

Avril 2019

Fiche d'application du QIAAsymphony[®] RGQ

artus[®] VZV QS-RGQ Kit
(type d'échantillon : plasma)

R2

IVD

CE

REF

4502363

artus VZV QS-RGQ Kit, version 1



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

Informations générales

Kit	<i>artus</i> VZV QS-RGQ Kit, version 1 (réf. 4502363)
Type d'échantillon validé	Plasma EDTA humain
Purification initiale	QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (réf. 937055)
Volume d'échantillon (dont volume excédentaire)	1200 µl
Jeu de paramètres des tests	<i>artus_VZV_plasma1000_V5</i>
Jeu de contrôles des tests par défaut	Cellfree1000_V7_DSP_artus_VZV
Volume d'élution	60 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou supérieure
Volume du mélange principal	30 µl
Volume de matrice	20 µl
Nombre de réactions	6–24
Durée d'exécution sur le module AS	Pour 6 réactions : environ 9 minutes Pour 72 réactions : environ 35 minutes

Matériel nécessaire, mais non fourni

Kit de purification

- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (réf. 937055)

Adaptateurs pour QIASymphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, réf. 9020730)
- Châssis de transfert
- Tube Insert 3B (Insert, 2,0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, réf. 9242083)

Consommables pour QIASymphony SP

- Sample Prep Cartridges, 8-well (réf. 997002)
- 8-Rod Covers (réf. 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (réf. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (réf. 990332)
- Elution Microtubes CL (réf. 19588)
- Tip disposal bags (réf. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H ou Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt®, réf. 72.693 et 72.694, www.sarstedt.com) à utiliser avec les échantillons et contrôles internes

Adaptateurs et supports pour réactif pour QIASymphony AS

- Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, réf. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, réf. 9018092)

Consommables pour QIASymphony AS

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (réf. 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (réf. 997102) ou Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, réf. 72.694.005)
- Éventuellement : Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (réf. 997104) ou Tubes with flat base from PP (Sarstedt, réf. 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (réf. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (réf. 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (réf. 997120)
- Tip disposal bags (réf. 9013395)

Manipulation et conservation des échantillons

Prélèvement des échantillons	Échantillon sanguin 5–10 ml de sang EDTA Mélanger 8x par retournement — pas d'agitation ! Ne pas utiliser d'échantillons humains héparinés.
Conservation des échantillons	Séparation : Centrifugation de 20 minutes, 800–1600 x g dans les 24 heures suivant le prélèvement Transférer le plasma isolé dans un tube en polypropylène stérile Une congélation répétée ou une période de conservation des échantillons d'une durée excessive peut nuire à la sensibilité du test.
Transport des échantillons	Transport en récipient incassable Expédition dans les 24 heures Envoi postal conforme à la législation en vigueur en matière de transport d'agents pathogènes* Les échantillons sanguins doivent être expédiés sous forme réfrigérée (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 provenant de patients traités par héparine.
Préparation des échantillons	Éviter la formation de mousse dans ou sur les échantillons Amener tous les échantillons à température ambiante (15–25 °C) avant de lancer le cycle.

* Association du transport aérien international (International Air Transport Association, IATA).
Dangerous Goods Regulations (Règlement sur le transport des matières dangereuses).

Procédure

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

L'utilisation de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit avec *artus* VZV QS-RGQ Kit requiert l'introduction du contrôle interne (VZV IC) dans la procédure de purification pour surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et des tests en aval.

Les contrôles internes doivent être ajoutés au mélange ARN vecteur (CARRIER)–Buffer 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 leur utilisation.

Sinon, l'outil « IC Calculator » (Calculateur d'IC) dans QIASymphony Management Console peut être utilisé.

Composant	Volume (µl) (tubes Sarstedt)*	Volume (µl) (tubes Corning)†
Solution mère d'ARN vecteur (CARRIER)	5	5
Contrôle interne‡	9	9
Buffer AVE	106	106
Volume final par échantillon (hors volume mort)	120	120
Volume total pour n échantillons	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Micro tubes 2.0 ml Type H et Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, réf. 72.693 et 72.694).

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Corning® Inc., réf. 352051 ; Becton Dickinson était le fournisseur précédent de ces tubes et Corning Inc. en est désormais le nouveau fournisseur).

‡ La quantité de contrôle interne est calculée à partir des volumes d'élution initiaux (90 µl). Le volume mort supplémentaire dépend du type de tube utilisé pour les échantillons.

§ 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 (cela correspond à 13 échantillons au maximum). Ces volumes sont spécifiques aux Micro tubes 2.0 ml Type H et aux Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, réf. 72.693 et 72.694).

¶ 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 (cela correspond à 111 échantillons au maximum). Ces volumes sont spécifiques aux Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom, Corning Inc., réf. 352051 ; Becton Dickinson était le fournisseur précédent de ces tubes et Corning Inc. en est désormais le nouveau fournisseur.

Configuration du QIAAsymphony SP

Tiroir « Waste » (Déchets)

Support de boîtes 1 à 4	Vider les boîtes
Support pour sac-poubelle	Sac-poubelle
Support pour flacon à déchets liquides	Vider et installer le flacon à déchets liquides

Tiroir « Eluate » (Éluat)

Portoir d'éluat	Elution Microtubes CL sur Elution Microtube Rack QS et châssis de transfert 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 d'éluat minimal accessible 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)

RC, positions 1 et 2	Charger 1 cartouche de réactif (Reagent Cartridge, RC) pour un maximum de 48 échantillons ou 2 nouvelles cartouches de réactif (RC) pour un maximum de 96 échantillons
Support de portoir de cônes, positions 1 à 18	Charger suffisamment de portoirs de cônes à filtre jetables de 200 µl et 1500 µl (voir « Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1 à 4 », page 7)
Support de boîtes, positions 1 à 4	Charger les boîtes contenant les cartouches de préparation d'échantillons et les 8-Rod Covers (voir « Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1 à 4 », page 7)

Tiroir « Sample » (Échantillon)

Type d'échantillon	Plasma EDTA humain
Volume d'échantillon (dont volume excédentaire)	1200 µl
Tubes d'échantillon	Micro tubes 2.0 ml Type H ou Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, réf. 72.693 et 72.694)
Insert	Tube Insert 3B (réf. 9242083)

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

Composant	Un lot, 24 échantillons*	Deux lots, 48 échantillons*	Trois lots, 72 échantillons*	Quatre lots, 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	28	52	76	100
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	113	206	309	402
Sample Prep Cartridges §	21	42	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* L'utilisation de plusieurs tubes de contrôle interne par lot et la réalisation de plusieurs inventaires requièrent davantage de cônes à filtre jetables.

† Il y a 32 cônes à filtre par portoir de cônes.

‡ Le nombre requis de cônes à filtre correspond à 1 inventaire par cartouche de réactifs.

§ Il y a 28 cartouches de préparation des échantillons/boîte.

¶ Il y a douze manchons pour 8-Rod Covers/boîte.

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.

Consommable	Nom sur l'écran tactile	À utiliser avec un adaptateur/ support pour réactif
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG Strip Tubes 72 QS
Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (500) ^{††}	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [§]	Reagent holder 1 QS
Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (500) ^{††}	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§]	Reagent holder 1 QS

* Indique le matériel de laboratoire pouvant être réfrigéré en utilisant un support réfrigérant 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.

^{††} Les tubes Sarstedt décrits dans la section « Matériel nécessaire, mais non fourni », page 3, peuvent également 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 [¶]
Supports pour réactif	Reagent holder 1 QS	1
Portoirs à échantillons	RG Strip Tubes 72 QS	1

[¶] Calculé pour un cycle d'analyse comprenant 72 réactions.

Cônes à filtre

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 » (Tests).

Consommable	Nom sur l'écran tactile	Nombre minimal pour 24 réactions	Nombre minimal pour 72 réactions
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	6
Filter-Tips, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Filter-Tips, 50 µl (1024)	50 µl	25	73

Consommable	Nom sur l'écran tactile	Nombre minimal pour 24 réactions	Nombre minimal pour 72 réactions
Tip Disposal Bags	-	1	1

PCR sur Rotor-Gene Q*

Veillez vous référer à la fiche de protocole spécifique au logiciel *Paramètres pour l'exécution des artus QS-RGQ Kits* (Settings to run artus QS-RGQ Kits) à l'adresse www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx pour les détails du protocole.

Réglages spécifiques pour *artus* VZV QS-RGQ Kit

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

Reaction Volume (Volume réactionnel) (µl)	50
Hold (Plateau)	Plateau de température : 95 degrés Durée du plateau : 10 minutes
Cycling (Cycle)	45 cycles 95 degrés pendant 15 secondes 65 degrés pendant 30 secondes (effectuer l'acquisition sur Green, Orange et activer la fonction touchdown pour 10 cycles) 72 degrés pendant 20 secondes
Auto-Gain Optimisation Setup (Configuration de l'optimisation automatique du gain)	65 degrés (échantillons : Green ; IC : Orange)

Interprétation des résultats

Cette section décrit l'interprétation des résultats obtenus sur le Rotor-Gene Q. Examiner également les informations sur l'état des échantillons dans les fichiers de résultats du QIASymphony SP/AS pour l'analyse de l'ensemble du flux de travail, des échantillons aux résultats. Seuls des échantillons présentant un état valide doivent être utilisés.

Le *artus* VZV QS-RGQ Kit peut être utilisé sur le Rotor-Gene Q en effectuant une analyse manuelle avec le logiciel Rotor-Gene Q 2.1 ou supérieur. Les sections suivantes décrivent l'interprétation des résultats à l'aide du logiciel Rotor-Gene Q 2.1 ou supérieur.

* Le cas échéant, utiliser un appareil Rotor-Gene Q 5plex HRM avec une date de production de janvier 2010 ou ultérieure. La date de production peut être obtenue à partir du numéro de série à l'arrière de l'instrument. Le numéro de série présente le format « mmaannn », où « mm » désigne le mois de production en chiffres, « aa » les deux derniers chiffres de l'année de production et « nnn » l'identifiant d'appareil unique.

Détection du signal et conclusions

Signal dans le canal Cycling Green	Signal dans le canal Cycling Orange	Résultat quantitatif (copies/ml)	Interprétation
Oui	Oui	< 12,7	Résultat valide : ADN de VZV détecté, < 127 copies/ml. Quantification impossible, car le résultat quantitatif est inférieur à la limite de détection. La reproductibilité du résultat positif n'est pas garantie.
Oui	Oui	≥ 12,7 et < 127	Résultat valide : ADN de VZV détecté, < 127 copies/ml. Quantification impossible, car le résultat quantitatif est inférieur à la plage linéaire du test.
Oui	Oui/Non*	≥ 127 et ≤ 6,92 x 10 ⁶	Résultat valide : ADN de VZV détecté à la concentration calculée. Le résultat quantitatif est dans la plage linéaire du test.
Oui	Oui/Non*	> 6,92 x 10 ⁶	Résultat valide : ADN de VZV détecté, > 6,92 x 10 ⁶ copies/ml. Quantification impossible, car le résultat quantitatif est supérieur à la plage linéaire du test.†
Non	Oui	–	Résultat valide : Aucun ADN de VZV n'est détectable. ‡
Non	Non	–	Résultat non valide : Aucun résultat ne peut être établi. §

* Dans ce cas, la détection d'un signal dans le canal Cycling Orange est inutile, car de fortes concentrations initiales d'ADN de VZV (signal positif du canal Cycling Green) peuvent entraîner la réduction ou l'absence du signal de fluorescence du contrôle interne dans le canal Cycling Orange (compétition).

† Si une quantification est requise, diluer l'échantillon avec du plasma exempt de VZV et répéter l'analyse. Multiplier le résultat quantitatif de l'échantillon réanalysé par le facteur de dilution.

‡ Si la valeur C_T pour le contrôle interne d'un échantillon négatif dépasse de plus de 3 cycles la valeur C_T pour le contrôle interne du contrôle sans matrice dans le cycle (C_{T IC échantillon} - C_{T IC NTC} > 3), l'échantillon doit être considéré comme non valide. Aucun résultat ne peut être établi.

§ Des informations sur les sources d'erreur et leur solution sont disponibles dans la section « Résolution des problèmes » du manuel du artus VZV QS-RGQ Kit.

Configuration du seuil pour l'analyse PCR

Il convient de définir empiriquement les paramètres du seuil optimal pour une combinaison appareil Rotor-Gene Q et *artus* QS-RGQ Kit en testant chaque combinaison différente, étant donné qu'il s'agit là d'une valeur relative dépendant du flux de travail diagnostique global. On peut fixer le seuil 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 contrôles 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 (VZV QS 1–4) du *artus* VZV QS-RGQ Kit sont traités comme des échantillons précédemment purifiés et le même volume est utilisé (20 µl). Pour générer une courbe d'étalonnage avec les appareils Rotor-Gene Q, il faut utiliser et définir les 4 étalons de quantification dans la boîte de dialogue Edit Samples (Modifier les échantillons) de l'appareil Rotor-Gene Q en tant qu'étalons avec les concentrations spécifiées (voir le manuel d'utilisation de l'appareil).

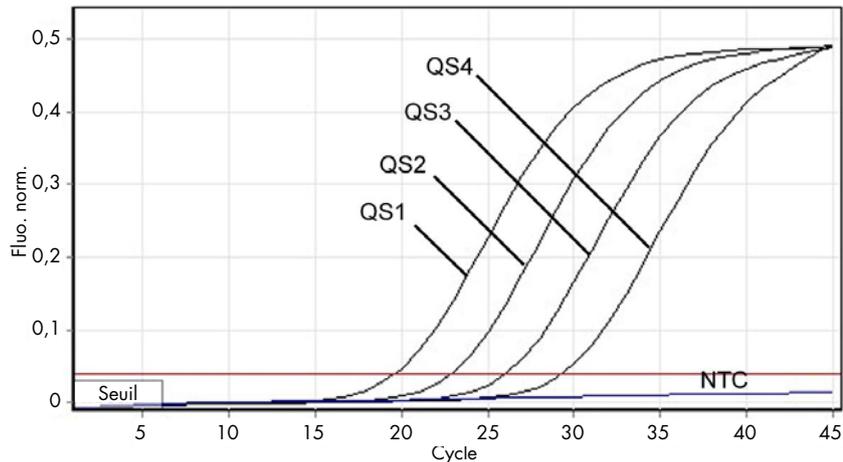
Remarque : Les étalons de quantification sont exprimés en copies/µl dans l'éluat. L'équation suivante doit être appliquée pour convertir les valeurs déterminées avec la courbe d'étalonnage en copies/ml d'échantillon.

$$\text{Résultat dans l'échantillon (copies/ml)} = \frac{\text{Résultat dans l'éluat (copies/}\mu\text{l)} \times \text{volume initial d'éluat (90 }\mu\text{l)}^*}{\text{Volume d'échantillon (ml)}}$$

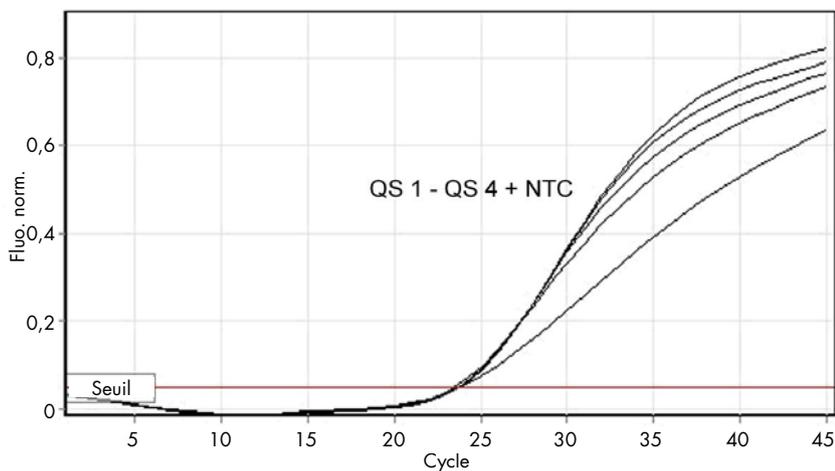
Par principe, le volume d'échantillon initial doit être saisi dans l'équation ci-dessus. Il faut le prendre en compte quand le volume d'échantillon a été modifié avant extraction de l'acide nucléique (p. ex. en réduisant le volume par centrifugation ou en l'augmentant par ajout au volume nécessaire à l'isolation).

* Le calcul repose sur les volumes d'éluat initiaux (90 µl).

Exemples de réactions de PCR positives et négatives



Détection des étalons de quantification (VZV QS 1-4) dans le canal de fluorescence Cycling Green. NTC : No template control (contrôle sans matrice) (contrôle négatif).



Détection du contrôle interne (IC) dans le canal de fluorescence Cycling Orange avec amplification simultanée des étalons de quantification (VZV QS 1-4). NTC : No template control (contrôle sans matrice) (contrôle négatif).

Historique des révisions du document

R2, Avril 2019	Suppression de la note de bas de page sur la configuration de 216 analyses. Changement pour les nouvelles versions des protocoles QIASymphony. Mise à jour du matériel requis pour configurer au maximum 72 réactions. Ajout d'informations sur l'utilisation de l'outil QMC « IC Calculator » (Calculateur d'IC). Mise à jour du nom du matériel de laboratoire Corning (auparavant Becton Dickinson). Ajout de paramètres spécifiques à l'analyse pour Rotor-Gene Q (utilisation de la fonction touchdown, acquisitions). Ajout d'informations pour l'interprétation des résultats afin d'inclure le cas « positif aux pathogènes et IC négatif ». Suppression des instructions relatives à l'utilisation de Rotor-Gene AssayManager®. Changement de formulation de « RT-PCR » à « PCR » à titre de clarification. Clarification de la différence entre la concentration dans l'éluat et la concentration dans l'échantillon pour le calcul quantitatif
----------------	---

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

Marques déposées : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (groupe QIAGEN) ; Corning® (Corning Inc.) ; Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Les noms déposés, les marques commerciales, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.
04/2019 HB-0401-S02-002 © 2012-2019 QIAGEN, tous droits réservés.

