

Fiche d'application QIASymphony® RGQ

Application QIASymphony RGQ kit *artus*® HI Virus-1 QS-RGQ (type d'échantillon : plasma)

IVD

CE
0197



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

Informations générales

Kit	<i>artus</i> HI Virus-1 QS-RGQ Kit, version 1, REF 4513363, 4513366
Matériel d'échantillon validé	Plasma EDTA humain
Purification initiale	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (référence 937055)
Volume d'échantillon (dont volume excédentaire)	1.200 µl
Jeu de paramètres d'analyse	<i>artus</i> _HIV plasma1000_V4
Jeu de témoins d'analyse par défaut	Cellfree1000_V6 _DSP <i>artus</i> HIV
Volume d'éluion	60 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou supérieure
Volume du mélange principal	30 µl
Volume de matrice	20 µl
Nombre de réactions	6 à 24 ou 6 à 72*
Durée d'exécution sur le module AS	Pour 6 réactions : environ 9 minutes Pour 72 réactions : environ 35 minutes

* Lors de l'exécution de plusieurs cycles d'analyses, veiller à ce que la limite de 72 réactions et 1 adaptateur de portoir à essais ne soit pas dépassée. Éviter de trop longues périodes d'incubation (> 30 minutes) entre la fin de l'exécution du cycle d'analyse et le transfert au Rotor-Gene® Q.

Mai 2012



Sample & Assay Technologies

Matériel nécessaire, mais non fourni

Kit de purification	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (référence 937055)
Adaptateurs pour le QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (portoir pour microtubes d'élu­tion QS) (adaptateur réfrigérant, EMT, v2, Qsym, référence 9020730)
	■	Tube Insert 3B (élément d'insertion pour tube 3B, 2.0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, référence 9242083)
Consommables pour le QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (cartouches de préparation d'échantillons à 8 puits) (référence 997002)
	■	8-Rod Covers (manchons pour 8 barreaux) (référence 997004)
	■	Filter-Tips, 1.500 µl (cônes munis de filtres, 1.500 µl) (référence 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (cônes munis de filtres, 200 µl) (référence 990332)
	■	Elution Microtubes CL (microtubes d'élu­tion CL) (référence 19588)
	■	Tip disposal bags (sachets de récupération des cônes usagés) (référence 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H ou Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubes de 2,0 ml, Type H ou microtubes de 2,0 ml, Type I (Sarstedt, références 72.693 et 72.694, www.sarstedt.com) pour une utilisation avec échantillons et témoins internes
Adaptateurs et supports pour réactif pour le QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (adaptateur réfrigérant, support pour réactifs 1, Qsym, référence 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (adaptateur réfrigérant, support pour réactifs 2, Qsym, référence 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (adaptateur réfrigérant, rangées de tubes RG, 72, Qsym, référence 9018092)
Consommables pour le QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (rangées de tubes et de bouchons, 0,1 ml) (référence 981103)
	■	Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (tubes coniques) (référence 997102)* ou Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubes de 2,0 ml, Type I) (Sarstedt, référence 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (tubes coniques) (référence 997104)* ou Tubes with flat base from PP (tubes à base plate, en PP) (Sarstedt, référence 60.558.001)
	■	Reagent Bottles (flacons de réactif), 30 ml, Qsym AS (référence 997108)
	■	Elution Microtubes CL (microtubes d'élu­tion CL) (référence 19588)
	■	Filter-Tips, 1.500 µl (cônes munis de filtres, 1.500 µl) (référence 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (cônes munis de filtres, 200 µl) (référence 990332)
	■	Filter-Tips, 50 µl (cônes munis de filtres, 50 µl) (référence 997120)
	■	Tip disposal bags (sachets de récupération des cônes usagés) (référence 9013395)

* Veuillez vous renseigner pour connaître la disponibilité.

Manipulation et conservation des échantillons

Prélèvement l'échantillon	de	Échantillon de sang Sang EDTA, 5–10 ml Homogénéisation par retournement du tube, 8 fois — pas d'agitation ! Ne pas utiliser d'échantillons de sang humain traités avec de l'héparine
Conservation échantillons	des	Séparation : centrifugation de 20 minutes, 800–1.600 x g en l'espace de 24 heures après le prélèvement Transfert du plasma isolé dans un tube stérile en polypropylène L'ARN encapsulé du virus est stable à :* 4 °C plusieurs jours –20 °C plusieurs semaines –70 °C plusieurs mois
Transport échantillons	des	Transport en récipient incassable Expédition en l'espace de 24 heures Envoi postal selon les réglementations légales relatives au transport des agents pathogènes† Les échantillons sanguins doivent être expédiés dans des conditions réfrigérées (2 à 8 °C)
Substances interférentes		L'héparine (≥ 10 UI/ml) peut nuire à la PCR. Ne pas utiliser d'échantillons prélevés dans des tubes contenant de l'héparine comme anticoagulant, ni d'échantillons prélevés sur des patients traités avec de l'héparine. Des niveaux élevés d'albumine (≤ 6 g/dl), de bilirubine (≤ 30 mg/dl) et de lipides (≤ 1 g/dl de triglycérides) ainsi que des échantillons hémolytiques (≤ 2 g/dl d'hémoglobine) n'ont aucune influence sur le système.

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

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

Procédure

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

L'emploi du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi conjointement avec le kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ nécessite l'introduction du témoin interne (HI Virus-1 RG IC) dans la procédure de purification pour surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'analyse en aval.

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

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

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

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

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

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

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

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

Configuration du QIA Symphony SP

Tiroir « Waste » (Poubelle)

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

Tiroir « Eluate » (Éluat)

Portoir d'éluat	Nous recommandons d'utiliser l'emplacement 1, position de refroidissement)
Volume d'éluat*	Volume d'éluat présélectionné : 60 μ l Volume d'éluat initial : 90 μ l

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

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

RC, positions 1 et 2	Charger 1 cartouche de réactif (RC) pour 48 échantillons maximum ou 2 nouvelles cartouches de réactifs (RC) pour 96 échantillons maximum
Support du portoir de cônes, positions 1 à 4	Charger suffisamment de portoirs de cônes munis de filtres jetables de 200 μ l (voir « Matériel en plastique nécessaire pour 1 à 4 lots d'échantillons », page 6)
Support du portoir de cônes, positions 5 à 18	Charger suffisamment de portoirs de cônes munis de filtres jetables de 1.500 μ l (voir « Matériel en plastique nécessaire pour 1 à 4 lots d'échantillons », page 6)
Porte boîte d'unités, positions 1 à 3	Charger 3 boîtes d'unités contenant des cartouches de préparation d'échantillon
Support de boîte d'unités, position 4	Charger 1 boîte d'unités contenant des manchons pour 8 barreaux

Tiroir « Sample » (Échantillon)

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

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

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

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

[‡] Il y a 32 cônes munis de filtres/portoir de cônes.

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

[¶] Il y a 28 cartouches de préparation d'échantillons/boîte d'unités.

^{**} Il y a douze manchons pour 8 barreaux/boîte d'unités.

Configuration du QIASymphony AS

Consommables

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

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

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

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

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

Adaptateurs et supports pour réactif

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

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

Cônes munis de filtres

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

Consommable	Nom sur l'écran tactile	Quantité minimale pour 24 réactions	Quantité minimale pour 72 réactions
Cônes munis de filtres, 1.500 µl (1024)	1.500 µl	5	6
Cônes munis de filtres, 200 µl (1024)	200 µl	10	10
Cônes munis de filtres, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Sachets de récupération des cônes usagés	–	1	1

RT-PCR sur le Rotor--Gene Q

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

Réglages spécifiques pour le kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ

Le logiciel Rotor-Gene AssayManager règle automatiquement les paramètres requis pour le kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ.

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

Volume réactionnel (µl)	50
Plateau	Température de plateau : 50 degrés Durée du plateau : 30 min
Plateau 2	Température de plateau : 95 degrés Durée du plateau : 15 min
Nombre de cycles	50 95 degrés pendant 30 s 50 degrés pendant 60 s 72 degrés pendant 30 s
Réglage de l'optimisation du gain	50 degrés (Échantillons : Green; Témoin interne (IC) : Yellow)

Interprétation des résultats

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

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

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

Détection du signal et conclusions

Signal dans le canal Cycling Green	Signal dans le canal Cycling Orange	Résultat quantitatif (UI/ml)	Interprétation
Oui	Oui	< 76,4	Résultat valide : ARN de VIH-1 détecté, < 100 UI/ml Quantification impossible en raison d'un résultat quantitatif inférieur à la limite de détection. La reproductibilité du résultat positif n'est pas garantie.
Oui	Oui	≥ 76,4 et < 100	Résultat valide : ARN de VIH-1 détecté, < 100 UI/ml Quantification impossible en raison d'un résultat quantitatif inférieur à la gamme linéaire de l'analyse.
Oui	Oui	≥ 100 et ≤ 1,00 x 10 ⁸	Résultat valide : ARN de VIH-1 détecté à la concentration calculée Le résultat quantitatif se situe dans la gamme linéaire de l'analyse.
Oui	Oui	> 1,00 x 10 ⁸	Résultat valide : ARN de VIH-1 détecté, quantité > 1,00 x 10 ⁸ Quantification impossible en raison d'un résultat quantitatif supérieur à la gamme linéaire de l'analyse.*
Non	Oui	–	Résultat valide : Aucun ARN de VIH-1 détectable.†
Non	Non	–	Résultat non valide : Aucun résultat ne peut être établi.‡

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

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

‡ Pour des informations sur les sources d'erreurs et leurs solutions, consulter le chapitre « Résolution des principaux problèmes rencontrés » du *Manuel du kit artus HI Virus-1 QS-RGQ*.

Réglage du seuil pour l'analyse de la PCR

Il convient de définir empiriquement les paramètres du seuil optimal pour une combinaison appareil Rotor-Gene Q et kit *artus QS-RGQ* donnée, en testant chaque combinaison différente, étant donné qu'il s'agit là d'une valeur relative dépendant du flux de travail diagnostique global. Le seuil peut être

fixé à une valeur préliminaire de 0,04 pour l'analyse du premier cycle de PCR, mais il faut réajuster cette valeur par une analyse comparative des cycles suivants du flux de travail. Le seuil doit être réglé manuellement juste au-dessus du signal de fond des témoins négatifs et des échantillons négatifs. La valeur moyenne du seuil calculée à partir de ces expériences doit fonctionner pour la majorité des cycles suivants, mais l'utilisateur doit néanmoins revoir la valeur de seuil établie à intervalles réguliers. La valeur de seuil se situe généralement dans une plage de 0,03 à 0,05 et doit être arrondie à trois chiffres après la virgule au maximum.

Quantification

Les étalons de quantification (HI Virus-1 RG QS 1–4) du kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ sont traités comme les échantillons précédemment purifiés et le même volume est utilisé (20 µl). Pour générer une courbe étalon sur les appareils Rotor-Gene Q, l'ensemble des 4 étalons de quantification doivent être utilisés et définis dans la boîte de dialogue « Edit Samples » (Modifier les échantillons) sur l'appareil Rotor-Gene Q comme étalons aux concentrations spécifiées (voir le manuel d'utilisation de l'appareil).

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

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

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

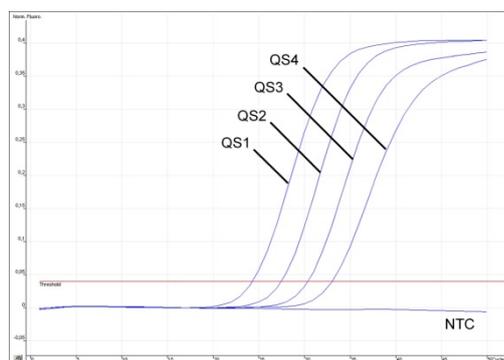
Facteur de conversion

1 UI/ml correspond à 0,45 copie/ml pour la détection d'ARN de VIH-1 sur le Rotor-Gene Q. Le facteur de conversion a été établi par une analyse de régression de plusieurs dilutions en série et par comparaison avec une méthode de référence exprimée en copies/ml.

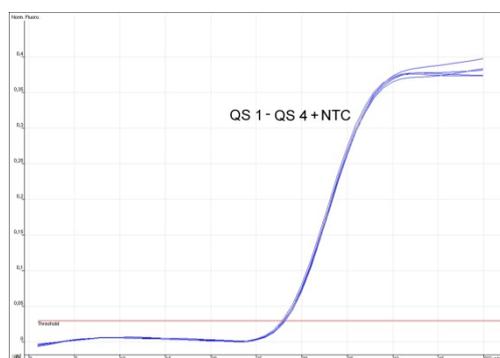
* L'étalon a été calibré en utilisant la norme internationale relative au VIH (OMS).

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

Exemples de réactions de PCR positives et négatives



Détection des étalons de quantification (HI Virus-1 RG QS 1–4) dans le canal de fluorescence Cycling Green. NTC : Témoin sans matrice (témoin négatif).



Détection du témoin interne (IC) dans le canal de fluorescence Cycling Orange avec amplification simultanée des étalons de quantification (HI Virus-1 RG QS 1–4). NTC : Témoin sans matrice (témoin négatif).

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

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

© 2012 QIAGEN, tous droits réservés.

www.qiagen.com

Canada ■ 800-572-9613

Ireland ■ 1800 555 049

Norway ■ 800-18859

China ■ 021-3865-3865

Italy ■ 800-787980

Singapore ■ 65-67775366

Denmark ■ 80-885945

Japan ■ 03-6890-7300

Spain ■ 91-630-7050

Australia ■ 1-800-243-800

Finland ■ 0800-914416

Korea (South) ■ 1544 7145

Sweden ■ 020-790282

Austria ■ 0800/281010

France ■ 01-60-920-930

Luxembourg ■ 8002 2076

Switzerland ■ 055-254-22-11

Belgium ■ 0800-79612

Germany ■ 02103-29-12000

Mexico ■ 01-800-7742-639

UK ■ 01293-422-911

Brazil ■ 0800-557779

Hong Kong ■ 800 933 965

The Netherlands ■ 0800 0229592

USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies