

Fiche d'application du QIAAsymphony RGGQ *artus*[®] CT/NG QS-RGQ Kit (type d'échantillon : écouvillons en milieu eNaT[™], 400 µl)

Juillet 2017

Gestion des versions

Ce document constitue la fiche d'application du kit *artus* CT/NG QS-RGQ pour les écouvillons, version 1, R3.



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

Informations générales

Kit	<i>artus</i> CT/NG QS-RGQ Kit, Version 1, REF 4569365
Type d'échantillon validé	Écouvillons vaginaux, cervicaux et urétraux (homme) en milieu eNaT
Purification en amont	QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (référence 937055)
Volume d'échantillon (dont volume excédentaire)	500 µl
Jeu de paramètres d'analyse	<i>artus</i> _CT_NG 400_V1
Jeu de contrôles d'analyse par défaut	Complex400_V4_DSP <i>artus</i> CT_NG
Nom de contrôle interne sur le module SP	Complex400_V4_DSP <i>artus</i> CT_NG
Volume d'élution	60 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou supérieure
Volume du mélange principal	10 µl
Volume de matrice	15 µl
Nombre de réactions	6-96
Durée d'exécution sur le module AS	Pour 6 réactions : environ 8 minutes Pour 72 réactions : environ 35 minutes

Matériel nécessaire mais non fourni

Prélèvement de l'échantillon	■	Tubes 2 ml avec eNaT (Copan, référence 606C, www.copaninnovation.com)
Kit de purification	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (référence 937055)
Adaptateurs pour QIASymphony SP	■	Portoir Elution Microtube Rack QS (adaptateur réfrigérant, EMT, v2, Qsym, référence 9020730)
	■	Tubes coniques 2 ml, Qsym AS (référence 997102) pour une utilisation avec échantillons et contrôles internes
Consommables pour QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges (cartouches de préparation des échantillons) à 8 puits (référence 997002)
	■	8-Rod Covers (manchons pour 8 barreaux) (référence 997004)
	■	Filter-Tips (cônes munis de filtres), 1500 µl (référence 997024)
	■	Filter-Tips (cônes munis de filtres), 200 µl (référence 990332)
	■	Microtubes Elution Microtubes CL (référence 19588)
	■	Tip disposal bags (sachets de récupération des cônes usagés) (référence 9013395)
	■	Micro tubes 2,0 ml Type I, with skirted base (Sarstedt, avec collerette, référence 72.694, www.sarstedt.com) pour une utilisation avec échantillons et contrôles internes
	■	Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (tubes en polystyrène à fond rond, Becton Dickinson, référence 352051) pour contrôles internes
Adaptateurs et supports pour réactif pour QIASymphony AS	■	Support Reagent holder 1 QS (adaptateur réfrigérant, support pour réactifs 1, Qsym, référence 9018090)
	■	Support Reagent holder 2 QS (adaptateur réfrigérant, support pour réactifs 2, Qsym, référence 9018089)
	■	Tubes RG Strip Tubes 72 QS (adaptateur réfrigérant, tubes RG Strip Tubes 72, Qsym, référence 9018092)

Consommables pour
QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps (rangées de tubes et de bouchons), 0,1 ml (référence 981103)
- Tubes, conical (tubes coniques), 2 ml, Qsym AS (référence 997102)
- Tube, conical (tube conique), 5 ml, Qsym AS (référence 997104)
- Microtubes Elution Microtubes CL (référence 19588)
- Filter-Tips (cônes munis de filtres), 1500 µl (référence 997024)
- Filter-Tips (cônes munis de filtres), 200 µl (référence 990332)
- Filter-Tips (cônes munis de filtres), 50 µl (référence 997120)
- Tip disposal bags (sachets de récupération des cônes usagés) (référence 9013395)

Pour la préparation des
échantillons (eNaT)

- Buffer ATL, GPR (tampon ATL, GPR) (référence 939016)

Manipulation et conservation des échantillons

Prélèvement de l'échantillon	Tubes 2 ml avec eNaT (Copan, référence 606C, www.copaninnovation.com)
Transport des échantillons	Système de transport incassable Expédition à 20 °C en l'espace de 6 heures après prélèvement de l'échantillon Envoi postal conforme à la législation en vigueur en matière de transport d'agents pathogènes*
Préparation des échantillons	Éviter la formation de mousse dans ou sur les échantillons. Amener tous les échantillons à température ambiante (15 à 25 °C) avant de lancer le cycle.
Conservation des échantillons	Court terme (jusqu'à 7 jours à partir de la date d'arrivée sur le site d'analyse) : 20 °C ou 4 °C en fonction des conditions locales Long terme (jusqu'à 2 semaines) : 4°C Stockage de plus longue durée : -20°C

* International Air Transport Association (IATA). Dangerous Goods Regulations.

Procédure

Préparation d'ARN entraîneur et addition du contrôle interne aux échantillons

L'emploi du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi associé au kit *artus* CT/NG QS-RGQ nécessite l'introduction du contrôle interne (CT/NG RG IC) dans la procédure de purification afin de surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'analyse en aval.

Les contrôles internes doivent être ajoutés au mélange ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE) de manière à ce que le volume total reste de 120 µl.

Le tableau représente l'addition du contrôle interne à la solution d'isolement dans le rapport de 0,1 µl pour 1 µl de volume d'élution. Il est recommandé de préparer les mélanges nécessaires juste avant chaque cycle.

Pour le calcul du contrôle interne (IC), il convient d'utiliser la fonction « IC Calculator » (Calculateur d'IC) de la QIASymphony Management Console (QMC).

Composant	Volume (µl) (tubes SAR)*	Volume (µl) (tubes BD™)†
ARN entraîneur (CARRIER)	3	3
Contrôle interne‡	9	9
Tampon AVE	108	108
Volume final par échantillon (hors volume mort)	120	120
Volume total pour n échantillons	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\P}$

* Micro tubes 2.0 ml Type I, with skirted base (avec collerette, Sarstedt, référence 72.694, www.sarstedt.com).

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

‡ On calcule la quantité de contrôle interne à partir des premiers volumes d'élution (90 µl). Le volume mort supplémentaire dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon.

§ Un mélange de contrôle interne correspondant à 3 échantillons supplémentaires (c'est-à-dire 360 µl) est requis. Ne pas remplir plus de 1,92 ml de volume total (ce qui correspond à 13 échantillons maximum). Ces volumes sont spécifiques aux Micro tubes 2.0 ml Type I (avec collerette, Sarstedt, référence 72.694, www.sarstedt.com).

¶ Un mélange de contrôle interne correspondant à 5 échantillons supplémentaires (c'est-à-dire 600 µl) est requis. Ne pas remplir plus de 13,92 ml de volume total (ce qui correspond à 111 échantillons 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 QIASymphony SP

Tiroir « Waste » (Déchets)

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

Tiroir « Eluate » (Éluat)

Portoir d'éluat	(Portoir EMT) utiliser l'emplacement d'éluat réfrigéré 1
Volume d'éluat*	Volume d'éluat présélectionné : 60 µl Volume d'éluat initial : 90 µl

* 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 que le volume d'éluat réel soit le même que le volume présélectionné.

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

Position A1 et/ou A2	Charger 1 cartouche de réactif (RC) pour 72 échantillons maximum ou 2 nouvelles cartouches de réactifs (RC) pour 144 échantillons maximum
Position B1	Tampon ATL (ATL), lire le code-barres de la bouteille en appuyant sur le bouton « Bottle ID » (ID bouteille) dans le tiroir « Reagent and Consumable »
Support de portoir de cônes, positions 1 à 17	Charger suffisamment de portoirs de cônes à filtre jetables de 200 µl et 1500 µl (voir page 7)
Support de boîtes d'unités, positions 1 à 4	Charger les boîtes d'unités contenant les cartouches de préparation d'échantillons et les manchons pour 8 barreaux (voir page 7)

Tiroir « Sample » (Échantillon)

Type d'échantillon	Milieu de transport eNaT
Volume d'échantillon (dont volume excédentaire)	500 µl
Tubes d'échantillons (primaires)	Tubes 2 ml avec eNaT (Copan, référence 606C, www.copaninnovation.com)
Tubes d'échantillons (secondaires)	Micro tubes 2.0 ml Type I (avec collerette, Sarstedt, référence 72.694, www.sarstedt.com)
Élément d'insertion	Élément d'insertion de tube 3B (Insert, référence 9242083)

* S'assurer de retirer tous les écouvillons des tubes primaires avant de charger les échantillons sur le QIASymphony SP.

Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1 à 4

	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	74	100
Cônes munis de filtres jetables, 1500 µl ^{†‡}	93	178	263	348
Cartouches de préparation d'échantillons [§]	18	36	54	72
Manchons pour 8 barreaux [¶]	3	6	9	12

* L'utilisation de plusieurs tubes de contrôle interne 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 requis de cônes munis de filtres correspond à 1 inventaire par cartouche de réactifs.

§ Il y a 28 cartouches de préparation d'échantillons/boîte d'unités.

¶ Il y a douze manchons pour 8 barreaux/boîte d'unités.

Chargement des échantillons et des contrôles

S'assurer que les 2 contrôles (contrôle CT/NG de type CT+/NG- et contrôle CT/NG de type NG+/CT-) sont placés en tête de vos échantillons dans la zone d'entrée d'échantillons du QIASymphony. Lors de la préparation de plus de 69 échantillons, il est nécessaire d'ajouter 2 contrôles supplémentaires (voir l'exemple présenté dans le tableau ci-dessous). Ce point est important car un cycle de PCR contient 72 réactions (69 échantillons + 2 contrôles dans les modules de préparation d'échantillons et 1 NTC dans le module de configuration d'analyse). Lors de l'analyse de plus de 69 échantillons, un second cycle de PCR sera automatiquement distribué à la pipette par le module AS. Pour

garantir la validité de ce cycle, 2 contrôles doivent être placés dans les positions de PCR 1 et 2. Il est donc important de s'assurer que les 2 contrôles pour la préparation d'échantillons soient toujours positionnés en début de cycle du Rotor-Gene Q. Lors de l'analyse de plus de 45 échantillons, nous recommandons de partager les échantillons en 2 lots sur le module AS ce qui donne, par suite, 2 cycles séparés sur l'appareil Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. Pour plus d'informations voir les 2 tableaux ci-dessous. Veuillez garder à l'esprit que le NTC est traité par le module AS et non le module SP.

Remarque : Il n'est pas recommandé de changer le nombre de réplicats NTC manuellement. L'application Rotor-Gene AssayManager rejettera le cycle en cas de changement du nombre de réplicats NTC.

Distribution des échantillons et des contrôles (exemple pour 96 réactions)

	SP, lot 1 Positions	SP, lot 2 Positions	SP, lot 3 Positions	SP, lot 4 Positions
Contrôles CT/NG	1: CT+/NG– 2: NG+/CT–	–	49: CT+/NG– 50: NG+/CT–	–
Échantillons	3–24	25–48	51–72	73–96

Après chaque jeu de d'échantillons (1–71 et 72–96) le module AS ajoutera un échantillon NTC (contrôle sans matrice).

Le flux de travail recommandé pour 96 échantillons (contrôles y compris) est représenté dans le tableau ci-dessous. Dans cet exemple, 2 x 46 échantillons (+ 2 contrôles) seront traités en 2 lots AS et en 2 cycles de PCR. Le premier cycle de PCR, comprenant 46 échantillons, 2 contrôles et 1 NTC, est terminé lorsque les lots SP 3 et 4 sont en cours de traitement.

Flux de travail recommandé pour 96 échantillons en utilisant le cycle intégré

	AS, lot 1		AS, lot 2	
	SP, lot 1 Positions	SP, lot 2 Positions	SP, lot 3 Positions	SP, lot 4 Positions
Contrôles CT/NG	1: CT+/NG– 2: NG+/CT–	–	49: CT+/NG– 50: NG+/CT–	–
Échantillons	3–24	25–48	51–72	73–96

Configuration du QIASymphony AS

Consommables

Lors de la configuration, les positions appropriées pour 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
Microtubes d'éluion CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Portoir pour microtubes d'éluion QS

* Indique le matériel de laboratoire pouvant être réfrigéré en utilisant un adaptateur de refroidissement muni d'un code-barres.

[†] Pour les composants du mélange principal, le mélange principal préparé par le système, les étalons d'analyse et les contrôles d'analyse.

[‡] En variante, des tubes coniques, 2 ml, Qsym AS (référence 997102) peuvent être utilisés.

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

Adaptateurs et supports pour réactif

Portoir/support pour réactif	Nom	Nombre requis*
Portoir à échantillons	Portoir pour microtubes d'éluion QS	1
Supports pour réactif	Support de réactifs 1 QS	1
Portoirs à essais	Rangées de tubes RG 72 QS	1

* Calculé pour un cycle d'analyse comprenant 72 réactions.

Cônes munis de filtres

Charger les portoirs de cônes en partant des emplacements de cônes 1, 2 et 3 dans le tiroir « Eluate and Reagents », puis charger les portoirs de cônes dans les emplacements 7, 8 et 9 du tiroir « Assays ».

Consommable	Nom sur l'écran tactile	Nombre minimal pour 24 réactions	Nombre minimal pour 72 réactions
Cônes munis de filtres, 1500 µl (1024)	1500 µl	2	2
Cônes munis de filtres, 200 µl (1024)	200 µl	6	6
Cônes munis de filtres, 50 µl (1024)	50 µl	24	72
Sachets de récupération des cônes usagés	–	1	1

Répartition du mélange principal

Bien que le kit soit optimisé pour un format de 2 x 48 réactions, différentes combinaisons sont possibles. Étant donné que les systèmes de pipetage automatisés présentent toujours un certain volume mort, la répartition de 48 tubes réactionnels ne donne pas 2 x 24 réactions. Voir le tableau présenté ci-dessous pour un aperçu des combinaisons possibles.

Composant(s)	Tubes du mélange principal	Cycles de PCR	Réactions par cycle de PCR*	Échantillons de patients	Contrôles†
2 x 48 tubes réactionnels	2	2	49	2 x 46	2 x 3
1 x 48 tubes réactionnels	1	1	49	1 x 46	1 x 3
1 x 48 tubes réactionnels	1	2	17	2 x 14	2 x 3

* Calcul pour n échantillons de patients + 2 contrôles CT/NG (CT+/NG- et NG+/CT-) + 1 NTC par cycle de PCR.

† Contrôle CT/NG de type CT+/NG-, contrôle CT/NG de type NG+/CT- et NTC (ajoutés par le module de configuration d'analyse).

PCR en temps-réel sur le Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*

Le kit *artus* CT/NG QS-RGQ MDx 5plex HRM peut être utilisé sur le Rotor-Gene Q en effectuant une analyse manuelle au moyen du logiciel Rotor-Gene Q version 2.1 ou supérieure ou en effectuant une analyse automatique avec le système Rotor-Gene AssayManager®. Les sections suivantes décrivent les réglages et la configuration avec 2 protocoles différents.

Préparer le rotor pour le cycle sur l'appareil Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM:

- Placer un rotor de 72 puits dans le support pour rotor.
- Mettre les rangées de tubes dans le rotor. Veiller à commencer avec la position 1 et à placer les rangées de tubes dans la bonne orientation.
- Utiliser des rangées de tubes bouchés vides pour compléter les positions inutilisées.
- Fixer l'anneau de verrouillage.
- Charger le rotor et son anneau de verrouillage dans l'appareil Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

* Si possible, utiliser un appareil Rotor-Gene Q 5plex HRM affichant 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 « mmaann » où le terme « mm » indique le mois de production en chiffres, le terme « aa » représente les deux derniers chiffres de l'année de production et le terme « nnn » représente l'identifiant unique de l'appareil.

PCR en temps-réel utilisant l'application Rotor-Gene AssayManager

Pour une analyse automatique utilisant le kit *artus* CT/NG QS-RGQ avec l'application Rotor-Gene AssayManager, le module d'extension *artus* Basic V1.0.3 (disponible pour le téléchargement à l'adresse (www.qiagen.com/shop/automated-solutions/accessories/rotor-gene-assaymanager)) doit être installé sur l'application Rotor-Gene AssayManager.

Démarrer le processus d'installation en double-cliquant sur le fichier *ArtusBasic.Installation.msi* et en suivant les instructions d'installation. Pour une description détaillée, se référer au chapitre « Installing Plug-ins » (Installation des modules d'extension) dans le manuel d'utilisation de l'application principale Rotor-Gene AssayManager (*Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual*).

Pour utiliser le profil d'essai *artus_CTNG_sample400_QS* (nom abrégé : *CTNG_a*) avec le kit *artus* CT/NG QS-RGQ, le fichier *AP_artus_CTNG_sample400_QS_V2_0_0.iap* (disponible pour le téléchargement à l'adresse www.qiagen.com/products/artusctngqsrqakitce) doit être importé dans l'application Rotor-Gene AssayManager.

Pour importer le profil d'essai dans le Rotor-Gene AssayManager :

1. Naviguez jusqu'à l'environnement « Configuration » et passer à l'onglet « Assay Profile » (Profil d'essai).
2. Cliquer sur « Import » (Importer) et sélectionner le fichier *AP_artus_CTNG_sample400_QS_V2_0_0.iap* dans la boîte de dialogue ouverte.
3. Cliquer sur « Open » (Ouvrir), à la suite de quoi le profil est chargé et ajouté à la liste des profils d'essai disponibles.

Remarque : Une même version de profil d'essai ne peut pas être importée deux fois.

Lancer un cycle en utilisant l'application Rotor-Gene AssayManager

Une fois le module d'extension installé et le profil d'essai importé, l'application Rotor-Gene AssayManager peut utiliser les informations fournies dans le fichier de résultats du QIASymphony AS pour configurer un cycle pour une amplification par PCR en temps-réel, puis pour l'interprétation automatique des résultats.

Les fichiers de résultats du QIASymphony AS peuvent être téléchargés en utilisant une clé USB ou le QIASymphony Management Console. Si le fichier de résultats du QIASymphony AS est téléchargé en utilisant une clé USB, il est stocké au format .zip dans le dossier *x:\Log\results\AS*.

Remarque : Avant d'importer le fichier de résultats du QIASymphony AS, le fichier .zip doit être extrait. Si le fichier de résultats du QIASymphony AS est transféré en utilisant le QIASymphony Management Console (QMC), cette étape n'est pas requise.

Pour réaliser un cycle de PCR :

1. Démarrer l'application Rotor-Gene AssayManager.

2. Passer à l'environnement « Paramétrage » et sélectionner la source « QIASymphony » (QIASymphony) comme « Import type » (Type d'importation). Dans la boîte de dialogue « Select file » (Sélectionner un fichier), ouvrir le fichier de résultats de QIASymphony AS correspondant et cliquer sur « Ouvrir ». La liste de tâches est ensuite ajoutée à la liste des listes de tâches disponibles.
3. Le cycle peut être lancé à partir du tableau « Available work lists » (Listes de tâches disponibles) en cliquant sur « Apply » (Appliquer) dans la barre de boutons au niveau de l'entrée de la liste de tâche appropriée (Insérer la désignation des listes de tâches QS importées).
4. Saisir un nom d'expérience.
5. Sélectionner un cycleur et confirmer que l'anneau de blocage est fixé.
6. Cliquer sur le bouton vert « Start run » (Démarrer le cycle)..

Terminer et libérer un cycle

Pour observer l'évolution du cycle, passer à l'écran du cycleur correspondant. Une fois le cycle terminé, cliquez sur « Finish run » (Terminer le cycle) pour libérer le cycleur et approuver l'échantillon dans l'environnement « Approval » (Approbation).

1. Sélectionner l'environnement « Approval ».
2. Cliquer sur la fonction « Apply filter » (Appliquer le filtre) (ou choisir au préalable vos propres options de filtre).
3. Sélectionner une expérience.
4. Cliquer sur « Start approval » (Démarrer l'approbation).
5. Approuver les résultats de chaque échantillon de test. Utiliser le bouton « Accepted » (Accepté) pour les échantillons d'essai dont vous acceptez les résultats analysés par le logiciel Rotor-Gene AssayManager. Utiliser le bouton « Rejected » (Rejeté) si vous n'acceptez pas les résultats des échantillons testés évalués par le logiciel Rotor-Gene AssayManager pour une raison quelconque.

Remarque : Un résultat automatiquement défini comme « Invalid » (Non Valide) par l'application Rotor-Gene AssayManager ne peut plus être converti en résultat valide, même si le résultat est rejeté.

6. Cliquer sur « Release /report data... » (Libérer/communiquer les données).
7. Choisir un profil de rapport et cliquer sur « OK ». Le rapport sera automatiquement généré et enregistré.

Remarque : L'utilisateur doit bénéficier de droits d'approbation pour approuver un essai.

8. Décharger l'appareil Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM et mettre les rangées de tubes au rebut conformément aux règles de sécurité locales.

Interprétation des résultats avec le système Rotor-Gene AssayManager

Le système *artus* CT/NG QS-RGQ AssayProfile pour les échantillons sur écouvillons configure automatiquement le seuil et contient toutes les règles permettant d'interpréter les résultats d'analyse de manière automatique. Sur la base de ceux-ci, le logiciel évaluera la validité ou a non-validité des échantillons et des contrôles. Cette analyse automatique peut générer les indicateurs correspondants suivants.

IMPORTANT: un seuil de 40 CT est en vigueur dans le canal NG et provoque un résultat « INVALID » (invalide) avec une balise « CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE » (CT supérieur à la plage acceptée). Les instructions suivantes doivent être suivies attentivement.

- Si le canal NG est invalide et associé à la balise « CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE » et que l'IC est détecté et valide, l'échantillon peut être traité comme un **échantillon valide à NG négatif**. Aucun retest n'est effectué.
- Si le canal NG est invalide et associé à toute autre balise, l'échantillon doit être retesté.
- Si le canal CT est invalide et associé à une balise, l'échantillon doit être retesté.

Indicateur	Comportement	Description
ASSAY_INVALID	Non valide	L'essai est non valide, car au moins un contrôle externe est non valide.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Non valide	La valeur de C_T détectée est supérieure à la valeur de C_T définie comme seuil de séparation. IMPORTANT: si le canal NG est signalé comme étant invalide avec cette balise, l'échantillon peut être traité comme un échantillon valide à NG négatif, à condition que l'IC soit valide.
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Non valide	La valeur de C_T détectée est inférieure à la valeur de C_T définie comme seuil de séparation.
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Non valide	La courbe d'amplification des données brutes présente une forme qui s'écarte du comportement défini pour cet essai. Il existe une forte probabilité que les résultats soient faux ou l'interprétation mauvaise.

Indicateur	Comportement	Description
FLAT_BUMP	Non valide	La courbe d'amplification présente une forme de bosse aplatie, s'écartant du comportement défini pour cet essai. Il existe une forte probabilité que les résultats soient faux ou que l'interprétation soit mauvaise (mauvaise détermination de la valeur C_T).
FLUORESCENCE_TOO_LOW	Non valide	Le signal de fluorescence est plus faible que le seuil de séparation de fluorescence défini.
IC_INVALID	Non valide	Le contrôle interne est non valide. La cible et le contrôle interne sont dans le même tube.
IC_NO_SIGNAL	Non valide	Aucun signal détecté pour le contrôle interne. La cible et le contrôle interne sont dans le même tube.
INHIBITION_BY_CT	Non valide	La plage de valeurs de C_T maximale définie entre la valeur de C_T du contrôle interne de l'échantillon concerné et la valeur de C_T du contrôle interne du NTC est dépassée.
INHIBITION_BY_FLUORESCENCE	Non valide	L'écart de fluorescence maximal défini entre la fluorescence du contrôle interne du NTC et la fluorescence du contrôle interne de l'échantillon concerné pour le dernier cycle est dépassé.

Indicateur	Comportement	Description
LOW_FLUORESCENCE_CHANGE	Avertissement	<p>Le pourcentage de variation de fluorescence de l'échantillon concerné par rapport au tube d'échantillon présentant la variation de fluorescence la plus grande est inférieur à une limite définie.</p> <p>Remarque : Si un échantillon valide est marqué avec cet indicateur, l'approbateur doit prêter une attention particulière aux faits décrits par cet indicateur avant de décider d'accepter ou de rejeter le résultat.</p>
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	Non valide	La courbe d'amplification franchit le seuil plusieurs fois. Il n'est pas possible de déterminer une valeur de C_T univoque.
NO_CT_DETECTED	Non valide	Aucune valeur de C_T n'est détectée pour cette cible.
NORM_FACTOR_ALTERATION	Avertissement	Dérive lors de la procédure de normalisation. La courbe d'amplification présente un défaut de normalisation ; les résultats doivent être vérifiés manuellement pour leur exactitude.
OTHER_TARGET_INVALID	Non valide	Une autre cible du même échantillon est non valide.
SATURATION	Non valide	La fluorescence des données brutes présente une forte saturation avant le point d'inflexion de la courbe d'amplification.

Indicateur	Comportement	Description
SATURATION_IN_PLATEAU	Avertissement	<p>La fluorescence des données brutes présente une saturation dans la phase de plateau de la courbe d'amplification.</p> <p>Remarque : Si un échantillon valide est marqué avec cet indicateur, l'approbateur doit prêter une attention particulière aux faits décrits par cet indicateur avant de décider d'accepter ou de rejeter le résultat.</p>
SPIKE	Avertissement	<p>Un pic (spike) dans la fluorescence des données brutes est détecté dans la courbe d'amplification, mais en dehors de la région de détermination de la valeur de CT.</p> <p>Remarque : Si un échantillon valide est marqué avec cet indicateur, l'approbateur doit prêter une attention particulière aux faits décrits par cet indicateur avant de décider d'accepter ou de rejeter le résultat.</p>
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Non valide	Un pic est détecté dans la courbe d'amplification à proximité de la valeur de CT.
STEEP_BASELINE	Non valide	Une augmentation brutale de la ligne de fond de la fluorescence des données brutes est détectée dans la courbe d'amplification.
STRONG_BASELINE_DIP	Non valide	Une forte chute de la ligne de fond de la fluorescence des données brutes est détectée dans la courbe d'amplification.

Indicateur	Comportement	Description
STRONG_NOISE	Non valide	Un bruit élevé est détecté en dehors de la phase de croissance de la courbe d'amplification.
STRONG_NOISE_ IN_GROWTH_PHASE	Non valide	Un bruit important est détecté dans la phase de croissance (exponentielle) de la courbe d'amplification.
UPSTREAM	Variable	L'état de l'échantillon a été défini comme non valide ou incertain par un processus en amont (par exemple, la configuration de test du QIAAsymphony). Remarque : Pour les indicateurs « incertain » attribués lors de processus en amont, le comportement de l'application Rotor-Gene AssayManager est défini dans l'environnement « Configuration ». Pour les indicateurs « invalid » attribués lors de processus en amont, l'application Rotor-Gene AssayManager invalide toujours les échantillons concernés.
WAVY_BASE_ FLUORESCENCE	Non valide	Des ondulations de la ligne de fond de la fluorescence des données brutes ont été détectées dans la courbe d'amplification.

Les résultats du système Rotor-Gene AssayManager nécessitent d'être approuvés/rejetés par un utilisateur via le rôle d'utilisateur « Approver » (Approbateur). Pour plus d'informations sur le processus d'approbation, se référer au manuel d'utilisation du Rotor-Gene AssayManager *artus* Basic Plug-in (*Rotor-Gene AssayManager artus Basic Plug-in User Manual*).

PCR en temps-réel avec le logiciel Rotor-Gene Q version 2.1 ou supérieure

Réglages spécifiques pour le kit *artus* CT/NG QS-RGQ Kit

Les réglages spécifiques avec le logiciel Rotor-Gene de version 2.1 sont présentés ci-dessous.

Volume réactionnel (µl)	25
Plateau	Plateau de température : 95 deg. Durée du plateau : 15 min
Cycles	45 cycles 95 deg. pendant 11 s 60 deg. pendant 20 s 72 deg. pendant 20 s
Configuration de l'optimisation automatique du gain	60 degrés (Échantillons : CT : Green (vert), NG : Orange; IC : Yellow (jaune))

Pour plus d'instructions, se référer à la fiche de protocole « Settings to run *artus* QS-RGQ Kits » (Paramètres pour l'exécution des kits *artus* QS-RGQ) à l'adresse www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgkitce.

Interprétation des résultats avec le logiciel Rotor-Gene Q version 2.1 ou supérieure

Le kit *artus* CT/NG QS-RGQ peut être utilisé sur le Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM en effectuant une analyse manuelle au moyen du logiciel Rotor Gene Q version 2.1 ou supérieure. Cette section décrit l'interprétation des résultats obtenus sur le Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. Étudier également les informations sur l'état de l'échantillon dans les fichiers de résultats du QIASymphony SP/AS pour une analyse de l'ensemble du flux de travail, de l'échantillon au résultat. Seuls des échantillons présentant un état valide doivent être utilisés.

Détection du signal et conclusions

Signal dans le canal Cycling Green	Signal dans le canal Cycling Orange ≤ 40 Cts	Signal dans le canal Cycling Orange > 40 Cts	Signal dans le canal Cycling Yellow	Interprétation
Oui	Non	Non	Oui/Non*	Résultat valide : ADN de CT détecté, ADN de NG non détecté
Oui	Non	Oui	Oui/Non*	Résultat valide : ADN de CT détecté, ADN de NG non détecté
Non	Oui	Non	Oui/Non*	Résultat valide : ADN de CT non détecté, ADN de NG détecté
Oui	Oui	Non	Oui/Non*	Résultat valide : ADN de CT et de NG détecté
Non	Non	Oui	Oui	Résultat valide : aucun ADN de CT ou de NG détecté [†]
Non	Non	Non	Oui	Résultat valide : aucun ADN de CT ou de NG détecté [†]
Non	Non	Oui	Non	Résultat non valide : aucun résultat ne peut être établi [‡]
Non	Non	Non	Non	Résultat non valide : aucun résultat ne peut être établi [‡]

* Dans ce cas, la détection d'un signal dans le canal Cycling Yellow est superflue car de fortes concentrations initiales d'ADN de CT (signal positif des canaux Cycling Green et/ou Cycling Orange) peuvent entraîner la réduction ou la disparition du signal de fluorescence du contrôle interne du canal Cycling Yellow (concurrence).

[†] Si la valeur C_T pour le contrôle interne d'un échantillon négatif dépasse de plus de 5 cycles la valeur C_T pour le contrôle interne du contrôle sans matrice dans le cycle ($C_{T \text{ IC Échantillon}} - C_{T \text{ IC NTC}} > 5$), l'échantillon doit être considéré comme inhibé. Aucun résultat ne peut être établi.

[‡] Des informations sur les sources d'erreur et leur solution sont disponibles dans la section « Troubleshooting guide » (Résolution des principaux problèmes rencontrés) du manuel du kit *artus CT/NG QS-RGQ* (*artus CT/NG QS-RGQ Kit Handbook*).

Configuration du seuil pour l'analyse PCR

Les paramètres de seuil recommandés pour le test *artus CT/NG* sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Paramètres de seuil recommandés

Canal de fluorescence	Paramètre de seuil
Cycling Green	0,07
Cycling Orange	0,10
Cycling Yellow	0,03

Exemples de réactions de PCR positives et négatives

Le kit *artus* CT/NG QS-RGQ contient 2 contrôles pour surveiller la procédure d'extraction et la PCR : le contrôle CT/NG de type CT+/NG- et le contrôle CT/NG de type NG+/CT-. Ces contrôles sont chargés dans le QIA Symphony SP/AS et traités comme les autres échantillons. Le contrôle interne (CT/NG RG IC) est ajouté à l'échantillon lors du processus d'extraction de l'ADN et est présent dans tous les échantillons et dans le NTC.

Les contrôles sont utilisés dans le processus de configuration de la PCR et doivent produire des résultats spécifiques dans la PCR, similaires aux résultats présentés sur les figures ci-dessous.

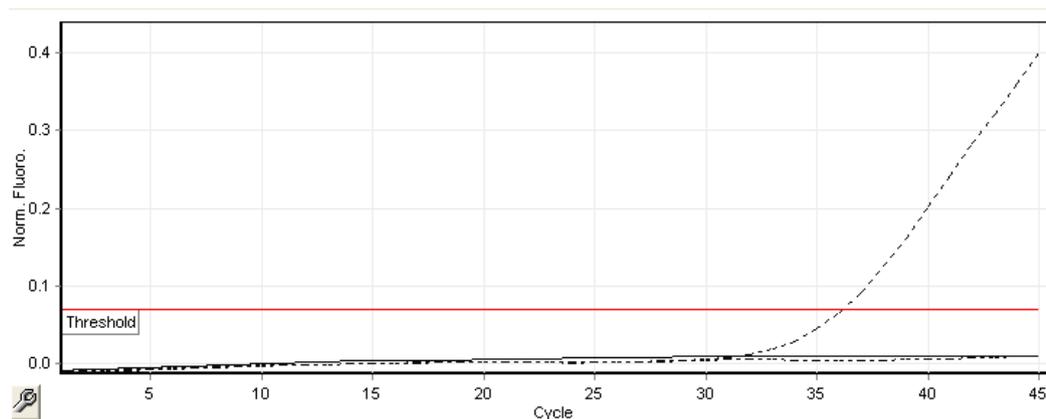


Figure 1. Cycling Green: Contrôle positif CT Résultats d'un cycle avec le contrôle CT/NG de type CT+/NG-.

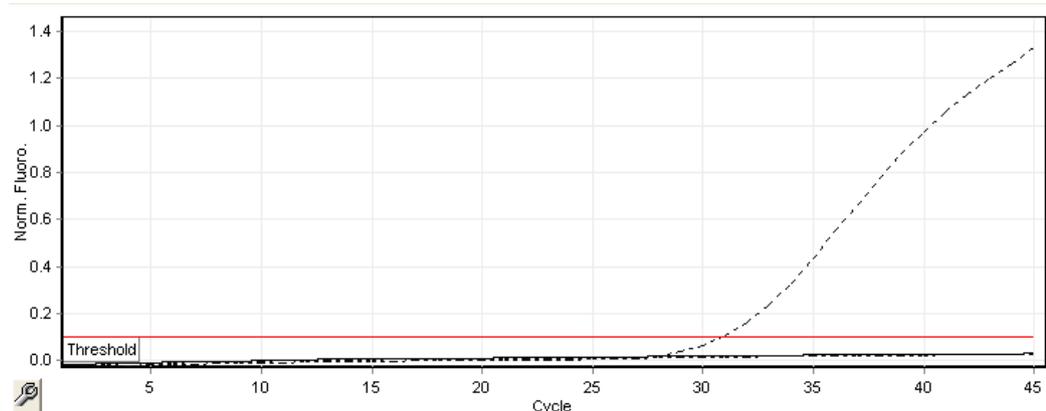


Figure 2. Cycling Orange: Contrôle positif NG Résultats d'un cycle avec le contrôle CT/NG de type NG+/CT-.

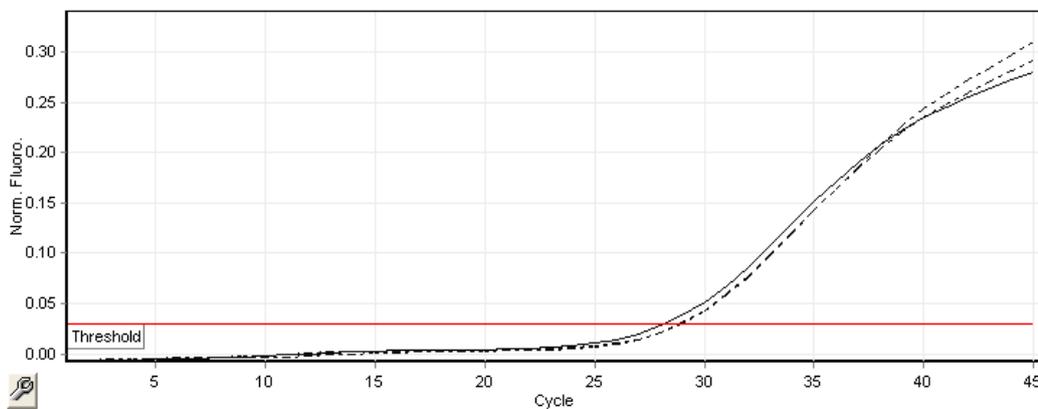


Figure 3. Cycling Yellow: contrôle interne. Résultats d'un cycle avec le CT/NG RG IC.

Les valeurs C_T attendues pour les contrôles d'une analyse de PCR réalisée avec succès et validée sont présentées dans le tableau suivant.

Valeurs C_T attendues

Contrôle/échantillon	Plage C_T (minimum – maximum)		
	Cycling Green	Cycling Yellow	Cycling Orange
Contrôle CT+/NG-	28,99-37,94	$\leq 33,44$	-
Contrôle NG+/CT-	-	$\leq 33,44$	27,22-35,08
NTC	-	$\leq 33,44$	-
Échantillon de patient	Valeur quelconque	\leq valeur C_T du NTC dans le cycle actuel + 5 C_T	Valeur quelconque

Si l'un des contrôles ou l'un des signaux IC correspondants n'est pas conforme, le cycle doit être considéré comme non valide.

Limites

Une étude a été menée pour évaluer les performances du kit *artus* CT/NG QS-RGQ avec des échantillons contenant des concentrations élevées de l'espèce CT ou de l'espèce NG, chacun en présence de l'autre agent pathogène en petits nombres de copies. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Performance du kit *artus* CT/NG QS-RGQ avec différentes concentrations d'ADN cible

Agent pathogène A	Agent pathogène B	Taux de détection de l'agent pathogène B (%)
$1,00 \times 10^6$ ufc/ml pour l'espèce <i>N. gonorrhoeae</i>	14,6 EB/ml pour l'espèce <i>C. trachomatis</i>	100
$1,00 \times 10^5$ cp/ml pour l'espèce <i>C. trachomatis</i>	2,2 ufc/ml pour l'espèce <i>N. gonorrhoeae</i>	100

Remarque : Des concentrations plus faibles de « Pathogen B» (Agent pathogène B) peuvent entraîner des taux de détection plus faibles.

Page laissée volontairement vierge.

Page laissée volontairement vierge.

Page laissée volontairement vierge.

Pour obtenir des informations actualisées et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. 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 déposées : QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); BD™ (Becton, Dickinson and Company); eNaT™ (Copan Italia Spa).

Accord de licence limitée pour *artus* CT/NG QS-RGQ

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur du produit consent aux conditions suivantes :

1. Le produit ne doit être utilisé que conformément aux protocoles fournis et à ce manuel et uniquement avec les composants contenus dans ce 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, dans ce manuel et dans d'autres protocoles disponibles sur le site www.qiagen.com. Parmi ces protocoles supplémentaires, certains ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour des utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne saurait être tenu responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce kit et/ou son ou ses utilisations ne 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 les autres licences, expresses 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 les interdictions de cet Accord de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrir 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 consulter les mises à jour de la licence, voir le site www.qiagen.com.

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

HB-1517-S01-003 07-2017

© 2017 QIAGEN, tous droits réservés.

