil pendant au moins le temps normalement nécessaire à la purification de 96 échantillons et à la configuration de 72 essais, y compris jusqu'à 30 minutes pour le transfert du QIASymphony SP vers le QIASymphony AS et jusqu'à 30 minutes pour le transfert du QIASymphony AS vers le Rotor-Gene Q.

Actions à effectuer avant de commencer

- Préparer tous les mélanges requis. Si nécessaire, préparer les mélanges contenant l'ARN entraîneur (CARRIER) et les contrôles internes juste avant de commencer. Pour plus d'informations, voir la fiche d'application appropriée à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.
- Avant de commencer la procédure, veiller à ce que les particules magnétiques soient complètement remises en suspension. Avant la première utilisation, passer vigoureusement à l'agitateur les particules magnétiques pendant au moins 3 minutes.
- Avant de charger la cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC), retirer le couvercle du bac des particules magnétiques et ouvrir les tubes d'enzymes. Vérifier que le portoir de tubes d'enzymes a été amené à température ambiante (15 à 25 °C).
- Vérifier que le couvercle à perforation se trouve sur la cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC) et que le couvercle du bac des particules magnétiques a été retiré ou, en cas d'utilisation d'une cartouche entamée, que les bandelettes d'étanchéité ont été retirées.
- Si les échantillons sont munis de codes-barres, les orienter dans le porte-tubes de manière à ce que les codes-barres se trouvent face au lecteur situé dans le tiroir « Sample » (Échantillon), sur la gauche du QIASymphony SP.

Configuration du QIASymphony SP

1. Fermer tous les tiroirs et capots des appareils QIASymphony SP/AS.
2. Allumer les appareils et attendre que l'écran **Sample Preparation** (Préparation des échantillons) s'affiche et que l'initialisation soit terminée.

REMARQUE : l'interrupteur d'alimentation est situé dans le coin inférieur gauche du QIASymphony SP.

3. Se connecter aux appareils.
4. Préparer les tiroirs suivants conformément à la fiche d'application appropriée disponible à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

- Tiroir « Waste » (Déchets)
Une fois que le tiroir est prêt, effectuer un inventaire.
 - Tiroir « Eluate » (Éluat)
Une fois que le tiroir est prêt, effectuer un inventaire.
 - Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)
Une fois que le tiroir est prêt, effectuer un inventaire.
 - Tiroir « Sample » (Échantillon)
5. À l'aide de la configuration **Integrated run** (Cycle intégré) sur l'écran tactile du QIASymphony, entrer les informations demandées pour chaque lot d'échantillons à traiter.
6. Sélectionner un ensemble de paramètres d'essai pour le cycle et affecter ce dernier, ainsi que le lot AS correspondant, aux échantillons.
- Les informations sur l'ensemble de paramètres d'essai et sur le volume d'éluion présélectionné sont indiquées dans la fiche d'application appropriée.
- Pour plus d'informations à propos des cycles intégrés sur le QIASymphony SP/AS, voir les manuels d'utilisation des appareils.
7. Lors de la configuration d'un cycle intégré, vérifier que l'affectation du matériel de laboratoire pour échantillons, du type d'échantillon (échantillon, EC+ et EC-) et des volumes est correcte.
- Les informations sur les consommables et les composants à charger dans chaque tiroir sont indiquées dans la fiche d'application appropriée.
8. Une fois que les informations sur tous les lots du cycle intégré ont été entrées, cliquer sur le **Ok** pour quitter la configuration **Integrated run** (Cycle intégré).
- L'état de tous les lots présentés dans l'aperçu du cycle intégré passe de **LOADED** (CHARGÉ) à **QUEUED** (EN ATTENTE). Dès qu'un lot est mis en attente, le bouton **Run** (Cycle) apparaît.
9. Appuyer sur **Run** (Cycle) pour lancer la procédure.
- Toutes les étapes du traitement sont entièrement automatisées.

Configuration du QIASymphony AS

1. Après avoir mis un cycle intégré en attente, ouvrir les tiroirs du QIASymphony AS. Les composants qui doivent être chargés sont présentés sur l'écran tactile.
2. Veiller à toujours respecter les étapes suivantes avant de réaliser un cycle intégré :
 - 2a. Insérer la goulotte d'évacuation des pointes.
 - 2b. Jeter le sachet pour pointes usagées.
 - 2c. Installer un sachet pour pointes usagées vide.
3. Définir et charger le ou les portoirs à essai. Les portoirs à essai dans les adaptateurs prérefroidis sont chargés dans les emplacements « Assay » (Essai). Les informations sur les portoirs à essai sont indiquées dans la fiche d'application appropriée à l'adresse <https://www.qiagen.com/productsartus-ebv-pcr-kits-ce>.
4. Vérifier la température des positions de refroidissement.

Une fois que les températures de refroidissement cibles sont atteintes, le petit astérisque en regard de chaque emplacement devient vert.

5. Regrouper tous les tubes d'EBV RG Master d'un seul kit dans un même tube avant utilisation.

Remarque : il peut être difficile de manipuler les réactifs visqueux avec des pipettes manuelles. Veiller à bien transférer tout le volume d'EBV RG Master dans le tube.

6. Remplir chaque tube de réactif avec le volume requis du réactif approprié conformément aux informations de chargement indiquées par le logiciel de l'appareil.

Remarque : avant chaque utilisation, veiller à décongeler complètement tous les réactifs, à bien les mélanger (par aspiration-refoulement à l'aide d'une pipette ou par passage rapide dans l'agitateur), puis à les centrifuger pendant au moins 3 secondes à 6 800 x g. Éviter la formation de mousse et de bulles, car elles peuvent entraîner des problèmes de détection. Travailler rapidement et laisser les composants pour PCR sur de la glace ou dans le bloc réfrigérant avant le chargement.

7. Charger le portoir à réactifs et placer les tubes de réactifs, sans les couvercles, dans les positions correspondantes des adaptateurs pour réactifs prérefroidis, conformément à la fiche d'application appropriée.

8. Charger les pointes à filtre jetables dans les tiroirs « Eluate and Reagents » (Éluat et réactifs) et « Assays » (Essais) en fonction du nombre nécessaire pour chaque type de pointe indiqué sur la fiche d'application appropriée.
9. Fermer les tiroirs « Eluate and Reagents » (Éluat et réactifs) et « Assays » (Essais).
10. Après avoir fermé chaque tiroir, appuyer sur **Scan** (Lire) pour démarrer l'inventaire de chacun d'eux.

L'inventaire vérifie les emplacements, les adaptateurs, les pointes à filtre et la goulotte d'évacuation des pointes, ainsi que le chargement correct des volumes de réactifs spécifiques. Si nécessaire, corriger toute erreur survenue.

La configuration de l'essai démarre automatiquement une fois que l'étape de purification sur le QIASymphony SP est achevée et que les portoirs à éluats sont transférés vers le QIASymphony AS.

11. Une fois le cycle achevé, appuyer sur **Remove** (Retirer) sur l'écran **Overview** (Aperçu) de la configuration de l'essai. Ouvrir le tiroir « Assays » (Essais) et décharger le ou les portoirs à essai.
12. Télécharger les fichiers de résultats et du thermocycleur.
13. Si plusieurs lots sur le QIASymphony AS sont configurés dans un cycle intégré, recharger les tiroirs du QIASymphony AS en reprenant à l'étape 1.
14. Suivre la procédure « Réalisation de la PCR sur le Rotor-Gene Q ».
15. Effectuer les opérations de maintenance courante du QIASymphony AS pendant le cycle de PCR sur le Rotor-Gene Q ou ultérieurement.

Le protocole de travail se déroulant de façon intégrée, nettoyer tous les appareils une fois qu'il est terminé.

Suivre les instructions relatives à la maintenance du *manuel d'utilisation du QIASymphony SP/AS – Description générale*. Veiller à effectuer la maintenance régulièrement pour réduire le risque de contamination croisée.

Réalisation de la PCR sur le Rotor-Gene Q

Points importants avant de commencer

- Prendre le temps de se familiariser avec l'appareil Rotor-Gene Q avant de démarrer le protocole. Consulter le manuel d'utilisation de l'appareil.
- Veiller à ce que chaque cycle de PCR comprenne les 4 étalons de quantification et au moins un contrôle négatif (eau de qualité PCR). Pour générer une courbe d'étalonnage, utiliser les 4 étalons de quantification fournis (EBV QS 1–4) pour chaque cycle de PCR.

Procédure

1. Fermer les tubes de PCR et les placer dans le 72-Well Rotor du Rotor-Gene Q.
2. Veiller à transférer les tubes en barrettes de 4 du Rotor-Gene Q dans la bonne orientation, de manière à ce que les indices de position de l'adaptateur de refroidissement correspondent à ceux du rotor.
3. Veiller à ce que la bague de verrouillage (un accessoire de l'appareil Rotor-Gene Q) soit placée au-dessus du rotor pour prévenir toute ouverture accidentelle des tubes pendant le cycle.
4. Transférer le fichier du thermocycleur du QIA Symphony AS vers l'ordinateur du Rotor-Gene Q.
5. Pour la détection de l'ADN de l'EBV, créer un profil de température et lancer le cycle conformément à la fiche d'application appropriée à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>. Les informations spécifiques au logiciel sur la programmation du Rotor-Gene Q sont indiquées dans la fiche de protocole appropriée *Paramètres d'utilisation* des *artus QS RGQ Kits* à l'adresse <https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce>.

Interprétation des résultats

Voir la fiche d'application appropriée à l'adresse [qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce](https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce) pour plus d'informations sur l'interprétation des résultats.

Guide de dépannage

Ce guide de dépannage peut vous permettre de résoudre les problèmes éventuels. Pour les coordonnées, voir quatrième de couverture ou le site www.qiagen.com.

Commentaires et suggestions

Manipulation générale

Message d'erreur affiché sur l'écran tactile

En cas d'affichage d'un message d'erreur pendant un cycle intégré, se reporter au manuel d'utilisation fourni avec les appareils.

Précipité dans un bac à réactif de la cartouche entamée du QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit ou QIASymphony DSP DNA Mini Kit

- a) Évaporation du tampon
- Une évaporation excessive peut augmenter la concentration en sel ou diminuer la concentration en alcool dans les tampons. Jeter la cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC). Lorsqu'une cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC) entamée n'est pas utilisée pour la purification, veiller à ce que les bacs à tampons soient scellés avec des bandelettes d'étanchéité.
- b) Stockage des cartouches de réactifs (Reagent Cartridge, RC)
- Le stockage des cartouches de réactifs (Reagent Cartridge, RC) en dessous de 15 °C peut provoquer la formation de précipités. Si nécessaire, retirer les bacs contenant le Buffer QSL2 et le Buffer QSB1 de la cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC) et les incuber au bain-marie pendant 30 minutes à 37 °C, en agitant de temps à autre pour dissoudre le précipité. Veiller à remettre les bacs à la bonne position. Si la cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC) est déjà perforée, vérifier que les compartiments sont refermés par des bandelettes d'étanchéité et incuber la cartouche de réactifs entière au bain-marie pendant 30 minutes à 37 °C en agitant temps à autre.

Faible rendement en acides nucléiques

- a) Remise en suspension incomplète des particules magnétiques
- Avant de commencer la procédure, veiller à ce que les particules magnétiques soient complètement remises en suspension. Passer dans l'agitateur pendant au moins 3 minutes avant utilisation.
- b) Les échantillons congelés ont été mal mélangés après décongélation
- Décongeler les échantillons sous agitation douce pour garantir un mélange correct.
- c) ARN porteur (CARRIER) non ajouté
- Reconstituer l'ARN entraîneur (CARRIER) dans du Buffer AVE (AVE) ou du Buffer ATE (ATE) et mélanger le tout avec un volume approprié de Buffer AVE (AVE) ou de Buffer ATE (ATE), comme décrit dans la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-æ. Répéter la procédure de purification avec de nouveaux échantillons.

Commentaires et suggestions

d)	Acides nucléiques dégradés	Les échantillons n'ont pas été stockés correctement ou ont subi trop de cycles de congélation-décongélation. Répéter la procédure de purification avec de nouveaux échantillons.
e)	Lyse des échantillons incomplète	Avant utilisation, vérifier l'absence de précipité dans le Buffer QSL2 et le Buffer QSB1. Si nécessaire, retirer les bacs contenant le Buffer QSL1 et le Buffer QSB1 de la cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC) et les incuber pendant 30 minutes à 37 °C, en agitant de temps à autre pour dissoudre le précipité. Si la cartouche de réactifs (Reagent Cartridge, RC) est déjà perforée, vérifier que les bacs sont refermés à l'aide de bandelettes d'étanchéité et incuber l'ensemble de la cartouche au bain-marie pendant 30 minutes à 37 °C en agitant de temps à autre.
f)	Obstruction de la pointe de pipette par une substance insoluble	La substance insoluble n'a pas été éliminée de l'échantillon avant la purification sur QIASymphony. Pour éliminer la substance insoluble dans le cas d'applications impliquant des virus, centrifuger l'échantillon à 3 000 x g pendant 1 minute et transférer le surnageant dans un nouveau tube d'échantillon.

QIASymphony AS détecte un manque de mélange principal

Le mélange principal n'a pas été entièrement transféré vers le tube

Regrouper tous les tubes d'EBV RG Master d'un seul kit dans un même tube avant utilisation. Il peut être difficile de manipuler les réactifs visqueux avec des pipettes manuelles. Veiller à bien transférer tout le volume de mélange principal dans le tube.

Pour les réactifs visqueux, nous recommandons d'aspirer un volume supplémentaire de 5 % en cas d'utilisation de pipettes manuelles (par ex. régler la pipette sur 840 µl pour un volume de 800 µl).

Une autre solution consiste à retirer la pointe du liquide, à relâcher le piston de la pipette et à attendre 10 secondes supplémentaires après avoir lentement distribué le liquide et expulsé un peu d'air sur la paroi du tube. Le liquide restant s'écoule le long de la pointe et peut être expulsé en appuyant une seconde fois sur le piston de la pipette. L'utilisation de pointes à filtre de qualité PCR marquées « low retention » (faible rétention) peut améliorer la récupération du liquide.

Pas de signal avec les contrôles positifs (EBV RG QS 1–4) sur le canal de fluorescence Cycling Green

a)	Le canal de fluorescence sélectionné pour l'analyse des données de PCR n'est pas conforme au protocole	Pour l'analyse des données, sélectionnez le canal de fluorescence Cycling Green pour la PCR analytique de l'EBV et le canal de fluorescence Cycling Yellow pour la PCR du contrôle interne.
b)	Mauvaise programmation du profil de température de l'appareil Rotor-Gene Q	Comparer le profil de température avec le protocole. Voir la fiche d'application et la fiche de protocole appropriées à l'adresse www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce .
c)	Mauvaise configuration de la PCR	Vérifier que la configuration de l'essai a été effectuée correctement et que le bon ensemble de paramètres d'essai a été utilisé. Répéter la PCR si nécessaire. Voir la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kits-ce .

Commentaires et suggestions

- | | | |
|----|---|--|
| d) | Les conditions de stockage d'un ou plusieurs composants du kit n'étaient pas conformes aux instructions indiquées dans « Stockage et manipulation des réactifs ». | Vérifier les conditions de stockage et la date de péremption des réactifs sur l'étiquette du kit et utiliser un nouveau kit si nécessaire. |
| e) | L' <i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit a expiré. | Vérifier les conditions de stockage et la date de péremption des réactifs sur l'étiquette du kit et utiliser un nouveau kit si nécessaire. |

Signal faible ou inexistant du contrôle interne d'un échantillon de plasma négatif purifié avec le QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit ou le QIASymphony DSP DNAMini Kit sur le canal de fluorescence Cycling Yellow et absence de signal simultanée sur le canal Cycling Green

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Les conditions de la PCR ne respectent pas le protocole | Vérifier les conditions de la PCR (voir ci-dessus) et si nécessaire, répéter la PCR après correction des paramètres. |
| b) | La PCR a été inhibée | Veiller à bien utiliser la méthode d'extraction validée (voir « Extraction de l'ADN et configuration de l'essai sur le QIASymphony SP/AS ») et suivre les instructions à la lettre. |
| c) | De l'ADN a été perdu lors de l'extraction | L'absence de signal du contrôle interne peut indiquer la perte d'ADN au cours de l'extraction. Veiller à bien utiliser la méthode d'extraction validée (voir « Extraction de l'ADN et configuration de l'essai sur le QIASymphony SP/AS ») et suivre les instructions à la lettre.

Voir également « Faible rendement en acides nucléiques », ci-dessus. |
| d) | Les conditions de stockage d'un ou plusieurs composants du kit n'étaient pas conformes aux instructions indiquées dans « Stockage et manipulation des réactifs ». | Vérifier les conditions de stockage et la date de péremption des réactifs sur l'étiquette du kit et utiliser un nouveau kit si nécessaire. |
| e) | L' <i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit a expiré. | Vérifier les conditions de stockage et la date de péremption des réactifs sur l'étiquette du kit et utiliser un nouveau kit si nécessaire. |

Signaux avec les contrôles négatifs sur le canal de fluorescence Cycling Green de la PCR analytique

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Une contamination s'est produite lors de la préparation de la PCR | Répéter la PCR avec de nouveaux réactifs en réplicats.

Si possible, fermer les tubes de PCR juste après l'addition de l'échantillon à tester.

Veiller à ce que le plan de travail et les appareils soient décontaminés à intervalles réguliers. |
| b) | Une contamination s'est produite pendant l'extraction | Répéter l'extraction et la PCR de l'échantillon à tester avec de nouveaux réactifs.

Veiller à ce que le plan de travail et les appareils soient décontaminés à intervalles réguliers. |

Contrôle qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot d'*artus* EBV QS-RGQ Kit est testé selon des spécifications prédéterminées afin de garantir une qualité constante du produit.

Limitations

Tous les réactifs ne peuvent être utilisés que dans le cadre de diagnostics *in vitro*.

L'utilisation de ce produit est uniquement réservée à un personnel spécialement formé aux procédures de diagnostic *in vitro*.

Pour obtenir les meilleurs résultats de PCR possible, veiller à vous conformer strictement au manuel d'utilisation.

Il est important de respecter les dates de péremption imprimées sur les boîtes et les étiquettes de tous les composants. Ne pas utiliser de composants périmés.

Bien que rares, les mutations au sein des régions hautement conservées du génome viral couvertes par les amorces et/ou la sonde du kit peuvent entraîner une sous-quantification ou un échec de la détection du virus. La validité et les performances du format d'analyse sont contrôlées à intervalles réguliers.

Caractéristiques de performances

Voir www.qiagen.com/artus-ebv-pcr-kits-ce pour les caractéristiques de performances de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit.

Symboles

Le tableau suivant décrit les symboles pouvant apparaître sur les étiquettes ou dans ce document.



<N>

Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions



À utiliser avant

IVD

Dispositif médical de diagnostic in vitro

REF

Référence catalogue

LOT

Numéro de lot

MAT

Référence produit

COMP

Composants

CONT

Contient

NUM

Nombre

GTIN

Code article international (Global Trade Item Number, GTIN)

Rn

R désigne une révision du manuel et n représente le numéro de révision



Limite de température



Fabricant



Consulter le mode d'emploi



Attention

MASTER

Mélange principal

MG-SOL

Solution de magnésium

QS

Étalon de quantification

IC

Contrôle interne



Risque pour la santé

Informations pour commander

Produit	Contenu	Référence catalogue
<i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit (24)	Pour 24 réactions : mélange principal, 4 étalons de quantification, contrôle interne, eau (de qualité PCR)	4501363
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit	Pour 96 préparations (1 000 µl chacune) : comprend 2 cartouches de réactifs, des portoirs de tubes d'enzymes et des accessoires	937055
QIASymphony DSP DNA Mini Kit	Pour 192 préparations (200 µl chacune) : comprend 2 cartouches de réactifs, des portoirs de tubes d'enzymes et des accessoires	937236
QIASymphony RGQ System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, accessoires et consommables nécessaires, installation et formation	9001850

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

Historique des révisions du document

Date	Modifications
R1 11/2019	Réactualisation de la version de l' <i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit de la version 1 à la version 2 ; réactualisation de la section « Contenu du kit » pour ajouter les informations sur l'EBV RG Master ; addition des avertissements sur les substances dangereuses dans la section sur la sécurité ; suppression du QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit ; clarification des températures de stockage ; réactualisations de la mise en page.

L'achat de ce produit permet à l'acquéreur de l'utiliser afin d'effectuer des diagnostics *in vitro* humains. Aucun brevet général ni licence d'aucune sorte autre que ce droit spécifique d'utilisation à l'achat n'est accordé par la présente.

L'*artus* EBV QS-RGQ Kit est un kit de diagnostic homologué CE conforme à la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. Disponible dans certains pays uniquement.

Contrat de licence limitée pour l'*artus* EBV QS-RGQ Kit

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit ne doit être utilisé qu'avec les composants fournis à l'intérieur du kit et conformément aux protocoles fournis et à ce manuel. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce kit avec tout autre composant non fourni dans ce kit, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, dans ce manuel et dans d'autres protocoles disponibles sur le site www.qiagen.com. Parmi ces protocoles supplémentaires, certains ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour les utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne saurait être tenue pour responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce kit et/ou son ou ses utilisations ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
3. Ce kit et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du kit consent à ne pas prendre ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de ce contrat de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas de procédure en application de ce contrat de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au kit et/ou à ses composants.

Pour consulter les mises à jour de la licence, voir le site www.qiagen.com.

Marques commerciales : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (Groupe QIAGEN).

Les noms déposés, les marques commerciales, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

1119830 11/2019 HB2733-001 © 2019 QIAGEN, tous droits réservés.

