

Manuel du kit *artus*[®] HBV QS-RGQ

 24 (référence 4506363)

 72 (référence 4506366)

Version 1

IVD

Diagnostics in vitro quantitatifs

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



REF

4506363, 4506366



1060925FR



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMAGNE

R5

MAT

1060925FR



Technologies d'échantillons et d'analyses QIAGEN

QIAGEN est le premier fournisseur de technologies novatrices d'échantillons et d'analyses, permettant d'isoler et de détecter le contenu de n'importe quel échantillon biologique. Nos produits et services ultramodernes de grande qualité garantissent un succès total, de l'échantillon jusqu'au résultat.

QIAGEN fixe les normes en matière de :

- purification d'ADN, d'ARN et de protéines ;
- analyse d'acides nucléiques et de protéines ;
- recherche de microARN et interférence ARN ;
- automatisation des technologies d'échantillons et d'analyses.

Notre mission est de permettre à notre clientèle de réussir et d'accomplir des progrès décisifs. Pour plus d'informations, visiter www.qiagen.com.

Sommaire

Utilisation prévue	4
Résumé et description du test	5
Informations sur l'agent pathogène	5
Matériel fourni	6
Contenu du kit	6
Matériel nécessaire mais non fourni	7
Avertissements et précautions	8
Précautions générales	8
Conservation et manipulation des réactifs	9
Manipulation et conservation des échantillons	9
Procédure	10
Prise en main des appareils QIA Symphony SP/AS	10
Purification de l'ADN viral	10
Utilisation d'un contrôle interne et d'ARN entraîneur (CARRIER)	10
Jeu de contrôles d'analyse et de paramètres d'analyse	10
Rendement en acides nucléiques	11
Stockage des acides nucléiques	11
Protocoles	
■ Isolement de l'ADN et configuration de test sur le QIA Symphony SP/AS	12
■ PCR sur le Rotor-Gene Q	17
Interprétation des résultats	18
Résolution des principaux problèmes rencontrés	18
Contrôle qualité	24
Limitations	24
Caractéristiques de performance	24
Références	25
Symboles	25
Coordonnées	26
Pour commander	27

Utilisation prévue

Le kit *artus* HBV QS-RGQ est un test d'amplification d'acide nucléique in vitro visant à quantifier l'ADN du virus de l'hépatite B (VHB) dans le plasma EDTA humain. Ce kit de test de diagnostic exploite le principe de l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) et il est configuré pour une utilisation avec les appareils QIASymphony SP/AS et Rotor-Gene Q. Pour plus d'informations sur les échantillons biologiques humains spécifiques ayant servi à la validation du kit, consulter les fiches d'application disponibles en ligne à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.

QIAGEN continue de développer et de valider de nouvelles applications pour les kits *artus* QS-RGQ, 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 www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.

Le kit *artus* HBV QS-RGQ doit être utilisé en association avec une présentation clinique et d'autres marqueurs de laboratoire afin d'établir le pronostic de la maladie et comme outil d'évaluation de la réponse virale au traitement antirétroviral, mesurée par les variations des taux d'ARN du VHB dans le plasma EDTA humain. Le kit *artus* HBV QS-RGQ n'est pas conçu pour être utilisé comme test de dépistage du VHB ou comme test de diagnostic visant à confirmer la présence d'une infection par le VHB.



Pour plus d'informations sur les échantillons biologiques humains spécifiques ayant servi à la validation du kit, consulter les fiches d'application disponibles en ligne à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.

Étant donné que QIAGEN évalue en permanence les performances du test et entérine de nouvelles annonces, il est demandé aux utilisateurs de veiller à utiliser la dernière version de la notice d'instructions.



Vérifier la disponibilité de nouvelles révisions de notices électroniques à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx avant d'utiliser le test.

Tous les kits peuvent être utilisés selon les consignes d'instruction respectives à condition que le numéro de version du manuel et autres informations d'étiquetage correspondent au numéro de version du kit. Le numéro de version est affiché 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 description du test

Le kit *artus* HBV QS-RGQ constitue un système prêt à l'emploi pour la détection de l'ADN du VHB par le biais d'une amplification en chaîne par polymérase (PCR) sur les appareils Rotor-Gene Q avec préparation d'échantillon et configuration de test au moyen des appareils QIASymphony SP/AS. Le HBV RG/TM Master contient des réactifs et des enzymes pour l'amplification spécifique d'un fragment de génome de 134 bp du VHB et pour la détection directe de l'amplicon spécifique par le canal de fluorescence Cycling Green du Rotor-Gene Q.


En outre, le kit *artus* HBV QS-RGQ contient un second système d'amplification hétérologue permettant d'identifier une éventuelle inhibition de la PCR. Elle est détectée en tant que solution contrôle interne (IC) dans le canal de fluorescence Cycling Yellow du Rotor-Gene Q. Ceci n'affecte en rien la limite de détection de la PCR analytique du VHB. Les contrôles positifs externes (HBV RG/TM QS 1–5) fournis permettent de déterminer la quantité d'ADN viral. Pour plus d'informations, consulter la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.

Informations sur l'agent pathogène

La transmission du virus de l'hépatite B (VHB) se fait principalement par le sang ou les produits sanguins. Des transmissions par voie sexuelle, orale ou périnatale sont cependant également possibles. Un état fébrile avec perte d'appétit, vomissements et douleurs abdominales peut être suivi, chez 10 à 20 % des personnes infectées, par une fièvre, des exanthèmes (éruption cutanée) ainsi que des douleurs musculaires et articulaires rhumatismales. Après 2 à 14 jours, un ictère se développe, pouvant être associé à un prurit. Une hépatite aiguë fulminante se développe chez 1 % des personnes infectées, avec une issue souvent mortelle. Par contre, chez 5 à 10 % des patients, une hépatite chronique se développe, pouvant évoluer en cirrhose hépatique ou en carcinome hépatocellulaire primaire.

Matériel fourni

Contenu du kit

artus HBV QS-RGQ Kit			(24)	(72)
Référence			4506363	4506366
Nombre de réactions			24	72
Bleu	HBV RG/TM Master		3 x 360 µl	7 x 360 µl
Rouge	HBV RG/TM QS 1* (1 x 10 ⁵ UI/µl)	QS	200 µl	200 µl
Rouge	HBV RG/TM QS 2* (1 x 10 ⁴ UI/µl)	QS	200 µl	200 µl
Rouge	HBV RG/TM QS 3* (1 x 10 ³ UI/µl)	QS	200 µl	200 µl
Rouge	HBV RG/TM QS 4* (1 x 10 ² UI/µl)	QS	200 µl	200 µl
Rouge	HBV RG/TM QS 5* (1 x 10 ¹ UI/µl)	QS	200 µl	200 µl
Vert	HBV RG/TM IC [†]	IC	1.000 µl	2 x 1.000 µl
Blanc	Water (PCR grade) (eau (qualité PCR))		1.000 µl	1.000 µl
	Handbook (manuel)		1	1

* Étalon de quantification.

† Contrôle interne.

Matériel nécessaire mais non fourni

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter 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 disponibles auprès du fournisseur du produit.

- Pipettes réglables* et cônes de pipette stériles munis de filtres
- Agitateur Vortex*
- Micro-centrifugeuse* avec rotor pour tubes réactionnels de 2 ml supportant une centrifugation à 6.800 x g

Pour la préparation des échantillons

- QIASymphony SP (référence 9001297)*
- QIASymphony AS (référence 9001301)*

Pour la PCR

- Appareil Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ou Rotor-Gene Q 5plex HRM*
- Logiciel Rotor-Gene Q version 2.1 ou supérieure
- Facultatif : Logiciel Rotor-Gene AssayManager† version 1.0 ou supérieure

Remarque : Pour des informations supplémentaires sur le matériel requis dans le cadre d'applications spécifiques, consulter la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpckitce.aspx.

* S'assurer que tous les appareils sont vérifiés et calibrés selon les recommandations du fabricant.

† Il est prévu que le logiciel Rotor-Gene AssayManager soit disponible avant la fin de l'année 2012.

Avertissements et précautions

Pour utilisation en diagnostic in vitro

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

Pour connaître les informations de sécurité relatives au kit de purification utilisé, consulter le manuel du kit en question. Pour connaître les informations de sécurité relatives aux appareils, consulter le manuel d'utilisation de l'appareil en question.

Mettre au rebut les déchets d'échantillons et de tests conformément aux règles de sécurité locales.

Précautions générales

Toujours respecter les mesures suivantes :

- Utiliser des cônes de pipette stériles avec filtre.
- Pendant les étapes manuelles, laisser les tubes fermés si possible et éviter toute contamination.
- Décongeler tous les composants pour les amener à température ambiante (15 à 25 °C) avant le début du test.
- Une fois décongelés, mélanger les composants (en pipetant plusieurs fois de bas en haut ou en mélangeant par vortexage intermittent) et 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.
- Vérifier que les adaptateurs nécessaires sont préalablement refroidis entre 2 et 8 °C.
- Travailler rapidement et laisser les réactifs pour PCR dans de la glace ou dans un bloc réfrigérant avant le chargement.
- Toujours respecter l'ordre du flux de travail. Ne pas dépasser 30 minutes de temps de transfert entre chaque module (du QIASymphony SP au QIASymphony AS et au Rotor-Gene Q).

Conservation et manipulation des réactifs

Les composants du kit *artus* HBV QS-RGQ doivent être stockés entre –15 et –30 °C et sont stables jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'étiquette. Il faut éviter les étapes de congélation-décongélation répétées (> 2 x), car cela peut diminuer la sensibilité du test.

Manipulation et conservation des échantillons

Pour des informations sur la manipulation et le stockage des échantillons dans le cadre d'applications spécifiques, consulter la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpckitce.aspx.

Procédure

Prise en main des appareils QIASymphony SP/AS

Fermer tous les tiroirs et les capots.

Mettre le QIASymphony SP/AS sous tension et attendre l'affichage de l'écran « Sample Preparation » (Préparation des échantillons) et la fin de l'initialisation.

Se connecter à l'appareil (les tiroirs se déverrouilleront).

Purification de l'ADN viral

Le kit *artus* HBV QS-RGQ a été validé par une étape de purification de l'ADN viral effectuée sur le QIASymphony SP avec le kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen. Consulter le *Manuel du QIASymphony DSP Virus/Pathogen* pour obtenir toutes les informations sur la manière de préparer la cartouche de réactifs (RC) pour l'étape de purification de l'échantillon sur le QIASymphony SP.

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

L'emploi des kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen conjointement avec le kit *artus* HBV QS-RGQ nécessite l'introduction d'un contrôle interne (HBV RG/TM IC) dans la procédure de purification afin de surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'analyse en aval. En outre, les kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen peuvent nécessiter la préparation d'ARN entraîneur (CARRIER). Pour des informations spécifiques sur le contrôle interne et l'utilisation d'ARN entraîneur (CARRIER), consulter la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.

Jeu de contrôles d'analyse et de paramètres d'analyse

Les jeux de contrôles d'analyse se composent d'un protocole et de paramètres supplémentaires, tels qu'un contrôle interne, pour la purification d'échantillon sur le QIASymphony SP. Un jeu de contrôles d'analyse par défaut est préinstallé pour chaque protocole.

Les jeux de paramètres d'analyse se composent d'une définition d'analyse et de paramètres supplémentaires définis, tels qu'un nombre de réplicats et plusieurs règles d'analyse, pour la configuration de test sur le QIASymphony AS.

Pour effectuer des cycles d'analyse intégrés sur le QIASymphony SP/AS, le jeu de paramètres d'analyse est directement lié à l'avance à un jeu de contrôles d'analyse spécifiant le processus de purification d'échantillon associé.

Rendement en acides nucléiques

Les éluats préparés avec de l'ARN entraîneur (CARRIER) peuvent contenir plus d'ARN entraîneur 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 à -20 °C.

Protocole : Isolement de l'ADN et configuration de test sur le QIASymphony SP/AS

La description suivante est un protocole général adapté aux kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen. Pour obtenir des informations détaillées sur une application spécifique, notamment les volumes et les tubes, consulter la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.

Remarques importantes avant de commencer

- S'assurer de bien connaître le fonctionnement des appareils QIASymphony SP/AS. Se reporter aux manuels d'utilisation fournis avec les appareils et aux versions les plus récentes disponibles en ligne à l'adresse www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx pour les consignes de fonctionnement.
- Avant la première utilisation d'une cartouche de réactifs (RC), vérifier que les tampons QSL2 et QSB1 contenus dans la cartouche (RC) ne contiennent pas de précipité. Si nécessaire, retirer les compartiments contenant les tampons QSL2 et QSB1 de la cartouche de réactifs (RC) et les incubent pendant 30 min à 37 °C en agitant de temps en temps pour dissoudre le précipité. Veiller à remettre les compartiments à la bonne position. Si la cartouche de réactifs (RC) est déjà perforée, vérifier que les compartiments sont scellés par des bandelettes d'étanchéité et incubent la cartouche de réactifs (RC) entière à 37 °C pendant 30 min en remuant de temps en temps.*
- Essayer d'éviter toute agitation violente de la cartouche de réactifs (RC) afin de ne pas créer de mousse, source potentielle de problèmes de détection du niveau de liquide.
- Travailler rapidement et laisser les réactifs pour PCR dans de la glace ou dans un bloc réfrigérant avant le chargement.
- Les volumes de réactifs sont optimisés pour 24 ou 72 réactions par kit et par cycle (références 4506363 et 4506366, respectivement).
- Avant chaque utilisation, décongeler impérativement tous les réactifs complètement, les mélanger (par pipetage répété de haut en bas ou par vortexage rapide) et les centrifuger pendant au moins 3 secondes à 6.800 x g. Éviter de faire mousser les réactifs.

* S'assurer que tous les appareils sont vérifiés et calibrés régulièrement selon les instructions du fabricant.

- Les éluats de la préparation d'échantillon et tous les composants du kit *artus* HBV QS-RGQ se sont révélés stables dans l'appareil pendant au moins la durée normale nécessaire à la purification de 96 échantillons et à la configuration de 72 tests, comprenant jusqu'à 30 minutes de temps de transfert du QIASymphony SP au QIASymphony AS et jusqu'à 30 minutes de temps de transfert du QIASymphony AS au Rotor-Gene Q.

Avant de commencer

- Préparer tous les mélanges requis. Au besoin, préparer les mélanges contenant l'ARN entraîneur (CARRIER) et les contrôles internes juste avant de commencer. Pour plus d'informations, consulter la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.
- Avant de commencer la procédure, s'assurer de la remise en suspension complète des particules magnétiques. Avant la première utilisation, mélanger énergiquement au vortex le compartiment des particules magnétiques pendant au moins 3 min.
- Avant de charger la cartouche de réactifs (RC), retirer le couvercle du compartiment des particules magnétiques et ouvrir les tubes d'enzyme. Vérifier que le portoir de tubes d'enzyme a été amené à température ambiante (15 à 25 °C).
- Vérifier que le couvercle perforateur (PL) se trouve sur la cartouche de réactifs (RC) et que le couvercle du compartiment 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 portent un code-barres, les orienter dans le porte-tubes de manière que les codes-barres se trouvent face au lecteur situé dans le tiroir « Sample » (Échantillon), à gauche du QIASymphony SP.

Procédure

Purification d'ADN viral sur le QIASymphony SP

- 1. Fermer tous les tiroirs et les capots des appareils QIASymphony SP/AS.**
- 2. Mettre les appareils sous tension et attendre l'affichage de l'écran « Sample Preparation » puis la fin de l'initialisation.**
L'interrupteur d'alimentation est situé dans le coin inférieur gauche de l'appareil.
- 3. Se connecter aux appareils.**
- 4. Préparer les tiroirs suivants selon la fiche d'application appropriée disponible à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.**

- Tiroir « Waste » (Poubelle) ; une fois préparé, procéder à un inventaire.
 - Tiroir « Eluate » (Éluat) ; une fois préparé, procéder à un inventaire.
 - Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables) ; une fois préparé, procéder à un inventaire.
 - Tiroir « Sample »
- 5. À l'aide de la configuration « Integrated run » (Cycle intégré) sur l'écran tactile du QIASymphony, saisir les informations demandées pour chaque lot d'échantillons à traiter. Sélectionner un jeu de paramètres d'analyse pour le cycle et assigner ce dernier, ainsi que le lot AS correspondant, aux échantillons.**
- Pour des informations sur le jeu de paramètres d'analyse et le volume d'éluat présélectionné, consulter la fiche d'application appropriée.
- Pour plus d'informations sur les cycles intégrés sur le QIASymphony SP/AS, consulter les manuels d'utilisation des appareils.
- 6. Lors de la configuration d'un cycle intégré, vérifier que le matériel de laboratoire, le type d'échantillon (échantillon, EC+ et EC-) et les volumes sont convenablement assignés.**
- Pour obtenir des informations sur les consommables et les composants à charger dans chaque tiroir, consulter la fiche d'application appropriée.
- 7. Une fois les informations de tous les lots du cycle intégré saisies, cliquer sur le bouton « Ok » (Ok) pour quitter la configuration « Integrated run ». L'état de tous les lots visible dans l'aperçu du cycle intégré passe de « LOADED » (CHARGÉ) à « QUEUED » (DANS LA FILE D'ATTENTE). Dès qu'un lot est placé dans la file d'attente, le bouton « Run » (Exécuter) s'affiche. Appuyer sur le bouton « Run » pour démarrer la procédure.**
- Toutes les étapes de traitement sont entièrement automatisées.

Chargement des tiroirs du QIASymphony AS pour la configuration de test

- 8. Après qu'un cycle intégré a été mis dans la file d'attente, ouvrir les tiroirs du QIASymphony AS. Les composants qui doivent être chargés sont indiqués sur l'écran tactile.**
- 9. Toujours s'assurer d'effectuer les étapes suivantes avant un cycle intégré.**
- Insérer la goulotte d'évacuation des cônes.
 - Mettre le sachet pour cônes usagés au rebut.
 - Installer un sachet pour cônes usagés vide.

- 10. Définir et charger le ou les portoirs à essais. Le ou les portoirs à essais, placés dans des adaptateurs préalablement refroidis, sont chargés dans les emplacements « Assay » (Essai). Pour des informations sur les portoirs à essais, consulter la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.**
- 11. Vérifier la température des positions de refroidissement.**

Une fois les températures de refroidissement cibles atteintes, le petit astérisque situé à côté de chaque emplacement apparaîtra en vert.
- 12. Regrouper tous les tubes de HBV RG/TM Master d'un kit unique dans un seul tube avant utilisation.**

Remarque : Les réactifs visqueux peuvent être difficiles à manipuler avec des pipettes manuelles. S'assurer de transférer l'intégralité du volume du Master dans le tube.
- 13. Remplir chaque tube de réactif avec le volume requis de réactif approprié selon les informations de chargement fournies par le logiciel de l'appareil.**

Remarque : Avant chaque utilisation, décongeler impérativement tous les réactifs complètement, les mélanger (par pipetage répété de haut en bas ou par vortexage rapide) et les centrifuger pendant au moins 3 secondes à 6.800 x g. Éviter la formation de bulles ou de mousse, susceptible d'engendrer des erreurs de détection. Travailler rapidement et laisser les composants pour PCR dans de la glace ou dans un bloc réfrigérant avant le chargement.
- 14. Charger le portoir des réactifs et placer les tubes de réactif, sans les couvercles, dans les positions adéquates des adaptateurs préalablement refroidis prévus pour les réactifs, selon la fiche d'application appropriée.**
- 15. Charger les cônes jetables munis de filtres dans les tiroirs « Eluate and Reagents » et « Assays » en fonction du nombre requis de chaque type de cône mentionné dans la fiche d'application appropriée.**
- 16. Fermer les tiroirs « Eluate and Reagents » (Éluat et réactifs) et « Assays ».**
- 17. Après avoir fermé chaque tiroir, appuyer sur « Scan » (Inventaire) pour démarrer l'inventaire de chacun d'eux.**

L'inventaire vérifie les emplacements, les adaptateurs, les cônes munis de filtres et la goulotte d'évacuation des cônes, ainsi que le chargement adéquat des volumes de réactif spécifiques. Si nécessaire, corriger toute erreur survenue.

La configuration de test démarrera automatiquement une fois l'étape de purification sur le QIASymphony SP terminée et les portoirs à éluats transférés vers le QIASymphony AS.

18. Une fois le cycle achevé, appuyer sur « Remove » (Décharger) sur l'écran de configuration de test « Overview » (Aperçu). Ouvrir le tiroir « Assays » et décharger le ou les portoirs à essais.

19. Télécharger les fichiers de résultats et du cycleur.

20. Si plusieurs lots ont été configurés sur le QIASymphony AS dans un cycle intégré, recharger les tiroirs du QIASymphony AS à partir de l'étape 8.

21. Aller à « Protocole : PCR sur le Rotor-Gene Q », page 17.

22. Procéder à la maintenance habituelle du QIASymphony AS pendant le cycle de PCR sur le Rotor-Gene Q ou ultérieurement.

Comme le flux de travail s'inscrit dans un fonctionnement intégré, nettoyer tous les appareils à la fin du flux de travail.

Respecter les consignes de maintenance indiquées dans le Manuel d'utilisation du QIASymphony SP/AS — Description générale. Veiller à effectuer la maintenance régulièrement pour minimiser le risque de contamination croisée.

Protocole : PCR sur le Rotor-Gene Q

Remarques importantes avant de commencer

- Prendre le temps de se familiariser avec le Rotor-Gene Q avant d'exécuter le protocole. Consulter le manuel d'utilisation de l'appareil.
- Pour une interprétation automatique des résultats de PCR, il est possible d'utiliser le logiciel Rotor-Gene AssayManager* à la place du logiciel du Rotor-Gene Q.
- S'assurer que chaque cycle de PCR intègre les 5 étalons de quantification, ainsi qu'au moins un contrôle négatif (eau de qualité PCR). Pour générer une courbe étalon, utiliser l'ensemble des 5 étalons de quantification fournies (HBV RG/TM QS 1–5) pour chaque cycle de PCR.

Procédure

1. **Fermer les tubes de PCR et les placer dans le rotor de 72 puits du Rotor-Gene Q. Veiller à orienter correctement les tubes en rangées de 4 du Rotor-Gene Q, de manière que les index de position de l'adaptateur de refroidissement coïncident avec ceux du rotor. S'assurer que l'anneau de blocage (accessoire de Rotor-Gene) soit placé en haut du rotor pour éviter que les tubes ne s'ouvrent accidentellement au cours du cycle.**
2. **Transférer le fichier du cycleur du QIA Symphony AS vers l'ordinateur du Rotor-Gene Q.**
3. **Pour la détection de l'ADN du VHB, créer un profil de température et démarrer le cycle selon la fiche d'application appropriée disponible à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx. Pour des informations spécifiques au logiciel permettant la programmation du Rotor-Gene Q, consulter la fiche de protocole appropriée « Settings to run *artus* QS-RGQ Kits » (Configuration pour l'utilisation des kits *artus* QS-RGQ) à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.**

* Il est prévu que le logiciel Rotor-Gene AssayManager soit disponible avant la fin de l'année 2012.

Interprétation des résultats

Consulter la fiche d'application appropriée disponible à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx pour obtenir des informations détaillées sur l'interprétation des résultats.

Résolution des principaux problèmes rencontrés

Ce guide de résolution des principaux problèmes rencontrés peut aider à répondre à certaines questions qui peuvent se poser. Pour plus d'informations, voir aussi la page Foire aux Questions de notre Centre de support technique : www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Les scientifiques des Services techniques de QIAGEN seront ravis de répondre à toutes les questions sur les informations et protocoles figurant dans ce manuel ou sur les technologies d'échantillons et d'analyses (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, se reporter aux manuels d'utilisation fournis avec les appareils.

Précipité dans un compartiment de réactif de la cartouche entamée du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen

a) Évaporation des tampons

Une évaporation excessive des tampons peut augmenter la concentration en sel ou diminuer la concentration en alcool. Jeter la cartouche de réactifs (RC). Lorsqu'une cartouche de réactifs (RC) entamée n'est pas utilisée, veiller à ce que les compartiments contenant les tampons soient scellés avec des bandelettes d'étanchéité.

Commentaires et suggestions

- b) Stockage de la cartouche de réactifs (RC)
- Le stockage de la cartouche de réactifs (RC) en dessous de 15 °C peut provoquer la formation de précipités. Si nécessaire, retirer les compartiments contenant les tampons QSL2 et QSB1 de la cartouche de réactifs (RC) et les incuber au bain-marie* à 37 °C pendant 30 minutes en remuant de temps en temps pour dissoudre le précipité. Veiller à remettre les compartiments à la bonne position. Si la cartouche de réactifs (RC) est déjà entamée, vérifier que les compartiments sont scellés à l'aide de bandelettes d'étanchéité et incuber l'ensemble de la cartouche au bain-marie * à 37 °C pendant 30 minutes en agitant de temps en temps.

Faible rendement en acides nucléiques

- a) Remise en suspension incomplète des particules magnétiques
- Avant de commencer la procédure, s'assurer de la remise en suspension complète des particules magnétiques. Mélanger au vortex pendant au moins 3 min avant utilisation.
- b) Échantillons congelés mal mélangés après décongélation
- Décongeler les échantillons sous agitation douce pour garantir un mélange homogène.
- c) Absence d'ARN entraîneur (CARRIER)
- Reconstituer et mélanger l'ARN entraîneur (CARRIER) dans un volume adapté de tampon AVE (AVE) comme décrit dans la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpckitce.aspx. Répéter la purification avec de nouveaux échantillons.
- d) Acides nucléiques dégradés
- Les échantillons n'ont pas été correctement stockés ou ont subi trop de cycles de congélation-décongélation. Répéter la purification avec de nouveaux échantillons.

* S'assurer que tous les appareils sont vérifiés et calibrés régulièrement selon les instructions du fabricant.

Commentaires et suggestions

- e) Lyse de l'échantillon incomplète
- Vérifier l'absence de précipité dans les tampons QSL2 et QSB1 avant utilisation. Si nécessaire, retirer les compartiments contenant les tampons QSL1 et QSB1 de la cartouche de réactifs (RC) et les incuber pendant 30 min à 37 °C en agitant de temps en temps pour dissoudre le précipité. Si la cartouche de réactifs (RC) est déjà entamée, vérifier que les compartiments sont scellés à l'aide de bandelettes d'étanchéité et incuber l'ensemble de la cartouche de réactifs (RC) pendant 30 minutes dans un bain-marie à 37 °C en agitant de temps en temps.*
- f) Obstruction du cône de pipette par une substance insoluble
- La substance insoluble n'a pas été éliminée de l'échantillon avant la purification sur le 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.

* S'assurer que tous les appareils sont vérifiés et calibrés régulièrement selon les instructions du fabricant.

Commentaires et suggestions

Le QIASymphony AS ne détecte pas assez de Master

Tout le Master n'a pas été transféré vers le tube

Regrouper tous les tubes de HBV RG/TM Master d'un kit unique dans un seul tube avant utilisation. Les réactifs visqueux peuvent être difficiles à manipuler avec des pipettes manuelles. S'assurer de transférer l'intégralité du volume du Master dans le tube.

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

En variante, après avoir lentement distribué le liquide jusqu'à l'expulsion d'air sur la paroi du tube cible, sortir le cône du liquide, relâcher le piston de la pipette et attendre encore 10 secondes. Le liquide résiduel s'écoulera le long du cône et pourra être expulsé en appuyant une seconde fois sur le piston de la pipette. L'utilisation de cônes munis de filtres de qualité PCR et portant la mention « low retention » (faible rétention) peut améliorer la récupération du liquide.

Pas de signal des contrôles positifs (HBV RG/TM QS 1–5) dans 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, sélectionner le canal de fluorescence Cycling Green pour la PCR analytique du VHB 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

Comparer le profil de température au protocole. Consulter les fiches d'application et de protocole appropriées à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx..

Commentaires et suggestions

- c) Mauvaise configuration de la PCR S'assurer que la configuration de test a été réalisée correctement et que le bon jeu de paramètres d'analyse a été utilisé. Répéter la PCR si nécessaire. Consulter la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.
- d) Les conditions de stockage d'un ou plusieurs composants du kit n'étaient pas conformes aux instructions fournies dans la section « Conservation et manipulation des réactifs » (page 9) Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (voir l'étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit s'il y a lieu.
- e) Le kit *artus* HBV QS-RGQ est périmé Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (voir l'étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit s'il y a lieu.

Signal faible ou inexistant du contrôle interne d'un échantillon de plasma négatif soumis à purification au moyen du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen dans le canal de fluorescence Cycling Yellow et absence simultanée de signal dans le canal Cycling Green

- a) Les conditions de PCR ne sont pas conformes au protocole Vérifier les conditions de PCR (voir ci-dessus) et, si nécessaire, répéter la PCR avec les réglages corrigés.
- b) La PCR a été inhibée Veiller à utiliser la méthode d'isolement validée (voir la section « Protocole : Isolement de l'ADN et configuration de test sur le QIASymphony SP/AS », page 12) et respecter les instructions à la lettre.

Commentaires et suggestions

- c) Perte d'ADN lors de l'extraction
- L'absence de signal du contrôle interne peut indiquer la perte d'ADN au cours de l'extraction. Veiller à utiliser la méthode d'isolement validée (voir la section « Protocole : Isolement de l'ADN et configuration de test sur le QIA Symphony SP/AS », page 12) et respecter les instructions à la lettre.
- Consulter également la section « 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 fournies dans la section « Conservation et manipulation des réactifs » (page 9)
- Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (voir l'étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit s'il y a lieu.
- e) Le kit *artus* HBV QS-RGQ est périmé
- Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (voir l'étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit s'il y a lieu.

Signaux provenant des contrôles négatifs dans le canal de fluorescence Cycling Green de la PCR analytique

- a) Contamination lors de la préparation de la PCR
- Répéter la PCR avec de nouveaux réactifs dans des répliquats.
- Si possible, fermer les tubes de PCR juste après avoir ajouté l'échantillon à tester.
- Veiller à ce que le plan de travail et les appareils soient régulièrement décontaminés.
- b) Contamination lors de l'extraction
- Répéter l'extraction et la PCR de l'échantillon à tester au moyen de nouveaux réactifs.
- Veiller à ce que le plan de travail et les appareils soient régulièrement décontaminés.

Contrôle qualité

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

Limitations

Tous les réactifs doivent être exclusivement utilisés dans le cadre de diagnostics *in vitro*.

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

Pour des résultats de PCR optimaux, il est impératif de respecter scrupuleusement les indications du manuel d'utilisation.

Il convient de porter une attention particulière aux dates limite d'utilisation imprimées sur la boîte et les étiquettes de tous les composants. Ne pas utiliser de composants ayant expiré.

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

Caractéristiques de performance

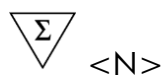




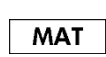






Consulter le site www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx pour obtenir les caractéristiques de performance du kit *artus* HBV QS-RGQ.

Références

QIAGEN tient à jour une grande banque de données en ligne de publications scientifiques utilisant les produits QIAGEN. Des critères de sélection de recherche aident à trouver les articles à l'aide d'un mot-clé ou en spécifiant l'application, le domaine de recherche, le titre, etc.

Pour une liste complète des références, visiter notre banque de données en ligne « QIAGEN Reference Database » à l'adresse www.qiagen.com/RefDB/search.asp ou contacter les Services techniques de QIAGEN ou le distributeur local.

Symboles

	Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions
	À utiliser avant
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Référence
	Numéro de lot
	Référence du matériel
	Composants
	Contient
	Nombre
	Code article international (GTIN)
	Limitations de température
	Fabricant



Lire les informations dans le manuel



Attention

Coordonnées

Pour une assistance technique et plus d'informations, consulter notre Centre de support technique à l'adresse www.qiagen.com/Support, composer le 00800-22-44-6000 ou appeler l'un des Départements du service technique de QIAGEN ou des distributeurs locaux (voir la quatrième de couverture ou le site www.qiagen.com).

Pour commander

Produit	Contenu	Référence
<i>artus</i> HBV QS-RGQ Kit (24)	Pour 24 réactions : Master, 5 étalons de quantification, contrôle interne, eau (pour PCR)	4506363
<i>artus</i> HBV QS-RGQ Kit (72)	Pour 72 réactions : Master, 5 étalons de quantification, contrôle interne, eau (pour PCR)	4506366
Système QIASymphony RGQ		
QIASymphony RGQ, System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, accessoires et consommables nécessaires, installation et formation	9001850

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

Page laissée volontairement vierge

Page laissée volontairement vierge

L'achat de ce produit permet à l'acheteur de l'utiliser pour poser des diagnostics in vitro chez l'être humain. Aucun brevet général ni licence d'aucune sorte autre que ce droit spécifique d'utilisation à l'achat n'est accordé par la présente.

Marques de commerce : QIAGEN®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (Groupe QIAGEN).

Le kit artus HBV QS-RGQ est un kit de diagnostic certifié CE conforme à la directive européenne 98/79/CE relative au diagnostic in vitro. Produit distribué dans certains pays uniquement.

Accord de licence limitée

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur du kit artus HBV QS-RGQ consent aux termes suivants :

1. Le kit artus HBV QS-RGQ ne doit être utilisé que conformément au *Manuel du kit artus HBV QS-RGQ* et avec les composants fournis à l'intérieur du kit. 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 le *Manuel du kit artus HBV QS-RGQ* et autres protocoles disponibles sur le site www.qiagen.com.
2. Hormis les licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce kit et/ou son(s) utilisation(s) ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce kit et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes autres licences, expresse ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du kit consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les termes précédents. QIAGEN peut faire appliquer des interdictions de cet Accord 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 d'action en application de cet Accord de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au kit et/ou à ses composants.

Pour les termes de licence mis à jour, voir www.qiagen.com.

© 2010-14 QIAGEN, tous droits réservés.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ■ techservice-ca@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

USA ■ techservice-us@qiagen.com

