

janvier 2016

Manuel du kit *artus*[®] HCV QS-RGQ



24 (référence 4518363)



72 (référence 4518366)

Version 1

IVD

Diagnostics in vitro quantitatifs

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

CE
0197

REF 4518363, 4518366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

R6 **MAT** 1060924FR



Sample & Assay Technologies

QIAGEN Sample and Assay Technologies

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

Utilisation prévue

Le kit *artus* HCV QS-RGQ est un test d'amplification d'acide nucléique in vitro visant à quantifier l'ARN du virus de l'hépatite C (VHC) dans du plasma-EDTA humain. Ce kit de test de diagnostic exploite le principe de la transcription inverse et l'amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR). Il est configuré pour une utilisation avec les appareils QIAasymphony SP/AS et Rotor-Gene Q.

Le kit *artus* HCV 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 antiviral, mesurée par les variations des taux d'ARN du VHC dans le plasma-EDTA humain. Le kit *artus* HCV QS-RGQ n'est pas conçu pour être utilisé comme test de dépistage du VHC ou comme test de diagnostic visant à confirmer la présence d'une infection par le VHC.



Pour plus d'informations sur les échantillons biologiques spécifiques à l'homme avec lesquels le kit a été validé, voir les fiches d'application disponibles en ligne à l'adresse

www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx.

Dans la mesure où QIAGEN surveille en permanence les performances du test et valide de nouvelles revendications, les utilisateurs doivent s'assurer de travailler avec la dernière révision de la notice d'instructions.



Vérifier la disponibilité de nouvelles révisions des notices électroniques à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx avant de procéder à la réalisation des tests.

Tous les kits peuvent être utilisés avec les éléments d'instructions respectifs pour autant que le numéro de version du manuel et les autres informations sur l'étiquette 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 description

Le kit *artus* HCV QS-RGQ constitue un système prêt à l'emploi pour la détection de l'ARN du virus VHC 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 QIAasymphony SP/AS. Les Hep. C Virus RG Master A et B contiennent des réactifs et des enzymes pour l'amplification spécifique d'un fragment du génome du VHC de

240 bp et pour la détection directe de l'amplicon spécifique du canal de fluorescence Cycling Green du Rotor-Gene Q.

En outre, le kit *artus* HCV QS-RGQ contient un deuxième système d'amplification hétérologue permettant d'identifier une éventuelle inhibition de la PCR. Elle est détectée en tant que contrôle interne (IC) du canal de fluorescence Cycling Orange du Rotor-Gene Q. Ceci ne diminue pas la limite de détection de la PCR analytique du VHC. Les contrôles positifs externes (Hep. C Virus RG QS 1–4) fournis permettent de déterminer la quantité d'ARN viral. Pour plus d'informations, voir la fiche d'application à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Informations sur l'agent pathogène

L'hépatite C est une inflammation du foie provoquée par le virus du même nom. Contrairement aux autres virus de l'hépatite (A, B, D ou E), l'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) entraîne, dans un grand nombre de cas, une maladie hépatique chronique. L'infection par le VHC est souvent asymptomatique sur une longue période. C'est la raison pour laquelle la plupart des patients n'ont pas conscience de leur infection par le VHC. Toutefois, le traitement est plus efficace dans les premiers stades de la maladie. Le seul traitement efficace reconnu à ce jour est l'interféron α (en association avec la ribavirine). Il est néanmoins reconnu que seuls certains patients souffrant d'hépatite C chronique répondent favorablement au traitement à l'interféron. Ainsi, dans certaines circonstances, ce traitement onéreux pour le patient peut s'avérer défavorable et impliquer des effets secondaires graves tels que l'affaiblissement du système immunitaire, ayant pour conséquence des exacerbations (ex : herpès labial, zona). (1–4)

Matériel fourni

Contenu du kit

artus HCV QS-RGQ Kit		(24)	(72)
Référence		4518363	4518366
Nombre de réactions		24	72
Bleu	Hep. C Virus RG Master A	4 x 144 µl	8 x 144 µl
Violet	Hep. C Virus RG Master B	4 x 216 µl	8 x 216 µl
Rouge	Hep. C Virus RG QS 1* (10 ⁴ UI/µl)	QS 200 µl	200 µl
Rouge	Hep. C Virus RG QS 2* (10 ³ UI/µl)	QS 200 µl	200 µl
Rouge	Hep. C Virus RG QS 3* (10 ² UI/µl)	QS 200 µl	200 µl
Rouge	Hep. C Virus RG QS 4* (10 ¹ U/µl)	QS 200 µl	200 µl
Vert	Hep. C Virus RG IC†	IC 1 000 µl	2 x 1 000 µl
Blanc	Eau (grade PCR)	1 000 µl	1 000 µl
	artus HCV QS-RGQ Kit Handbook (Manuel du kit artus HCV QS-RGQ) (français)	1	1

* Norme 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 pipettes stériles munis de filtres
- Mixeur Vortex*
- Micro-centrifugeuse* avec rotor pour tubes de réaction de 2 ml, capable de centrifugation à 6 800 x g

Pour la préparation d'échantillon

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

Pour la PCR

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

Remarque : D'autres informations sur les matériels requis pour des applications spécifiques sont fournies dans la fiche d'application appropriée disponible à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

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 à l'adresse www.qiagen.com/safety où vous pouvez trouver, consulter et imprimer les FDS de chaque kit et composant de kit QIAGEN®.

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

†Si possible, utiliser un appareil Rotor-Gene Q 5plex HRM avec une date de production de janvier 2010 ou ultérieure. La date de production peut être tirée du numéro de série situé à l'arrière de l'appareil. Le numéro de série est affiché au format « mmyyynn » (mmaannn) où le terme « mm » (mm) indique le mois de production en chiffres, le terme « yy » (aa) représente les deux derniers chiffres de l'année de production et le terme « nnn » (nnn) représente l'identifiant unique de l'appareil.

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 la 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 ou en mélangeant par vortexages brefs et répétés) 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 réfrigérés 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 suivre le flux de travail dans l'ordre. Ne pas dépasser 30 minutes de temps de transfert entre chaque module (de QIASymphony SP à QIASymphony AS à Rotor-Gene Q).

Stockage et manipulation des réactifs

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

Manipulation et conservation des échantillons

D'autres informations sur la manipulation et le stockage des échantillons pour des applications spécifiques sont fournies dans la fiche d'application appropriée disponible à l'adresse

www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Procédure

Prise en main du QIA Symphony SP/AS

Fermer tous les tiroirs et les capots.

Mettre le QIA Symphony SP/AS en marche et attendre l'affichage de l'écran « Sample Preparation » (Préparation des échantillons) et la fin de l'initialisation.

Allumer l'appareil (les tiroirs se déverrouillent).

Purification de l'ARN viral

Le kit *artus* HCV QS-RGQ a été validé associé à une étape de purification d'ARN viral réalisée sur le QIA Symphony SP en utilisant le kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen. Voir le manuel QIA Symphony DSP Virus/Pathogen (*QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Handbook*) pour toutes les informations sur la manière de préparer la cartouche de réactifs pour l'étape de purification de l'échantillon sur le QIA Symphony SP.

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

L'emploi des kits QIA Symphony DSP Virus/Pathogen associés au kit *artus* HCV QS-RGQ nécessite l'introduction du contrôle interne (Hep. C Virus RG 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 QIA Symphony 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), voir la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Jeux de contrôles 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 au moyen de QIA Symphony 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 QIA Symphony AS.

Pour des cycles intégrés sur le QIA Symphony SP/AS, le jeu de paramètres d'analyse est directement associé à un jeu de contrôles d'analyse en amont spécifiant le procédé 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'ARN et configuration de test sur le QIA Symphony SP/AS

La description suivante est un protocole général adapté aux kits QIA Symphony DSP Virus/Pathogen. Des informations détaillées pour une application spécifique, notamment les volumes et les tubes, sont fournies dans la fiche d'application à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcivrgrpckitce.aspx.

Remarques importantes avant de commencer

- S'assurer de bien connaître le fonctionnement des appareils QIA Symphony SP/AS. Se référer aux manuels d'utilisation fournis avec les appareils et aux versions les plus récentes disponibles en ligne sur le site www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx pour le mode d'emploi.
- Avant la première utilisation d'une cartouche de réactif (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 et les incuber 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 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 min en agitant de temps en temps*.
- Éviter d'agiter vigoureusement la cartouche de réactifs (RC) afin de ne pas former 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 4518363 et 4518366, respectivement).
- Avant chaque utilisation, il faut complètement décongeler tous les réactifs, les mélanger (en pipétant plusieurs fois de haut en bas ou par un bref vortexage), puis les centrifuger pendant au moins 3 secondes à 6 800 x g. Éviter de faire mousser les réactifs.

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

- Il a été démontré que les éluats de la préparation d'échantillon et tous les composants du kit *artus* HCV QS-RGQ sont stables dans l'appareil pendant au moins le temps de base 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 vers le QIASymphony AS et jusqu'à 30 minutes du QIASymphony AS vers le Rotor-Gene Q.

Étapes préliminaires

- 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 à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.
- Avant de commencer la procédure, s'assurer de la remise en suspension complète des particules magnétiques. Avant la première utilisation, mélanger énergiquement le compartiment des particules magnétiques au vortex 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 des 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 à ce que les codes-barres se trouvent face au lecteur situé dans le tiroir « Sample » (Échantillon), à gauche du QIASymphony SP.

Procédure

Purification d'ARN viral sur le QIASymphony SP

- 1. Fermer tous les tiroirs et les capots des appareils QIASymphony SP/AS.**
- 2. Mettre en marche les appareils 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/artushcvrgpckitce.aspx.**
 - Une fois préparé, le tiroir « Waste » (Déchets) effectue un inventaire.
 - Une fois préparé, le tiroir « Eluate » (Éluats) effectue un inventaire.
 - Une fois préparé, le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables) effectue un inventaire.
 - Tiroir « Sample »
5. **À l'aide de la fonction « 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.**

Des informations sur le jeu de paramètres d'analyse et sur le volume d'élution pré-sélectionné sont proposées dans la fiche d'application appropriée.

Pour plus d'informations sur les cycles intégrés sur le QIASymphony SP/AS, voir les manuels d'utilisation des appareils.
6. **Lors de la configuration d'un cycle intégré, vérifier que le bon matériel de laboratoire pour échantillons a été assigné au bon type d'échantillon (échantillon EC+ et EC-) et aux bons volumes.**

Des informations sur les consommables et les composants à charger dans chaque tiroir sont fournies dans la fiche d'application appropriée.
7. **Une fois que les informations sur tous les lots du cycle intégré ont été saisies, cliquer sur le bouton « Ok » pour quitter la configuration « Integrated run ». L'état de tous les lots présentés dans l'aperçu du cycle intégré passe de « LOADED » (CHARGÉ) à « QUEUED » (EN FILE D'ATTENTE). Dès qu'un lot est placé dans la file d'attente, le bouton « Run » (Exécuter un cycle) s'affiche. Appuyer sur le bouton « Run » pour lancer la procédure.**

Toutes les étapes de traitement sont entièrement automatisées.

Chargement des tiroirs du QIASymphony AS pour la configuration d'analyse

8. **Après avoir mis un cycle intégré en file d'attente, ouvrir les tiroirs du QIASymphony AS. Les composants qui doivent être chargés sont présentés sur l'écran tactile.**
9. **Toujours s'assurer de respecter les étapes suivantes avant de réaliser 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(s) portoirs à essai. Le(s) portoir(s) à essai, logés dans des adaptateurs préalablement refroidis, sont chargés dans le(s) emplacement(s) « Assay » (Essai). Des informations sur les portoirs à essai sont fournies dans la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvmrgpckitce.aspx.

11. Vérifier la température des positions de refroidissement.

Une fois les températures de refroidissement visées atteintes, les petits astérisques situés à côté de chaque emplacement s'affichent en vert.

12. Regrouper tous les tubes de HCV RG Master A d'un seul kit dans un tube avant utilisation. Regrouper tous les tubes de HCV RG Master B d'un seul kit dans un tube avant utilisation.

Remarque : Les réactifs visqueux peuvent être difficiles à manipuler avec des pipettes manuelles. Veiller à transférer tout le volume de Master dans le tube.

13. Remplir chaque tube de réactif avec le volume requis du réactif approprié selon les informations de chargement fournies par le logiciel de l'appareil.

Remarque : Avant chaque utilisation, il faut complètement décongeler tous les réactifs, les mélanger (en pipetant plusieurs fois de haut en bas ou par un bref vortexage) et les centrifuger pendant au moins 3 secondes à 6 800 x g. Éviter la formation de bulles ou de mousse car cela peut provoquer 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 à réactifs et placer les tubes de réactifs, sans les capuchons, dans les positions correspondantes des adaptateurs pour réactifs préalablement refroidis, selon la fiche d'application appropriée.

15. Charger les cônes jetables munis de filtres dans les tiroirs « Eluate and Reagents » (Éluats et réactifs) et « Assays » (Essais) en fonction du nombre nécessaire pour chaque type de cône indiqué sur la fiche d'application appropriée.

16. Fermer les tiroirs « Eluate and Reagents » et « Assays ».

17. 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 cônes à filtre et la goulotte d'évacuation des cônes, ainsi que le chargement correct des volumes de réactifs spécifiques. Si nécessaire, corriger toute erreur survenue.

La configuration de l'analyse démarrera automatiquement une fois l'étape de purification sur le QIASymphony SP achevée et les portoirs à éluats transférés au QIASymphony AS.

- 18. Une fois le cycle achevé, appuyer sur « Remove » (Retirer) sur l'écran de configuration de test « Overview » (Aperçu). Ouvrir le tiroir « Assays » et décharger le(s) portoir(s) à essais.**
- 19. Télécharger les fichiers de résultats et du cycleur.**
- 20. Si plusieurs lots du QIASymphony AS sont configurés dans un cycle intégré, recharger les tiroirs du QIASymphony AS en reprenant à l'étape 8.**
- 21. Aller à la section « Protocole : RT-PCR sur le Rotor-Gene Q », page 17.**
- 22. Procéder à la maintenance courante de QIASymphony AS pendant le cycle de PCR sur le Rotor-Gene Q ou ultérieurement.**

Le flux de travail étant un fonctionnement intégré, nettoyer tous les appareils à la fin du flux de travail.

Suivre les consignes de maintenance du Manuel d'utilisation QIASymphony SP/AS — Description générale (*QIASymphony SP/AS User Manual — General Description*). Veiller à effectuer la maintenance régulièrement pour minimiser le risque de contamination croisée.

Protocole : RT-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 l'application Rotor-Gene AssayManager au lieu du logiciel Rotor-Gene Q.
- S'assurer que chaque cycle de PCR intègre les 4 normes de quantification et au moins un contrôle négatif (eau, grade PCR). Pour créer une courbe standard, utiliser les 4 normes de quantification fournies (Hep. C Virus RG QS 1–4) pour chaque cycle de PCR.

Procédure

1. Fermer les tubes de PCR et les placer dans le rotor à 72 puits du RotorGene Q. S'assurer de transférer les tubes Rotor-Gene Q en rangées de 4 dans la bonne orientation, de sorte que les index de position de l'adaptateur de refroidissement coïncident avec le 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'ARN du VHC, créer un profil de température et démarrer le cycle selon la fiche d'application appropriée disponible à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx. Des informations spécifiques au logiciel sur la programmation du Rotor-Gene Q sont fournies dans la fiche de protocole appropriée « Settings to run *artus* QS-RGQ Kits » (paramètres pour l'exécution des kits *artus* QS-RGQ) à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx.

Interprétation des résultats

Voir la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx pour plus d'informations 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. 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 au manuel d'utilisation fourni 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 baisser 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 réactif (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 dans un bain-marie* à 37 °C pendant 30 min 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 entamée, vérifier que les compartiments sont scellés à l'aide de bandelettes d'étanchéité et incuber l'ensemble de la cartouche de réactifs (RC) au bain-marie* à 37 °C pendant 30 min 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. Avant emploi, mélanger au Vortex pendant au moins 3 minutes.
- 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 l'ARN entraîneur (CARRIER) dans du tampon AVE (AVE) et mélanger le tout à un volume approprié de tampon AVE (AVE) comme décrit dans la fiche d'application appropriée disponible à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx. Répéter la purification avec de nouveaux échantillons.

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

Commentaires et suggestions

- | | |
|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 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. |
| e) Lyse incomplète des échantillons | Avant emploi, vérifier l'absence de précipité dans les tampons QSL2 et QSB1. Si nécessaire, retirer les compartiments contenant les tampons QSL1 et QSB1 de la cartouche de réactifs (RC) et les incuber 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 refermés 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.* |
| 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 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 instruments sont vérifiés et calibrés régulièrement selon les instructions du fabricant.

Commentaires et suggestions

QIA Symphony AS ne détecte pas assez de Master

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

Regrouper tous les tubes de HCV RG Master A d'un seul kit dans un tube avant utilisation.
Regrouper tous les tubes de HCV RG Master B d'un seul kit dans un tube avant utilisation. Les réactifs visqueux peuvent être difficiles à manipuler avec des pipettes manuelles. Veiller à transférer tout le volume de 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 µl pour un volume de 800 µl).

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

Pas de signal avec les contrôles positifs (Hep. C Virus RG QS 1-4) 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 virus VHC et le canal de fluorescence Cycling Orange 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. Voir la fiche d'application et la fiche de protocole appropriées à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvtgpcrkitce.aspx.

Commentaires et suggestions

- c) Mauvaise configuration de la PCR S'assurer que la configuration d'analyse a été exécutée correctement et que le bon jeu de paramètres d'analyse a été utilisé. Répéter la PCR si nécessaire. Voir la fiche d'application appropriée à l'adresse www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.
- d) Les conditions de stockage d'un ou plusieurs composants du kit ne respectaient pas les instructions fournies dans la section « Stockage et manipulation des réactifs » (page 8) Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (cf. étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit s'il y a lieu.
- e) Le kit *artus* HCV QS-RGQ a expiré Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (cf. 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 Orange et absence simultanée de signal dans le canal Cycling Green

- a) Les conditions de PCR ne respectent pas le protocole Vérifier les conditions de PCR (cf. ci-dessus) et si besoin, répéter la PCR avec les réglages corrigés.
- b) La PCR a été inhibée Veiller à ce que la méthode d'isolement validée soit utilisée (voir « Protocole : Isolement de l'ARN et configuration de test sur le QIASymphony SP/AS », page 12) et suivre les instructions à la lettre.

Commentaires et suggestions

- c) De l'ARN a été perdu lors de l'extraction
- L'absence de signal du contrôle interne peut indiquer la perte d'ARN au cours de l'extraction. Veiller à ce que la méthode d'isolement validée soit utilisée (voir « Protocole : Isolement de l'ARN et configuration de test sur le QIA Symphony SP/AS », page 12) et suivre 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 ne respectaient pas les instructions fournies dans la section « Stockage et manipulation des réactifs » (page 8)
- Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (cf. étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit s'il y a lieu.
- e) Le kit *artus* HCV QS-RGQ a expiré
- Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (cf. étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit s'il y a lieu.

Signaux avec contrôles négatifs du 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 et en répliqués.
- 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) 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 décontaminés à intervalles réguliers.

Contrôle qualité

En accord avec le Quality Management System QIAGEN certifié ISO, chaque lot du kit *artus* HCV QS-RGQ a été testé conformément aux spécifications prédéterminées afin d'assurer une qualité constante du produit.

Limites

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.

Il faut se conformer strictement au manuel d'utilisation pour obtenir des résultats de PCR optimaux.

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, les mutations au sein des zones hautement conservées du génome viral traitées par les amorces et/ou la sonde du kit peuvent entraîner une sous-quantification ou un échec de la détection du virus dans ces cas-là. La validité et la performance du format d'analyse sont contrôlées à intervalles réguliers.

Caractéristiques de performance

Consulter www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx pour obtenir les caractéristiques de performance du kit *artus* HCV QS-RGQ.

Références

1. Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C., and Wedemeyer, H., eds. (2012) *The Flying Publisher Short Guide to Hepatitis C*. 2012 ed. No location: Flying Publisher.
2. Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C., and Wedemeyer, H., eds. (2012) *Hepatitis: A Clinical Textbook*. 2012 ed. No location: Flying Publisher.
3. Munir, S. et al. (2010) Hepatitis C treatment: current and future perspectives. *Virology* **7**, 296.
4. Harrington, P.R., Zeng, W., and Naeger, L.K. (2012) Clinical relevance of detectable but not quantifiable hepatitis C virus RNA during boceprevir or telaprevir treatment. *Hepatology* **55**, 1048.

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 d'article international



Limite de température



Fabricant



Lire les informations dans le manuel



Attention

Coordonnées

Pour une assistance technique et plus d'informations, consulter notre Centre d'assistance technique sur le site www.qiagen.com/Support, composer le 00800-22-44-6000 ou contacter 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> HCV QS-RGQ Kit (24)	Pour 24 réactions : 2 masters, 4 normes de quantification, contrôle interne, eau (grade PCR)	4518363
<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit (72)	Pour 72 réactions : 2 masters, 4 normes de quantification, contrôle interne, eau (grade PCR)	4518366
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.

L'achat de ce produit permet à l'acheteur de l'utiliser pour poser des diagnostics humains in vitro. 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® (QIAGEN Group).

Le kit *artus* HCV QSRGQ est un kit de diagnostic homologué CE conforme à la directive européenne 98/79/EC sur les diagnostics in vitro. Produit distribué dans certains pays uniquement.

Accord de licence limitée pour le kit *artus* HCV QS-RGQ

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur du produit consent aux termes suivants :

1. Le produit ne doit être utilisé que conformément aux protocoles fournis et à ce manuel, 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 les protocoles fournis avec le produit, ce manuel et d'autres protocoles disponibles à l'adresse www.qiagen.com. Certains de ces protocoles supplémentaires ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour les utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été testés de manière approfondie ni optimisés par QIAGEN. QIAGEN n'offre aucune garantie sur eux ni aucune garantie qu'ils n'enfreignent pas les droits de tiers.
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, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur des kits 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.

© 2010-2014 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

