

Octobre 2017

# Manuel du kit *artus*<sup>®</sup>

## T. vaginalis

### QS-RGQ



Version 1

Pour une utilisation avec les appareils  
QIASymphony<sup>®</sup> SP/AS et Rotor-Gene<sup>®</sup> Q

IVD

CE

REF

4571366



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

R1 MAT

1102416FR

# Contenu

Utilisation prévue .....	5
Résumé et description.....	5
Informations sur l'agent pathogène .....	5
Principe de la procédure .....	8
Matériel fourni.....	9
Contenu du kit.....	9
Matériel nécessaire mais non fourni .....	10
Réactifs, matériel et consommables destinés au prélèvement et à la préparation des échantillons.....	10
Adaptateurs pour QIASymphony SP.....	10
Réactifs et consommables pour QIASymphony SP .....	11
Adaptateurs et supports pour réactif pour QIASymphony AS.....	12
Réactifs et consommables pour QIASymphony AS .....	12
Équipement.....	12
Avertissements et précautions .....	13
Avertissements .....	13
Précautions d'emploi.....	15
Stockage et manipulation des réactifs.....	16
Composants du kit .....	16
Procédure .....	17
Prélèvement, stockage et transport d'échantillons.....	17
Échantillons vaginaux et endocervicaux .....	17

Urine (échantillons masculins ou féminins) .....	18
Conservation des échantillons.....	18
Transport des échantillons .....	18
Préparation des échantillons .....	19
Détection de l'ADN spécifique du <i>T. vaginalis</i> .....	20
Contrôles.....	21
Contrôle positif .....	21
Contrôle négatif.....	21
Contrôles de traitement des échantillons.....	21
Préparation de l'ARN entraîneur (CARRIER) et du contrôle interne ( <i>T. vaginalis</i> IC).....	22
Calcul du mélange avec la fonction « IC Calculator » .....	24
Jeux de contrôles et de paramètres d'analyse .....	24
Protocole : Isolement de l'ADN et configuration de test sur le QIASymphony SP/AS .....	25
Remarques importantes avant de commencer.....	25
À effectuer avant de commencer .....	26
Procédure.....	27
Protocole : PCR sur l'appareil Rotor-Gene Q.....	43
Remarques importantes avant de commencer.....	43
À effectuer avant de commencer .....	43
Procédure.....	44
Interprétation des résultats.....	47
Limitations.....	54

---

Contrôle de la qualité.....	54
Caractéristiques de performance .....	55
Limite de détection.....	55
Réactivité analytique (inclusivité).....	56
Réactivité croisée et interférences microbiennes.....	59
Précision et reproductibilité totales.....	62
Contamination par transfert .....	65
Substances interférentes .....	65
Évaluation de la performance diagnostique .....	69
Analyse des discordances .....	74
Références .....	77
Symboles.....	79
Guide de résolution des principaux problèmes rencontrés .....	82
Pour commander .....	89

---

# Utilisation prévue

Le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ Kit est un test in-vitro par amplification en chaîne par polymérase (polymerase chain reaction, PCR) en temps réel destiné à la détection qualitative directe de l'ADN de *Trichomonas vaginalis* purifié provenant d'écouvillons vaginaux et endocervicaux prélevés par des médecins, et d'échantillons d'urine (masculins et féminins) provenant de sujets symptomatiques et asymptomatiques ; ce test constitue une aide au diagnostic de la trichomonase. Ce test diagnostique est conçu pour une utilisation avec les appareils QIASymphony SP/AS et RotorGene Q pour l'amplification et la détection des cibles.

## Résumé et description

Le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ constitue un système prêt à l'emploi pour la détection de l'ADN de l'espèce *T. vaginalis* par le biais d'une PCR sur les appareils Rotor-Gene Q avec préparation d'échantillons et configuration de test au moyen des appareils QIASymphony SP et AS.

## Informations sur l'agent pathogène

La trichomonase est une infection sexuellement transmissible (IST) causée par le protozoaire flagellé *T. vaginalis*. Il s'agit d'une IST courante (1,2) et l'Organisation Mondiale de la Santé estime l'incidence mondiale de l'infection par trichomonase à plus de 170 millions de cas par an (3).

La forte prévalence mondiale de l'infection par *T. vaginalis* et la co-infection par d'autres IST fait de la trichomonase un problème de santé publique incontestable. Les recherches ont montré que l'infection par *T. vaginalis* augmente le risque de transmission du virus d'immunodéficience humaine (VIH) chez les hommes comme chez les femmes (1, 4). La

---

trichomonase est également associée à des issues défavorables lors de grossesses, à une infertilité, à des infections post-opératoires et à une néoplasie cervicale (5).

L'infection par *T. vaginalis* est l'une des 3 premières causes de vaginite (6). Les femmes porteuses de trichomonase peuvent demeurer asymptomatiques ou souffrir de symptômes divers, notamment des écoulements vaginaux spumeux de couleur jaune-verte et une irritation vulvaire. Les hommes porteurs de trichomonase peuvent subir une urétrite non gonococcique mais demeurent fréquemment asymptomatiques (6). La trichomonase est considérée comme étant largement sous-diagnostiquée en raison de divers facteurs, notamment un manque de tests de routine (2), la faible sensibilité de la technique généralement utilisée de microscopie à montage humide (6, 7, 8) et la symptomatologie non spécifique. Les autres causes communes d'écoulements vaginaux sont la prolifération de bactéries anaérobies dans la flore normale et la candidose causée par une infection par *Candida albicans* (6).

Chez les femmes, *T. vaginalis* est isolé dans le vagin, le col de l'utérus, l'urètre, la vessie et les glandes de Skene et de Bartholin. Chez les hommes, l'organisme est localisé dans l'urètre antérieur, les organes génitaux externes, la prostate, l'épididyme et le sperme.

L'unique hôte connu de *T. vaginalis* est l'être humain, et la transmission s'effectue principalement par relations sexuelles. L'organisme est généralement isolé dans les sécrétions vaginales chez la femme et les sécrétions urétrales chez l'homme. Il n'a pas été isolé dans les zones orales et la prévalence rectale est basse chez les hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes (5).

Les symptômes de la trichomonase se produisent généralement suite à une période d'incubation de 4-28 jours (9, 10). Alors que l'infection peut persister pendant plusieurs mois ou années chez les femmes, elle est en général spontanément résolutive chez les hommes et dure habituellement moins de 10 jours (11, 12, 13). De ce fait, il est rare d'observer un résultat d'analyse positif à partir d'un échantillon prélevé sur un homme.

---

Les facteurs de risque d'infection par *T. vaginalis* incluent :

- I Partenaires nouveaux ou multiples
- I Antécédents d'IST
- I IST en cours
- I Relation sexuelle avec un partenaire infecté
- I Échange de relations sexuelles contre de l'argent ou de la drogue
- I Usage de drogues injectables
- I Non recours à un contraceptif de type barrière

L'analyse de *T. vaginalis* est recommandée chez toutes les femmes se plaignant d'écoulements vaginaux, et le dépistage de *T. vaginalis* est conseillé chez les femmes à haut risque d'IST (9, 10). Les partenaires sexuels des femmes infectées doivent également subir un traitement. Les femmes et leurs partenaires doivent s'abstenir de relations sexuelles jusqu'à la fin du traitement pharmacologique de *T. vaginalis* et l'absence de symptômes. Les femmes infectées étant sexuellement actives présentent un taux élevé de réinfection ; un nouveau dépistage doit donc être envisagé 3 mois après le traitement (9, 14, 15). À l'heure actuelle, aucune donnée relative à un dépistage répété chez les hommes n'est disponible.

Le métronidazole administré par voie orale demeure le traitement de choix contre la trichomonase. Dans les cas où l'agent de première intention est inefficace, d'autres nitroimidazoles ou des doses supérieures de métronidazole peuvent être prescrits. Le métronidazole en application locale et d'autres antimicrobiens ne se sont pas avérés efficaces et ne doivent pas être prescrits pour le traitement de la trichomonase. Dans la plupart des cas, le traitement de l'infection dure entre 7 et 10 jours. Tous les partenaires sexuels des individus présentant une infection par *T. vaginalis* doivent également être traités.

---

## Principe de la procédure






Le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ contient des réactifs et des enzymes destinés à l'amplification spécifique et à la détection directe d'une région à répétitions multiples dans l'ADN génomique de *T. vaginalis*. La cible *T. vaginalis* est détectée à l'aide du canal de fluorescence vert Cycling Green sur l'instrument Rotor-Gene Q.

En outre, le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ contient un contrôle interne (IC) d'amplification exogène pour identifier une éventuelle inhibition de la PCR et pour surveiller l'intégrité des réactifs. L'IC est détecté à l'aide du canal de fluorescence orange Cycling Orange sur l'instrument Rotor-Gene Q. Ceci distingue l'IC de la cible *T. vaginalis* détectée dans le canal de fluorescence vert Cycling Green.



# Matériel fourni

## Contenu du kit

<b>artus T. vaginalis QS-RGQ Kit</b>			<b>(72)</b>
<b>Référence du catalogue</b>			<b>4571366</b>
<b>Nombre de réactions</b>			<b>72</b>
Bleu	T. vaginalis Master		3 x 800 µl
Jaune	T. vaginalis Magnesium Solution (Solution de magnésium T. vaginalis)		3 x 200 µl
Vert	T. vaginalis Internal Control (Contrôle interne T. vaginalis)		3 x 500 µl
Rouge	T. vaginalis Positive Control (Contrôle positif T. vaginalis)		3 x 1500 µl
Blanc	T. vaginalis Negative Control (Contrôle négatif T. vaginalis)		3 x 100 µl
Handbook (manuel)			1

**Remarque :** Le contenu du kit *artus T. vaginalis QS-RGQ* est suffisant pour effectuer 72 tests sous la forme d'un à trois lots de 24 réactions sur le QIA Symphony RGQ. Le rotor de l'appareil Rotor-Gene Q peut contenir jusqu'à 72 tubes réactionnels.

# Matériel nécessaire mais non fourni

Avant utilisation, s'assurer que tous les instruments sont vérifiés et calibrés selon les recommandations du fabricant. Ce kit nécessite l'utilisation de QIASymphony SP et QIASymphony AS, de la version logicielle 4.0 ou supérieure de QIASymphony, de l'instrument Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM\* avec application Rotor-Gene AssayManager® version 1.0.X où X est  $\geq 4$ .

## Réactifs, matériel et consommables destinés au prélèvement et à la préparation des échantillons

- I eNAT® Collection Kit (300) including eNAT tube, 2 ml, regular FLOQSwab™ in peel pouch, and a pipet (kit de prélèvement eNAT® (300) avec tube eNAT 2 ml, écouvillon normal FLOQSwab™ dans un sachet pelable, et pipette ) (référence 4669848)
- I Recommandé : Matériels biologiques pour les contrôles de traitement d'échantillons positif et négatif (voir « Contrôles de traitement des échantillons », page 21)

## Adaptateurs pour QIASymphony SP

- I Elution Microtube Rack QS (portoir de microtubes) [Cooling Adapter (adaptateur réfrigérant), EMT, v2, Qsym, référence 9020730] avec châssis de transfert pour QIASymphony SP/AS
- I 13 mm tube Insert 1A (élément d'insertion de tube 1A, 13 mm ; référence 9242058)
- I Optional 2.0 ml tube Insert 3B (élément d'insertion de tube 3B 2,0 ml, facultatif ; référence 9242083)

\* Les instruments Rotor-Gene Q 5plex HRM fabriqués en janvier 2010 ou à une date ultérieure peuvent être employés en tant qu'alternative aux instruments Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. La date de production est contenue dans le numéro de série à l'arrière de l'instrument. Le numéro de série présente le format « mmaann », où « mm » désigne le mois de production en chiffres, « aa » les deux derniers chiffres de l'année de production et « nn » l'identifiant d'instrument unique.

## Réactifs et consommables pour QIASymphony SP

- | QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi, référence 937055)
- | Buffer ATL, 4 x 50 ml (tampon ATL, référence 939016)
- | Sample Prep Cartridges, 8-well (cartouches de préparation des échantillons à 8 puits, référence 997002)
- | 8-Rod Covers (manchons pour 8 barreaux, référence 997004)
- | Filter-Tips (embouts à filtre), 1 500 µl (référence 997024)
- | Filter-Tips (embouts à filtre), 200 µl (référence 990332)
- | Elution Microtubes CL (microtubes d'élution CL [EMTR], référence 19588)
- | Tip disposal bags (sachets pour bouchons usagés) (référence 9013395)
- | Microtubes 2.0 ml Type H, without skirted base (microtubes sans collerette, référence 72.693) ou Microtubes 2.0 ml Type I, with skirted base (microtubes Sarstedt®, avec collerette, référence 72.694) pour une utilisation avec le contrôle interne
- | Tubes, 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (tubes en polystyrène à fond rond, (Corning®, référence 352051) pour utilisation avec les échantillons et témoins internes)

**Remarque :** BD™ était l'ancien fournisseur de ces tubes

- | Empty eNAT Tube (e.g., a tube not filled with eNAT transport medium ), 12 x 80 mm, for loading T. vaginalis Positive Control (Tube eNAT vide [par ex. un tube non rempli de milieu de transport eNAT], 12 x 80 mm, pour le chargement du T. vaginalis Positive Control, référence 4670002)
- | Screw-Cap for eNAT Tube, 12 mm, for reclosure of the eNAT collection tube (Bouchon à vis pour tube eNAT, 12 mm, pour le rebouchage du tube de prélèvement eNAT, référence 4670003)

## Adaptateurs et supports pour réactif pour QIASymphony AS

- I Reagent holder 1 QS (support pour réactif 1 QS [adaptateur réfrigérant, support pour réactifs 1, Qsym, référence 9018090])
- I RG Strip Tubes 72 QS (adaptateur réfrigérant, rangées de tubes RG 72, Qsym, référence 9018092)

## Réactifs et consommables pour QIASymphony AS

- I Strip Tubes and Caps (rangées de tubes et de bouchons), 0,1 ml (référence 981103)
- I Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (tubes coniques, 2 ml, référence 997102)
- I Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (tubes coniques, 5 ml, référence 997104)
- I Filter-Tips (embouts à filtre), 1 500 µl (référence 997024)
- I Filter-Tips (embouts à filtre), 200 µl (référence 990332)
- I Filter-Tips (embouts à filtre), 50 µl (référence 997120)
- I Tip disposal bags (sachets pour bouchons usagés) (référence 9013395)

## Équipement

- I Pipettes réglables dédiées\* et cônes de pipette stériles munis de filtres
- I Mélangeur Vortex
- I Centrifugeuse de paillasse avec rotor pour tubes réactionnels de 2 ml
- I Instrument Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM † et application Rotor-Gene AssayManager version 1.0.X où X est ≥4
- I QIASymphony SP (référence 9001297) ou QIASymphony AS (référence 9001301) et version logicielle 4.0 ou supérieure de QIASymphony

\* S'assurer que les pipettes ont été vérifiées et étalonnées conformément aux recommandations du fabricant.

† Les instruments Rotor-Gene Q 5plex HRM fabriqués en janvier 2010 ou à une date ultérieure peuvent être employés en tant qu'alternative aux instruments Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. La date de production est contenue dans le 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'instrument unique.

---

# Avertissements et précautions

Utilisation prévue pour le diagnostic *in vitro*.

Lire attentivement toutes les instructions avant d'utiliser le test.

Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Celles-ci sont disponibles en ligne dans un format PDF pratique et compact sur le site [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) répertoriant les FDS imprimables pour chaque kit QIAGEN et chaque composant.

Pour lire les informations de sécurité sur le kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi, consulter le mode d'emploi (manuel) du kit *QIASymphony DSP Virus/Pathogen (QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit Instructions for Use)* fourni avec le kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi. Pour lire les informations de sécurité relatives aux instruments, voir le *manuel d'utilisation du QIASymphony RGQ MDx* et le *manuel d'utilisation du module d'extension Epsilon (QIASymphony RGQ MDx User Manual and Epsilon Plug-in User Manual)*.

## Avertissements

- I En cas de manipulation de produits chimiques, porter systématiquement une blouse de laboratoire adéquate, des gants jetables et des lunettes de protection.
- I L'utilisation de ce produit est réservée au personnel ayant reçu les instructions et la formation adéquates concernant les procédures de PCR en temps réel et de diagnostic *in vitro*.
- I Les spécimens doivent toujours être traités comme infectieux et/ou comme représentant un risque biologique, conformément aux procédures de laboratoire sûres.
- I Porter des gants de protection jetables non poudrés, une blouse de laboratoire et une protection oculaire lors de la manipulation des spécimens.

- 
- I Éviter toute contamination du spécimen et des composants du kit par les agents microbiens et les nucléases (DNase/RNase).
  - I Utiliser systématiquement des cônes de pipettes jetables exempts de DNase/RNase munis de barrières à aérosol.
  - I Porter systématiquement des gants de protection jetables non poudrés lors de la manipulation des composants du kit.
  - I Utiliser des zones de travail distinctes et isolées pour les activités de préparation des spécimens, de préparation des tubes réactionnels et d'amplification/de détection. Au laboratoire, le flux de travaux doit progresser dans une seule direction. Porter systématiquement des gants jetables dans chaque zone et en changer avant d'entrer dans une autre zone.
  - I Dédier des consommables et un équipement aux différentes zones de travail et ne pas les déplacer d'une zone à une autre.
  - I Conserver les matières positives et/ou susceptibles de l'être séparées de tous les autres composants du kit.
  - I Il convient d'éviter les cycles répétés de congélation-décongélation des éluats, car cela peut amoindrir la sensibilité du test.
  - I Ne pas ouvrir les tubes réactionnels après l'amplification afin d'éviter toute contamination par les produits d'amplification.
  - I Des contrôles supplémentaires peuvent être testés en fonction des directives ou exigences de réglementations locales, étatiques et/ou fédérales ou d'organisations d'accréditation.
  - I Ne pas utiliser les composants du kit ayant dépassé la date d'expiration.
  - I Mettre au rebut les déchets d'échantillons et de dosages conformément aux règles de sécurité locales.

---

## Précautions d'emploi

- I Vérifier que les adaptateurs nécessaires sont préalablement réfrigérés entre 2 et 8 °C.
- I Travailler rapidement et laisser les réactifs pour PCR dans de la glace ou dans un bloc réfrigérant avant le chargement.
- I Décongeler complètement tous les composants à température ambiante (de 15 à 25 °C) avant de commencer un test.
- I Utiliser des pointes de pipette stériles avec filtres.
- I Pendant les étapes manuelles, laisser les tubes fermés si possible et éviter la contamination.
- I Une fois qu'ils sont décongelés, mélanger les composants en pipetant l'ensemble de manière répétée ou en les passant à l'agitateur à pulsations multiples et les passer brièvement à la centrifugeuse. Vérifier que les tubes de réactifs ne contiennent pas de mousse ou de bulles.
- I Toujours suivre le flux de travail dans l'ordre. Le temps de transfert entre les appareils QIASymphony AS et Rotor-Gene Q ne doit pas dépasser 30 minutes.
- I Tous les réactifs chargés dans le QIASymphony AS ne peuvent être utilisés que pour ce cycle. Ne pas utiliser les composants résiduels dans le cadre d'une deuxième PCR.
- I Ne pas mélanger ou associer des composants issus de kits portant des numéros de lots différents.
- I Respecter les précautions de sécurité universelles. Tous les échantillons de patients doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de manière appropriée.
- I Vérifier que l'entretien a été effectué et que les pièces de rechange (par exemple les protège-cônes) ont été remises en place.
- I Vérifier que les fichiers de processus d'application et les modules d'extension Rotor-Gene AssayManager requis ont été installés. Dans le cas contraire, consulter le manuel d'utilisation concerné ou contacter le service clientèle ou le support technique pour obtenir une assistance.

---

# Stockage et manipulation des réactifs

## Composants du kit

Les composants du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ doivent être stockés à une température de  $-15\text{ °C}$  à  $-30\text{ °C}$  et sont stables jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'étiquette. Ne pas décongeler puis recongeler les composants plus de 3 fois, car cela peut nuire aux performances du dosage. Tous les réactifs chargés dans le QIASymphony AS ne peuvent être utilisés que pour ce cycle. Ne pas réutiliser les composants résiduels dans le cadre d'une deuxième PCR.



# Procédure

## Prélèvement, stockage et transport d'échantillons

Des écouvillons vaginaux et endocervicaux ainsi que des échantillons d'urine peuvent être utilisés avec le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ.

Les échantillons doivent être prélevés au moyen d'un kit de eNAT Collection comprenant un tube eNAT 2 ml, un écouvillon normal FLOQSwab en sachet pelable, et une pipette.

## Échantillons vaginaux et endocervicaux

1. Tous les échantillons vaginaux/endocervicaux sont prélevés par un médecin à l'aide d'un écouvillon stérile compris dans le kit de eNAT Collection.
2. En employant une méthode aseptique, dévisser et retirer le bouchon du tube rempli de 2 ml de milieu eNAT. Après avoir collecté l'échantillon vaginal/endocervical, insérer l'écouvillon FLOQSwab dans le tube et plier la tige de l'écouvillon contre le tube, au niveau de la zone de cassure, afin de casser la tige. Jeter la partie de poignée cassée de l'écouvillon dans un récipient agréé, dédié aux déchets.

**Remarque :** Lors de la manipulation de l'applicateur de l'écouvillon pendant le prélèvement de l'échantillon, l'opérateur ne doit pas toucher la surface située en dessous de la ligne de repère de la zone de cassure, car cela pourrait entraîner une contamination de la tige de l'applicateur et, par suite, fausser les résultats du test. Ne pas forcer, appuyer ou plier de manière excessive l'écouvillon lors du prélèvement des échantillons, car cela pourrait entraîner la cassure accidentelle de la tige de l'écouvillon.

3. Replacer le bouchon sur le tube et fermer hermétiquement. En vissant le bouchon sur le tube, l'extrémité de la tige brisée de l'écouvillon pénètre dans un réceptacle moulé en forme d'entonnoir logé dans le bouchon. Cet entonnoir moulé piège l'extrémité de la tige brisée de l'applicateur et l'immobilise fermement dans le réceptacle par un système d'ancrage à friction.

4. Consigner les informations du patient sur l'étiquette du tube ou apposer l'étiquette d'identification du patient.

## Urine (échantillons masculins ou féminins)

1. Les échantillons d'urine sont prélevés par les patients (premiers 20–30 ml du jet d'urine) puis transmis au médecin.
2. En employant une méthode aseptique, dévisser et retirer le bouchon du tube rempli de 2 ml de milieu eNAT. En utilisant la pipette fournie avec le kit, transférer 4 ml de l'échantillon d'urine dans le tube eNAT, en deux étapes distinctes de 2 ml.

**Remarque :** Lors du transfert de l'échantillon d'urine, l'opérateur ne doit pas toucher la zone située en-dessous de la poire de la pipette de transfert, ceci pouvant entraîner une contamination de la pipette, invalidant ainsi les résultats d'analyse.

3. Replacer le bouchon sur le tube et fermer hermétiquement.
4. Consigner les informations du patient sur l'étiquette du tube ou apposer l'étiquette d'identification du patient.

## Conservation des échantillons

Les échantillons restent stables dans les tubes eNAT à 4–22 °C ( $\pm 2$  °C) pendant 4 semaines maximum, temps de transport inclus, pour le test *artus T. vaginalis* QS-RGQ.

## Transport des échantillons

Dans un délai d'1 semaine à compter du prélèvement des échantillons, expédier les prélèvements dans des conditions de transport à l'épreuve des chocs. Expédier l'écouvillon et les échantillons d'urine étiquetés conformément aux instructions légales de transport de matériaux pathogènes.\*

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

---

## Préparation des échantillons

1. Mélanger soigneusement chaque échantillon placé dans un tube eNAT au moyen d'un mélangeur vortex pendant 10–15 secondes à vitesse élevée.

**Remarque :** En l'absence de mélangeur vortex disponible, retourner les tubes eNAT 20 fois afin de mélanger l'échantillon.

2. Placer les tubes eNAT (urine ou écouvillon) dans un porte-tubes QIASymphony SP avec un élément d'insertion de tube 1A.
3. Retirer et jeter avec précaution chaque bouchon d'échantillon (urine) ou bouchon avec écouvillon (vaginal ou endocervical, en utilisant le bouchon comme poignée) d'échantillon chargé sur le porte-tubes, puis le charger dans le QIASymphony SP comme décrit dans « Protocole : Isolement de l'ADN et configuration de test sur le QIASymphony SP/AS », page 25.

**Remarque :** Lorsque le bouchon du tube eNAT est dévissé et retiré, la tige de l'applicateur de l'écouvillon est fermement fixée au bouchon. Cette caractéristique permet à l'opérateur de retirer commodément l'écouvillon en utilisant le bouchon du tube comme poignée pour tenir et manipuler l'écouvillon.

4. Une fois le protocole d'isolement d'ADN et de configuration d'analyse du QIASymphony SP/AS achevé, refermer le tube eNAT avec un bouchon neuf de 12 mm et conserver le tout à 4° C au cas où il serait nécessaire de répéter l'analyse (voir la section « Interprétation des résultats », page 47).

## Détection de l'ADN spécifique du *T. vaginalis*

**Tableau 1. Informations générales**

<b>Kit</b>	<b>Kit <i>artus T. vaginalis</i> QS-RGQ (référence 4751366)</b>
Échantillons	Urine humaine, écouvillon vaginal humain ou écouvillon endocervical humain prélevés dans un tube eNAT prérempli avec 2 ml de milieu eNAT
Purification initiale	Kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi, (référence 937055)
Volume d'échantillon (dont volume excédentaire)	2 000 µl pour les échantillons vaginaux et endocervicaux 6 000 µl pour les échantillons d'urine 1 500 µl pour les contrôles positifs
Jeu de paramètres d'analyse	artus_T.vag_swab/urine_V1
Jeu de témoins d'analyse par défaut	Complex_T.vaginalis_V1
Volume d'éluat	60 µl
Version du logiciel QIASymphony	Version 4.0 ou supérieure
Profil de configuration de QIASymphony SP/AS	Default Profile 1 (Profil par défaut 1)
Volume du mélange principal	25 µl
Volume de matrice	15 µl
Nombre de réactions	24–72* (tous contrôles inclus)
Durée du cycle dans le module QIASymphony SP/AS	Environ 105 minutes pour 24 réactions Environ 305 minutes pour 72 réactions
Durée du cycle dans l'appareil Rotor-Gene Q	Environ 100 minutes

\* Veiller à ce que la limite de 72 réactions et 1 adaptateur de portoir à essais ne soit pas dépassée. Éviter de prolonger le temps d'incubation (> 30 minutes) entre l'exécution du cycle d'analyse et le transfert au Rotor-Gene Q.

---

## Contrôles

### Contrôle positif

Le *T. vaginalis* Positive Control (fourni avec le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ) permet de surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'amplification PCR en aval. Ce témoin positif est chargé dans le QIASymphony SP avant la purification de l'ADN (voir page 32 pour plus d'informations sur le chargement du témoin positif).

### Contrôle négatif

Le *T. vaginalis* Negative Control (désigné par le terme « NTC » pour « no template control » (contrôle sans matrice) dans le logiciel QIASymphony) est chargé dans le QIASymphony AS avant l'amplification, à la place d'un échantillon extrait et surveille une éventuelle contamination de la PCR (voir page 32 pour plus d'informations sur le chargement du contrôle négatif).

### Contrôles de traitement des échantillons

Les souches de contrôles positif et négatif doivent être testées en routine dans chaque laboratoire conformément aux directives ou exigences des réglementations locales, nationales et/ou fédérales ou des organismes d'accréditation afin de surveiller les performances globales du processus. Le contrôle de traitement d'échantillon positif (Positive Specimen Process Control, PSPC) est conçu pour surveiller l'intégralité du traitement. Le contrôle de traitement d'échantillon négatif (Negative Specimen Process Control, NSPC) détecte une contamination des réactifs ou de l'environnement par de l'ADN de *T. vaginalis*. Il est recommandé d'utiliser un échantillon négatif d'urine ou vaginal inoculé avec *T. vaginalis* à environ  $1 \times 10^3$  de trichomonades/ml (par ex., American Type Culture Collection, ATCC® 30001) ou un isolat clinique bien caractérisé de *T. vaginalis* comme contrôle de traitement d'échantillon positif et d'utiliser un échantillon négatif d'urine ou vaginal inoculé avec *Pentatrichomonas hominis* à environ  $1 \times 10^5$  de trichomonades/ml (par ex., ATCC 30000) ou tout autre organisme autre que *T. vaginalis* comme contrôle de traitement d'échantillon négatif. À l'aide d'un kit de eNAT Collection, transférer chaque

---

échantillon de PSPC et de NSPC dans un tube eNAT étiqueté, avec un écouvillon FLOQSwab pour les échantillons vaginaux/endocervicaux, ou la pipette pour les échantillons d'urine, avant de les charger dans le porte-tubes du QIASymphony SP. Les contrôles de traitement des échantillons doivent être testés sur le QIASymphony de la même manière que les échantillons de test. Pour plus d'informations sur le chargement des échantillons du test, voir page 34.

## Préparation de l'ARN entraîneur (CARRIER) et du contrôle interne (T. vaginalis IC)

L'emploi du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi associé au kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ nécessite l'introduction du contrôle interne (T. vaginalis IC) dans la procédure de purification afin de surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'analyse en aval.

Le contrôle interne (T. vaginalis IC), fourni avec le kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ, doit être ajouté au mélange ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE). Le volume total du mélange témoin interne-ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE) est de 120 µl par échantillon.

Pour préparer le mélange ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE), ajouter 1 350 µl de tampon AVE (AVE), fourni avec le kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi, pour remettre en suspension l'ARN entraîneur (CARRIER) lyophilisé. Retourner le tube 20 fois pour mélanger.

Pour le calcul du contrôle interne (IC), il faut utiliser la fonction « IC Calculator » (calculateur IC) du QIASymphony Management Console (QMC).

Le tableau 2 présente la préparation du contrôle interne par échantillon 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.

**Tableau 2. Préparation de l'ARN entraîneur (CARRIER) et du contrôle interne (T. vaginalis IC)**

Composant	Réactions	
	Volume (µl) pour n ≤ 13 dans des tubes Sarstedt*	Volume (µl) pour n > 13 dans des tubes BD†
Solution mère d'ARN entraîneur (CARRIER)	$(n + 3) \times 3$	$(n + 5) \times 3$
Contrôle interne (Contrôle interne T. vaginalis)	$(n + 3) \times 9$	$(n + 5) \times 9$
Tampon AVE	$(n + 3) \times 108$	$(n + 5) \times 108$
Volume final par échantillon (hors volume mort)	120	120
Volume total pour n échantillons	$(n + 3) \times 120$	$(n + 5) \times 120$

\* Microtubes 2.0 ml Type H et Microtubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, références 72.693 et 72.694). Si l'IC est préparé sous forme de solution mère dans un tube plus gros, multiplier le volume total de chaque composant par le nombre de tubes d'IC utilisés. 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 un maximum de 13 échantillons). Si plus de 13 réactions sont prévues dans des microtubes de 2,0 ml, préparer les réactions dans un tube plus gros et charger le tout dans plusieurs tubes. Pour chaque tube, veiller à ajouter le volume excédentaire requis pour 3 réactions supplémentaires.

† Tubes de 14 ml, 17 x 100 mm en polystyrène à fond rond ;( Corning, référence 352051. BD était l'ancien fournisseur de ces tubes ; Corning, Inc. est le fournisseur actuel). 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 un maximum de 111 échantillons).

## Calcul du mélange avec la fonction « IC Calculator »

1. Ouvrir le QMC.
2. Sélectionner l'icône de l'IC Calculator.
3. Sélectionner « Complex\_T.vaginalis\_V1 » dans la liste déroulante de l'ACS.
4. Saisir le nombre d'échantillons requis.
5. Sélectionner le matériel de laboratoire utilisé pour l'IC (contrôle interne).
6. Sélectionner un volume d'éluat de 60 µl.
7. Sélectionner « Internal Control/Eluate » (contrôle interne/éluat) et « 0.1 µl » pour le mode de contrôle interne.
8. Appuyer sur « Calculate » (calculer) pour démarrer le calcul du mélange IC.

Le calculateur IC affiche les différents volumes de réactifs à mélanger pour préparer le mélange de contrôle interne et le type de tube à utiliser sur la partie droite de l'écran.

## 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 QIASymphony SP. Un jeu de contrôles d'analyse par défaut est préinstallé pour chaque protocole.

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

Pour le cycle intégré sur le QIASymphony SP/AS, le jeu de paramètres d'analyse artus\_T.vag swab/urine\_V1 est directement associé au premier jeu de contrôle d'analyse Complex\_T.vaginalis\_V1, spécifiant le processus de purification d'échantillon associé.



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

### Remarques importantes avant de commencer

- I S'assurer de bien connaître le fonctionnement des appareils QIASymphony SP/AS. Se référer au manuel d'utilisation fourni avec l'appareil et aux versions les plus récentes disponibles en ligne sur le site [www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx](http://www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx) pour le mode d'emploi.
- I Télécharger l'Application Package via la fonction « Protocol Files » (fichiers de protocoles) sous l'onglet « Resources » (ressources) de la page de catalogue web *artus T. vaginalis* QS-RGQ Kit ([www.qiagen.com/products/artustvaginallisqsrqgkitce](http://www.qiagen.com/products/artustvaginallisqsrqgkitce)).
- I 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 RC et les incubent 30 minutes à 37 °C en agitant de temps en temps pour dissoudre le précipité. S'assurer de remettre les cuves dans leurs positions correctes. Si la RC est déjà percée, s'assurer que les cuves sont scellées à l'aide des bandelettes de scellage réutilisables et incubent la RC complète pendant 30 minutes à 37 °C dans un bain-marie en agitant de temps en temps. \* Laisser les réactifs revenir à la température ambiante (15–25 °C).
- I Vérifier que le tampon ATL (ATL) ne contient pas de précipité. Si un précipité s'est formé, le dissoudre en chauffant le tampon à 70 °C au bain-marie sous agitation modérée. † † Aspirer les bulles formées à la surface et laisser le tampon revenir à la température ambiante (15–25 °C).
- I Éviter d'agiter vigoureusement la cartouche de réactifs (reagent cartridge, RC) et le flacon de tampon ATL (ATL). Autrement, de la mousse pourrait se former, source potentielle de problèmes de détection du niveau de liquide.

\* Veiller à ce que tous les appareils soient vérifiés et calibrés selon les recommandations du fabricant.

- I Travailler rapidement et laisser les réactifs pour PCR dans de la glace ou dans un bloc réfrigérant avant le chargement.
- I Les volumes de réactifs sont optimisés pour 3 lots de 24 réactions par kit et par cycle.
- I S'assurer que les éluats de la préparation des échantillons et tous les composants du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ ne restent pas dans l'appareil QIASymphony SP/AS plus longtemps que le temps normal nécessaire à la purification des échantillons et à la configuration de test pour 72 échantillons, comprenant jusqu'à 30 minutes de temps de transfert du QIASymphony AS à l'appareil Rotor-Gene Q.

**Remarque :** Ne pas utiliser de portoir de microtubes d'éluion CL ayant déjà été utilisé sur un autre appareil QIASymphony SP. Ne pas saisir d'ID de portoir manuellement.

#### À effectuer avant de commencer

- I Avant chaque utilisation, tous les réactifs d'essai du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ Kit doivent être complètement décongelés, mélangés par pipetage ou vortex rapide et centrifugés pendant au moins 3 secondes. Éviter la formation de bulles et de mousse avec les réactifs.
- I Préparer tous les mélanges requis. Préparer les mélanges contenant l'ARN entraîneur (CARRIER) et les contrôles internes juste avant de commencer. Pour plus d'informations, voir la rubrique « Préparation de l'ARN entraîneur (CARRIER) et du contrôle interne (T. vaginalis IC) », page 22.
- I Avant de démarrer un cycle intégré, veiller à ce que tous les appareils soient propres et que les pièces de rechange ont été installées (par exemple, les protège-cônes) comme décrit dans les consignes de maintenance décrites dans les manuels fournis suivants : *manuel d'utilisation du QIASymphony SP/AS - Description générale*, *manuel d'utilisation du QIASymphony SP/AS - Utilisation du QIASymphony SP*, *manuel d'utilisation du QIASymphony SP/AS - Utilisation du QIASymphony AS* et *manuel d'utilisation du QIASymphony Management Console*. Veiller à effectuer la maintenance régulièrement pour minimiser le risque de contamination croisée.

- 1 S'assurer que le profil de traitement « Default Profile 1 » du QIASymphony est actif. Le profil sélectionné est indiqué dans l'angle inférieur droit de l'écran. Le profil peut être modifié dans le menu « Configuration » (configuration) de l'onglet « Tools » (Outils) par un utilisateur connecté en tant que « Supervisor » (superviseur).

## Procédure

### Chargement du tiroir à déchets (« Waste »)

1. Fermer tous les tiroirs et les capots du module QIASymphony SP/AS.
2. Mettre en marche l'appareil. Attendre l'affichage de l'écran « Sample Preparation » (préparation des échantillons) et la fin de l'initialisation.

**Remarque** : L'interrupteur d'alimentation est situé dans le coin inférieur gauche de l'appareil.

3. Se connecter au QIASymphony.
4. Préparer le tiroir « Waste » (déchets) du QIASymphony SP.
5. Ouvrir le tiroir « Waste ».
6. Vider et installer la bouteille à déchets liquides. S'assurer de retirer le capot avant de placer la bouteille à déchets liquides dans le tiroir.
7. Insérer la goulotte d'évacuation des cônes.

**Remarque** : Des goulottes d'évacuation de cônes différentes doivent être employées pour une utilisation sur paillasse ou sur QIASymphony Cabinet SP/AS.

8. Introduire le poste de réserve de cônes.
9. Insérer les boîtes d'unités vides (voir le tableau 3 et la figure 1). S'assurer de la présence d'au moins une boîte d'unités vide dans l'emplacement 4 (le plus proche de vous).
10. Installer un sachet pour cônes usagés vide.

**Remarque :** Le sachet pour cônes usagés vide est installé sous le tiroir à déchets lors d'une utilisation sur paillasse ou dans la poubelle en cas d'utilisation du QIASymphony Cabinet SP/AS.

11. Fermer le tiroir « Waste » et effectuer un inventaire.

**Tableau 3. Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1-3**

	1 lot, 24 échantillons	2 lots, 48 échantillons	3 lots, 72 échantillons
Boîtes d'unités vides	2	3	4



**Figure 1. Position des boîtes d'unités.**

### **Chargement du tiroir à éluats « Eluate »**

1. Placer l'adaptateur pour portoir de microtubes d'éluat QS sur le châssis de transfert.
2. Ouvrir le tiroir « Eluate ».
3. Placer l'adaptateur et le châssis de transfert dans l'emplacement 1 du tiroir « Eluate ».

4. Sélectionner « Elution Slot 1 » (emplacement d'élution 1) sur l'écran tactile.
5. Retirer la partie inférieure du portoir de microtubes d'élution CL en tournant le portoir jusqu'à ce que la base se libère.
6. Lire le code-barres du portoir de microtubes d'élution CL à l'aide du lecteur de code-barres portatif.
7. Insérer le portoir de microtubes d'élution CL dans l'adaptateur en position « Elution Slot 1 ».
8. Retirer le couvercle du portoir de microtubes d'élution CL.
9. Fermer le tiroir « Eluate ».
10. Appuyer sur « OK ».
11. Patienter jusqu'à la fin de la lecture.

#### **Préparation de la cartouche de réactif (RC)**

1. Placer la cartouche de réactifs (reagent cartridge, RC) dans le support pour cartouche de réactifs.
2. Retirer le compartiment contenant les particules magnétiques de la cartouche de réactifs (RC).
3. Avant la première utilisation, mélanger énergiquement le compartiment des particules magnétiques au vortex pendant au moins 3 minutes afin de remettre les particules magnétiques en suspension.
4. Replacer le compartiment contenant les particules magnétiques dans la cartouche de réactifs (RC).
5. Retirer le couvercle du compartiment contenant les particules magnétiques,
6. Retirer les bouchons des tubes d'enzyme et placer les bouchons des tubes d'enzymes sur les porte-bouchons situés sur le support pour cartouche de réactifs.
7. S'assurer que les tubes d'enzymes ne contiennent pas de bulles d'air. Si des bulles d'air sont présentes, les aspirer hors de la surface.
8. Monter le portoir de tubes d'enzymes (enzyme rack, ER) sur la cartouche de réactifs (RC).

9. Monter le couvercle de perforation (piercing lid, PL) sur la cartouche de réactifs (RC) et fixer le tout délicatement.

### Chargement du tiroir « Reagents and Consumables »

1. Ouvrir le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).
2. Placer la ou les cartouches de réactifs (RC) préparées en position RC 1 et/ou RC 2. Une nouvelle cartouche de réactifs (RC) est suffisante pour 48 échantillons maximum.
3. Fermer le tiroir « Reagents and Consumables ».
4. Appuyer sur le bouton « R+C » de l'écran tactile.
5. Appuyer sur le bouton « Bottle ID » (identifiant du flacon).
6. Appuyer sur le champ de texte et lire le code-barres du flacon de tampon ATL (ATL) au moyen du lecteur de code-barres portatif.

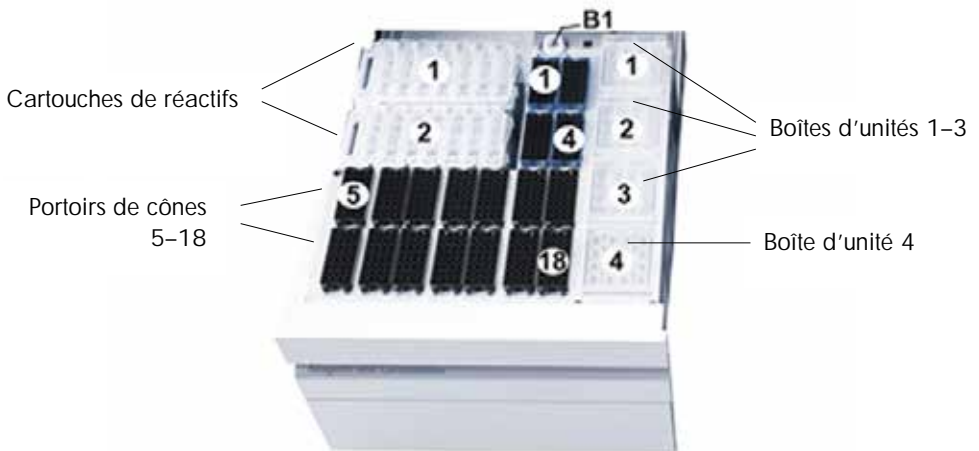


Figure 2. Position des réactifs et des consommables sur le QIAAsymphony SP.

7. Ouvrir le flacon de tampon ATL (ATL) et vérifier qu'il ne contient pas de précipité. Si le tampon ATL (ATL) contient un précipité, suivre les instructions de la page 25.

8. Placer le flacon de tampon ATL (ATL) dans la position B1.

**Remarque :** La position B1 se trouve à côté de l'emplacement 1 pour cartouche de réactif (RC1).

**Remarque :** Éviter d'agiter vigoureusement le flacon de tampon pour éviter la formation de mousse. Cela pourrait entraîner des problèmes de détection du niveau de liquide.

9. Charger suffisamment de portoirs de cônes à filtres jetables de 200 µl dans les positions 1–4 du support de portoir à cônes (voir le Tableau 4, page 32). Veiller à convenablement fixer les portoirs.

**Remarque :** Il y a 32 cônes munis de filtres sur chaque support de cônes.

10. Charger suffisamment de portoirs de cônes à filtres jetables de 1 500 µl dans les positions 5–18 du support de portoir à cônes (voir le Tableau 4, page 32). Veiller à convenablement fixer les portoirs.

**Remarque :** Il y a 32 cônes munis de filtres sur chaque support de cônes.

**Recommandation :** Charger plus de cônes à filtres de chaque dimension que le nombre requis, afin qu'il y ait un nombre suffisant de cônes à filtres pour le traitement automatique des erreurs.

11. Retirer le couvercle des cartouches de préparation d'échantillons et charger suffisamment de cartouches de préparation d'échantillons dans les positions 1–3 du support de boîte d'unités (voir le Tableau 4, page 32).

**Remarque :** Il y a 28 cartouches de préparation d'échantillon par boîte d'unités.

**IMPORTANT :** Les consommables en plastique peuvent être décalés lors du transit ou du stockage. Vérifier que tous les consommables en plastique sont correctement alignés dans la boîte d'unités avant de charger le tout dans le QIASymphony SP.

12. Retirer le couvercle des manchons pour 8 barreaux et charger suffisamment de manchons pour 8 barreaux dans la position 4 du support de boîte d'unités (voir le Tableau 4, page 32).

**Remarque :** Il y a douze manchons pour 8 barreaux par boîte d'unité.

**IMPORTANT** : Les consommables en plastique peuvent être décalés lors du transit ou du stockage. Vérifier que tous les consommables en plastique sont correctement alignés dans la boîte d'unités avant de charger le tout dans le QIASymphony SP.

13.Appuyer sur « OK » à l'écran des consommables.

14.Fermer le tiroir « Reagents and Consumables » et effectuer un inventaire.

**Tableau 4. Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons**

	1 lot, 24 échantillons*	2 lots, 48 échantillons*	3 lots, 72 échantillons*
Cônes munis de filtres jetables, 200 µl*†	34 (2 portoirs)	60 (2 portoirs)	86 (3 portoirs)
Cônes munis de filtres jetables, 1500 µl*†	123 (4 portoirs)	205 (7 portoirs)	295 (10 portoirs)
Cartouches de préparation des échantillons	18 (1 boîte d'unité)	36 (2 boîtes d'unité)	54 (2 boîtes d'unité)
Manchons pour 8 barreaux	3 (1 boîte d'unité)	6 (1 boîte d'unité)	9 (1 boîte d'unité)

\* La réalisation de plus d'un inventaire nécessite des pointes de filtres jetables supplémentaires.

† Le nombre requis de cônes munis de filtres correspond à un inventaire par cartouche de réactif.

### Chargement du porte-tubes avec les contrôles

1. À l'aide d'un tube eNAT vide, 12 x 80 mm ne contenant aucun milieu de transport, pipeter 1,5 ml du contrôle positif T. vaginalis fourni avec le kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ.

**IMPORTANT** : Vérifier que le tube eNAT utilisé à cette étape est bien vide et qu'il ne contient aucun milieu de transport eNAT.



2. Placer le tube avec le T. vaginalis Positive Control dans la position 1 du premier porte-échantillons.

**IMPORTANT :** Veiller à charger le contrôle positif dans la bonne position. L'application Rotor-Gene AssayManager n'importera pas le fichier de résultats si le contrôle positif est placé dans une autre position. Ne pas charger le contrôle positif dans des supports supplémentaires pour le même lot AS.

**Remarque :** La position des échantillons et des contrôles sur le portoir à essais peut être affichée avant de démarrer le cycle. Une fois le lot AS créé (page 36), appuyer sur le bouton du tiroir « Assays » (essais) de l'écran tactile et sélectionner l'emplacement « Assay » (essai) respectif. Le type d'échantillon de chaque position sera affiché (« Type » (type)), en appuyant sur le bouton à bascule « Sample » (échantillon).

3. Charger le porte-tubes avec les contrôles de traitement des échantillons, s'ils sont utilisés pendant l'analyse (voir page 34 pour plus d'informations).
4. Ouvrir un kit de eNAT Collection pour chaque contrôle de traitement des échantillons. Prendre un contrôle de traitement d'échantillon positif (Positive Specimen Process Control, PSPC) T. vaginalis connu ou un contrôle de traitement d'échantillon négatif (Negative Specimen Process Control, NSPC) T. vaginalis connu et transférer le PSPC ou le NSPC dans un tube rempli de 2 ml de solution eNAT.
5. Charger les contrôles de traitement des échantillons pour chaque type d'écouvillon conformément à l'étape a ou b comme suit :
  - 5a. Pour chaque contrôle de traitement des échantillons (PSPC et NSPC) d'écouvillon (vaginal ou endocervical), dévisser et retirer le bouchon du tube eNAT. Transférer ensuite ~0,1 ml de l'échantillon PSPC ou NSPC à la fois dans chaque tube en absorbant à l'aide de l'écouvillon (~0,1 ml) et transférer l'échantillon dans le tube eNAT, puis plier la tige de l'écouvillon contre le tube, au niveau de la zone de cassure, afin de casser la tige, et replacer le bouchon. Retourner les tubes ou les mélanger au vortex afin d'homogénéiser les contrôles de traitement des échantillons dans la solution eNAT. Dévisser le bouchon du tube eNAT et retirer la tige de l'applicateur de l'écouvillon, qui est fermement fixée au bouchon, avant de charger les tubes dans le porte-tubes du QIASymphony SP.

- 5b. Pour chaque contrôle de traitement des échantillons d'urine (PSPC et NSPC), dévisser et retirer le bouchon du tube eNAT. Puis, transférer un à un 4 ml des échantillons PSPC ou NSPC (2 étapes de transfert de 2 ml chacune) dans chacun des tubes eNAT au moyen de la pipette, puis replacer le bouchon. Retourner les tubes ou les mélanger au vortex afin d'homogénéiser les contrôles de traitement des échantillons dans la solution eNAT. Dévisser et retirer le bouchon du tube eNAT avant de charger les tubes dans le porte-tubes du QIA Symphony SP.
6. Introduire le tube contenant le contrôle de traitement d'échantillon positif (PSPC) connu dans l'emplacement disponible suivant, par exemple la position 2 du premier porte-échantillons.
7. Introduire le tube contenant le contrôle de traitement d'échantillon négatif (NSPC) connu dans l'emplacement disponible suivant, par exemple la position 3 du premier porte-échantillons.

**Remarque :** Les contrôles de traitement d'échantillons seront analysés comme des échantillons normaux. Bien que les résultats soient rapportés pour chaque PSPC et NSPC, un résultat erroné n'invalide pas automatiquement l'analyse par Rotor Gene AssayManager. Les résultats de tous les contrôles de traitement complets requièrent une interprétation de l'utilisateur.

**Remarque :** Si le cycle de l'échantillon contient des échantillons vaginaux/endocervicaux et des échantillons d'urine, les PSPC et NSPC représentant tous les types d'échantillons peuvent être inclus. Les contrôles de traitement complets supplémentaires peuvent être placés dans les emplacements disponibles suivants, par exemple les positions 4 et 5 du premier porte-échantillons.

### Charger le tiroir « Sample » avec les échantillons

1. Charger les échantillons préparés (voir page 19) dans des tubes eNAT dans le porte-tubes d'échantillons contenant déjà les contrôles.

2. Si nécessaire, préparer d'autres porte-tubes de tubes d'échantillons de la manière précitée, mais sans témoins. Ne pas ajouter de contrôles supplémentaires aux porte-échantillons devant être combinés avec le même lot AS.

**Remarque :** Si les échantillons contiennent des codes-barres, orienter les échantillons dans le porte-tubes de manière que les codes-barres soient parfaitement visibles.

3. Vérifier que les tubes d'échantillons et les tubes de contrôles sont correctement chargés et fixés.
4. Insérer tous les porte-échantillons dans les emplacements 1–4 du tiroir « Sample ». (La DEL s'éclaire en orange en cas de chargement correct.)

**Remarque :** Charger d'abord le porte-échantillons contenant les contrôles et les échantillons dans l'emplacement 1. Ne pas charger plus de 71 échantillons et contrôles en un seul cycle. Un contrôle négatif (negative control, NTC), qui doit être chargé dans le QIASymphony AS, se traduira par une réaction supplémentaire et nécessitera donc une position de sortie.

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.
6. Appuyer sur l'onglet « Integrated Run » de l'écran tactile.
7. Appuyer sur « Define run » (définir le cycle).
8. Sélectionner l'option « SP Batch 1 » (lot SP 1) (ou le numéro de lot approprié du porte-échantillons avec la fonction « Full Process Controls » (commandes du processus intégral), si un chargement continu est prévu).
9. Appuyer sur « Edit samples » (modifier les échantillons).

**Remarque :** S'assurer que le matériel de laboratoire « COP#606C eNAT Tube » (tube eNAT COP#606C) approprié est attribué aux échantillons. Si nécessaire, corriger l'attribution du matériel de laboratoire.

10. Appuyer sur « ID/Type » (ID/type).
11. Sélectionner la première position et appuyer sur « Sample ID » (ID d'échantillon).

12. Appuyer sur le champ de texte et saisir T. vaginalis Positive Control, puis appuyer sur « OK ».

13. Sélectionner la première position et appuyer sur « EC+ ».

14. Si nécessaire, résoudre les erreurs de lecture de code-barres d'échantillons et insérer les ID.

15. Appuyer sur « OK ».

**IMPORTANT** : Ne pas attribuer le type d'échantillon « EC+ » à d'autres tubes que les contrôles positifs fournis avec le kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ. L'application Rotor-Gene AssayManager rejettera les cycles ayant des profils de contrôles incorrects. Ne pas attribuer le type d'échantillon « EC+ » au contrôle de traitement d'échantillon positif (PSPC). Ne pas attribuer le type d'échantillon « EC- » au contrôle de traitement d'échantillon négatif (NSPC). Veiller à ce que le type d'échantillon « Sample » soit toujours attribué au PSPC et au NSPC.

16. Définir le ou les essais à analyser.

17. Appuyer sur le bouton correspondant « SP Batch » (lot SP).

18. Appuyer sur « Define assays » (définir les essais).

19. Sélectionner les échantillons à traiter avec l'essai.

20. Sélectionner l'essai « *artus*\_T.vag swab/urine\_V1 » dans la catégorie « *artus* QS-RGQ ».

21. Appuyer sur « OK ».

22. Recommencer l'étape 17 pour tous les lots et échantillons à traiter.

23. Définir le lot QIASymphony AS.

24. Sélectionner tous les lots qui doivent être traités dans le cadre d'un seul cycle QIASymphony RGQ intégré.

25. Appuyer sur « Create AS batch » (créer le lot AS).

**Remarque** : Tous les lots QIASymphony SP attribués au même lot QIASymphony AS (cycle QIASymphony RGQ intégré) seront traités dans la même procédure de configuration de test.

26. Appuyer sur « OK » pour mettre le cycle en file d'attente.

- 
27. Charger le tiroir « Sample » (Échantillon) avec le mélange IC.
  28. Placer le ou les tubes de mélange IC préparés antérieurement (voir page 21) dans le porte-échantillons (utiliser l'élément d'insertion de tube 3B pour microtubes de 2 ml).
  29. Insérer le porte-échantillons dans l'emplacement A du tiroir « Sample ».  
**Remarque** : Pour certains niveaux de liquide contenu dans des tubes de 14 ml non étiquetés (voir « Réactifs et consommables pour QIASymphony SP », page 11), des erreurs de lecture peuvent se produire en raison de la transparence du liquide et du tube. Pour éviter ces erreurs, apposer une étiquette vierge sur le tube ou marquer avec un feutre indélébile la surface de tube confrontée au lecteur de code-barres.
  30. Définir les positions des IC.
  31. Appuyer sur le bouton « Define ICs » (définir Les IC).
  32. Sélectionner les positions du mélange IC.
  33. Sélectionner l'IC correspondant « Complex\_T.vaginalis\_V1 » dans le dossier « Required » (Requis).
  34. Veiller à attribuer le matériel de laboratoire approprié. Dans le cas contraire, corriger l'attribution du matériel de laboratoire en appuyant sur « IC Tubes » (tubes IC).
  35. Appuyer sur « OK ».
  36. Démarrer l'analyse.
  37. Pour démarrer le cycle, appuyer sur le bouton « Run » (analyser).
  38. Lire et confirmer le message qui s'affiche.
  39. Nous recommandons de patienter à proximité de l'appareil jusqu'à ce qu'il ait effectué la détection du niveau de liquide des tubes IC (l'état du portoir QIASymphony SP change en « running » [cycle en cours]).  
**IMPORTANT** : Ne pas interrompre ni arrêter l'analyse pendant le traitement (excepté en cas d'urgence), autrement les échantillons et les réactions d'essai respectifs seront étiquetés « unclear » (incertain). L'application Rotor-Gene AssayManager invalidera les réactions d'essai de type « unclear » (incertain).

---

**Remarque** : Il est possible de charger en continu des échantillons et de les ajouter à ce cycle (jusqu'à ce que les réactifs soient chargés) ou à un nouveau cycle QIASymphony RGQ.

### Charger les tiroirs du QIASymphony AS pour la configuration d'analyse

1. Installer un sachet pour cônes usagés vide et des goulottes d'évacuation des cônes.
2. Installer un sachet pour cônes usagés vide sous le tiroir « Waste » dans le cadre d'une utilisation sur paillasse ou dans la poubelle pour une utilisation en QIASymphony SP/AS Cabinet.
3. Ouvrir le tiroir « Eluate and Reagents » (éluats et réactifs) et le tiroir « Assays » du QIASymphony AS.
4. Ouvrir le capot et insérer la goulotte d'évacuation des cônes dans l'appareil.

**Remarque** : Des goulottes d'évacuation de cônes différentes doivent être employées pour une utilisation sur paillasse ou sur QIASymphony Cabinet SP/AS.

5. Fermer le capot, puis lire et confirmer le message.
6. Charger le tiroir « Assays » avec le portoir à essais.
7. Appuyer sur l'emplacement 5 « Assay » (jaune).
8. Introduire le nombre de rangées de tubes requis (4 tubes = 1 segment) dans un adaptateur prérefrigéré Rotor-Gene Strip Tubes 72 QS comme indiqué sur l'écran tactile.

**Remarque** : Charger des rangées de tubes complètes. Ne pas scinder une rangée de tubes.

9. Charger l'adaptateur avec des rangées de tubes dans l'emplacement 5 du tiroir « Essais ».
10. Appuyer sur « Rack ID » (ID de portoir) sur l'écran tactile, saisir un ID de portoir défini par un utilisateur et appuyer sur « OK ».

**Remarque** : Il est également possible d'utiliser la fonction ID automatique.

11. Appuyer sur « Load » (charger).

12. Charger les tiroirs « Assays » et « Eluate and Reagents » avec des cônes à filtres.

13. Charger au moins le nombre de cônes à filtres présenté à l'écran « Assay Setup | Loading Information » (configuration de test | informations de chargement).

**Remarque :** Nous recommandons de charger plus de cônes à filtres de chaque dimension que le nombre requis, afin qu'il y ait un nombre suffisant de cônes à filtres pour le traitement automatique des erreurs. Utiliser les positions de portoir à cônes situées à proximité des emplacements réfrigérants dans les deux tiroirs du QIASymphony AS uniquement.

14. Charger le tiroir « Eluate and Reagents » avec les réactifs.

15. Avant chaque utilisation, il est impératif que tous les réactifs d'essai soient complètement décongelés, mélangés et centrifugés pendant au moins 3 secondes. Éviter la formation de bulles ou de mousse sur les réactifs (voir la procédure décrite dans la rubrique « Remarques importantes avant de commencer », page 25).

16. Appuyer sur l'emplacement 3 « Reagent » (réactif) (jaune) de l'écran tactile.

17. Préparer un support pour réactifs préréfrigéré comme demandé sur l'écran tactile.

18. Sélectionner les positions des tubes sur l'écran tactile, charger un tube vide pour le mélange maître et remplir les tubes requis avec au moins le volume requis des réactifs appropriés et de contrôle négatif (NTC) dans les positions correspondantes, comme indiqué sur l'écran tactile.

**Remarque :** Il peut s'avérer nécessaire de combiner les mêmes types de réactifs (T. vaginalis Master ou Mg-Sol) en un seul tube si le volume requis dépasse le volume de remplissage des réactifs correspondants. Un seul tube de chacune des solutions T. vaginalis Master et Mg-Sol suffit pour 24 éluats de QIASymphony SP (y compris les contrôles) plus un NTC.

**Remarque :** Les réactifs visqueux peuvent être difficiles à manipuler avec des pipettes manuelles. S'assurer de transférer tout le volume de T. vaginalis Master dans chaque tube.

**Remarque :** Il est également possible de sélectionner l'option « List View » (aperçu des listes) de l'écran tactile et de préparer l'adaptateur pour réactifs de manière

---

correspondante. Un « Loading Information File » (fichier d'informations de chargement) peut également être téléchargé via le QMC ou un port USB (et imprimé) après que le lot du QIASymphony AS aura été défini et mis en liste d'attente.

19. Appuyer sur le bouton « Scan Kit Barcode » (lire le code-barres du kit) de l'écran tactile et appuyer sur la ligne de code-barres du kit apparaissant en bleu clair.
20. Appuyer sur le champ de texte et lire le code-barres du kit sur le côté supérieur du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ au moyen du lecteur de code-barres portatif.

**IMPORTANT** : Si le code-barres du kit n'est pas lu à cette étape, l'application Rotor-Gene AssayManager rejettera le fichier de résultats du QIASymphony AS au cours de l'importation.

21. Charger l'adaptateur pour réactifs préparé dans l'emplacement 3 du tiroir « Eluate and Reagents ».
22. Appuyer sur le bouton « Load ».
23. Fermer les deux tiroirs.
24. Appuyer sur « Scan » (lire) pour accéder à la boîte de dialogue de lecture.
25. Appuyer sur « Scan » pour effectuer un inventaire de tous les composants du QIASymphony AS.

**Remarque** : Nous recommandons de patienter à proximité de l'appareil jusqu'à ce que l'inventaire soit terminé.

26. La configuration de test démarrera automatiquement une fois que la préparation des échantillons sur le QIASymphony SP sera terminée.
27. Vérifier le temps restant avant la fin du lot du QIASymphony AS pour retirer le portoir à essais.
28. Une fois la lecture du QIASymphony AS terminée, la durée calculée pour le cycle intégré est affichée à l'écran « Integrated Run Overview » (aperçu du cycle intégré). La durée maximale autorisée entre la fin du cycle du QIASymphony AS et le démarrage de l'appareil Rotor-Gene Q est de 30 minutes. S'assurer de transférer le portoir à essais dans l'appareil Rotor-Gene Q en l'espace de 30 minutes après la fin du cycle d'analyse.



## Retrait du portoir à essais et transfert du fichier de résultats

1. Retirer le lot du QIASymphony AS et le portoir à essais.
2. Ouvrir les tiroirs « Assays » et « Eluate and Reagents ».
3. Retirer l'adaptateur et les rangées de tubes, puis fermer les tubes en utilisant les bouchons appropriés.
4. Appuyer sur l'emplacement 5 « Assay ».
5. Appuyer sur le bouton « Remove ».
6. Retirer l'adaptateur pour réactifs et mettre les réactifs au rebut conformément aux règles de sécurité locales.
7. Appuyer sur l'emplacement 3 « Reagent ».
8. Appuyer sur le bouton « Remove ».
9. Fermer les tiroirs « Assays » et « Eluate and Reagents ».
10. Appuyer sur « Scan » pour accéder à la boîte de dialogue de lecture.
11. Appuyer sur « Scan » pour effectuer un inventaire des adaptateurs situés sur les tiroirs de gauche et de droite (typiquement présélectionnés).
12. Appuyer sur le bouton « Integrated Batch » (lot intégré) (vert) pour supprimer le cycle intégré.
13. Lire et confirmer le message.
14. Le fichier de résultats final du QIASymphony AS est créé et peut être transféré sur une clé USB ou un dossier défini (\log\Results\AS) (\journal\résultats\AS) via le QMC.
15. Transférer le fichier de résultats vers un dossier défini. Pour transférer le fichier de résultats au moyen d'une clé USB, suivre l'étape 15a. Pour transférer le fichier de résultats au moyen du QMC, suivre l'étape 15b.
  - 15a. Transfert d'un fichier de résultats au moyen d'une clé USB.
    - I. Insérer la clé USB.
    - II. Sélectionner « Tools ».
    - III. Sélectionner « File Transfer » (transfert de fichiers).

- IV. Sélectionner « Result Files » (fichiers de résultats) dans la colonne « Save to USB Stick » (enregistrer sur la clé USB).
- V. Appuyer sur le bouton « Transfer » (transférer).
- VI. Lire et confirmer le message.
- VII. Une fois le transfert réussi, appuyer sur « OK » et retirer la clé USB.
- VIII. Aller à la section « Protocole : PCR sur l'appareil Rotor-Gene Q », page 43

15b. Transfert d'un fichier de résultats au moyen du QMC.

- I. Se connecter au QIASymphony SP/AS approprié
- II. Sélectionner l'icône de transfert de fichiers.
- III. Choisir le format de fichier « Result File AS » (fichier de résultats AS).
- IV. Sélectionner le fichier de résultats portant le bon horodatage et le bon ID de lot dans la liste de fichiers « Remote Site » (site à distance) (colonne de droite).
- V. Transférer le fichier de résultats vers le « Local Site » (site local) (le fichier est enregistré suivant le chemin d'accès défini sous « Tools », « Options » (options), « File Transfer » dans \log\Results\AS).
- VI. Aller à la section « Protocole : PCR sur l'appareil Rotor-Gene Q », page 43.

**Remarque :** Si plusieurs lots du QIASymphony AS sont configurés dans un cycle intégré, vérifier la capacité résiduelle du sachet pour cônes usagés et recharger les tiroirs du QIASymphony AS en reprenant à l'étape 1 des instructions de Chargement des tiroirs du QIASymphony AS pour la configuration d'analyse.

**Remarque :** Nous recommandons de marquer les rangées de tubes pour garantir leur bon positionnement et d'utiliser un châssis de transport réfrigéré pour éviter toute contamination.

**Remarque :** Effectuer une maintenance préventive quotidienne, hebdomadaire et annuelle, comme décrit dans le manuel d'utilisation du *QIASymphony SP/AS — Description générale*.

## Protocole : PCR sur l'appareil Rotor-Gene Q

### Remarques importantes avant de commencer

- I Il convient de prendre le temps nécessaire pour se familiariser avec l'appareil Rotor-Gene Q avant de démarrer le protocole. Consulter le manuel d'utilisation spécifique à l'instrument pour obtenir plus de détails.
- I Le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ doit être utilisé sur l'appareil Rotor-Gene Q en utilisant l'interprétation automatique des résultats de l'application Rotor-Gene AssayManager. Les paramètres du cycle sont verrouillés pour l'analyse.
- I Une fois le module d'extension installé et le profil d'essai importé (voir le chapitre « À effectuer avant de commencer », avant de commencer), 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.

### À effectuer avant de commencer

- I Pour la sécurité du processus sur tout le système, il est nécessaire de vérifier que les paramètres suivants pour le mode fermé sont bien activés dans l'application Rotor-Gene AssayManager : « Material number required » (référence du matériel requise), « Valid expiry date required » (date de péremption valide requise) et « Lot number required » (numéro de lot requis) (sous « Configuration », « Settings » (paramètres), « Global Settings » (paramètres généraux), « Work List » (liste de tâches). Le rôle d'utilisateur « Administrator » (administrateur) est requis pour accéder à l'option « Configuration ».
- I Pour une interprétation automatique des résultats en utilisant le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ avec l'application Rotor-Gene AssayManager, il est impératif d'installer la dernière version du module d'extension Epsilon sur votre application Rotor-Gene AssayManager. Démarrer le processus d'installation du module d'extension en double-cliquant sur le fichier d'installation msi, puis en suivant les instructions d'installation. Pour une description détaillée, se référer au chapitre « Installing Plug-ins » (installation des modules d'extension) (voir le *manuel d'utilisation de l'application principale Rotor-Gene AssayManager* fourni).

- 1 Pour utiliser le kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ, le fichier AP\_artus\_Tvag\_swab\_urine800\_QS\_V1\_0\_x.iap (avec  $x \geq 0$ ) doit impérativement être importé dans l'application Rotor-Gene AssayManager. Pour importer le profil d'essai dans l'application Rotor-Gene AssayManager, naviguer jusqu'à l'environnement « Configuration » et passer à l'onglet « Assay Profile » (Profil D'essai). Cliquer sur « Import » (importer) et sélectionner le fichier AP\_artus\_Tvag\_swab\_urine800\_QS\_V1\_0\_x.iap dans la boîte de dialogue ouverte. Cliquer sur « Open » (ouvrir), à la suite de quoi le profil d'essai est chargé et ajouté à la liste des profils d'essai disponibles.

**Remarque** : il n'est pas possible d'importer deux fois la même version d'un profil de test.

## Procédure

1. Afin de préparer le rotor et de démarrer le cycle sur l'instrument Rotor-Gene Q, placer d'abord un rotor à 72 puits sur le support du rotor.
2. 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.
3. Vérifier visuellement le contrôle négatif (NTC) pour confirmer que le transfert du NTC a été convenablement exécuté (dernière position de la rangée de tubes du cycle QIASymphony RGQ).
4. Utiliser des rangées de tubes bouchés vides pour compléter les positions inutilisées.
5. Fixer l'anneau de verrouillage.
6. Charger le rotor et son anneau de verrouillage dans l'appareil Rotor-Gene Q.
7. En cas d'utilisation d'une clé USB pour le transfert des données directement à partir du QIASymphony SP/AS, décompresser le fichier de résultats provenant du QIASymphony AS. Les fichiers de résultats sont conservés sous \log\Results\AS.

**Remarque** : Sur la plupart des ordinateurs, les fichiers peuvent être décompressés en effectuant un clic droit sur le fichier, puis en cliquant sur « Extract » (extraire) dans le menu qui apparaît. Les fichiers doivent être décompressés pour pouvoir être importés dans l'application Rotor-Gene AssayManager.

8. Démarrer l'application Rotor-Gene AssayManager.

- 
9. Se connecter en mode fermé.
  10. Sélectionner l'environnement « Setup » (paramétrage) si ce n'est déjà fait.
  11. Importer le fichier de résultats du QIASymphony AS situé en bas de l'écran. Sélectionner la source « QIASymphony » selon le « Import type » (type d'importation).
  12. Dans la boîte de dialogue « Select file » (sélectionner un fichier), ouvrir le fichier de résultats de QIASymphony AS correspondant et cliquer sur « Open ».
  13. Lire et confirmer le message.
  14. Une fois l'importation effectuée avec succès, sélectionner la liste de tâches correspondante dans le gestionnaire de listes de tâches et cliquer sur le bouton « Apply » (appliquer).
  15. Saisir un nom d'expérience.
  16. Sélectionner le cycleur à utiliser dans la boîte de dialogue « Cyclier selection » (sélection des cycleurs).
  17. Vérifier que l'anneau de verrouillage est bien fixé et le confirmer à l'écran.
  18. Fermer le capot de l'appareil Rotor-Gene Q.
  19. Cliquer sur le bouton « Start run » (démarrer l'analyse).  
**Remarque** : Si les cycles sont effectués sur plusieurs cycleurs, passer à l'environnement du cycleur correspondant pour voir l'état d'avancement du cycle.
  20. Une fois le cycle terminé, cliquer sur « Finish run... » (terminer le cycle).
  21. Pour les utilisateurs connectés avec un rôle « Operator » (opérateur) : cliquer sur « Release » (Valider).
  22. Pour les utilisateurs connectés avec un rôle « Approver » (approbateur) : cliquer sur « Release and go to approval » (Valider et passer à l'approbation).
  23. Libérer et communiquer les résultats.
  24. Si vous avez utilisé la fonction « Release » auparavant, sélectionner l'environnement « Approval » (approbation).

---

25. Appuyer sur la fonction « Apply filter » (appliquer le filtre), ou choisir au préalable vos propres options de filtre.

26. Sélectionner une expérience.

27. Cliquer sur « Start approval » (démarrer l'approbation).

28. 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.

29. En option : Saisir les commentaires relatifs à l'analyse ou à l'échantillon.

30. Cliquer sur « Release /report data... » (valider/communiquer les données).

31. Cliquer sur « OK ». Le rapport sera automatiquement généré et enregistré.

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

32. Décharger l'instrument Rotor-Gene Q et jeter les barrettes de tubes conformément aux réglementations de sécurité locales.

33. Effectuer la maintenance.

Une fois analysés tous les lots QIASymphony AS du cycle intégré du QIASymphony SP/AS, procéder à la maintenance comme décrit dans le manuel d'utilisation du *QIASymphony SP/AS — Description générale*. Cela peut être fait pendant le cycle de l'instrument Rotor-Gene Q.

**Remarque** : Cet entretien peut être effectué n'importe quand avant le début du prochain cycle intégré dans le cadre du calendrier de maintenance habituel, selon la réglementation ou les priorités locales. Effectuer une maintenance préventive quotidienne, hebdomadaire et annuelle, comme décrit dans le manuel d'utilisation du *QIASymphony SP/AS — Description générale*.

# Interprétation des résultats

Cette section décrit l'interprétation des résultats sur l'appareil Rotor-Gene Q. Il convient de passer en revue également les informations sur l'état des échantillons des fichiers de résultats du QIASymphony SP/AS pour une analyse de tout le flux de travail, depuis l'échantillon jusqu'au résultat.

**Remarque :** Seuls des échantillons présentant un état valide doivent être utilisés.

Le profil d'essai du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ contient les règles permettant l'interprétation automatique des résultats de l'analyse.

Chaque échantillon et contrôle fait s'afficher un résultat indépendant pour chaque cible\* de *T. vaginalis* (T.vag) et du contrôle interne (IC/IC\_Control). Chaque résultat est reporté comme « Signal detected » (Signal détecté), « No signal » (Aucun signal) ou « INVALID » (non valide).

Résultats des contrôles positif/négatif :

- I Toutes les cibles du témoin positif (EC+) et du témoin négatif (NTC) doivent être valides pour confirmer que l'état de l'essai est un succès et que les résultats de test peuvent être communiqués. Si l'une des cibles du témoin positif ou du témoin négatif présente un résultat non valide, les résultats de chaque échantillon du cycle seront définis comme « INVALID ». L'essai doit être une nouvelle fois testé dans son intégralité.
- I Le témoin positif (EC+) doit afficher un résultat « Signal detected » pour *T. vaginalis* et pour le contrôle interne.
- I Le témoin négatif (NTC) doit afficher un résultat « No signal » pour *T. vaginalis* et pour le contrôle interne.

\* Toutes les cibles liées aux échantillons et aux contrôles sont affichées dans des lignes séparées dans la colonne « Output » (sortie) dans l'environnement « Approval » (approbation) et « Archive » (archive) de Rotor-Gene AssayManager et dans le rapport.

---

Résultats du contrôle de traitement des échantillons positifs (PSPC)/contrôle de traitement des échantillons négatifs (NSPC) :

Les contrôles PSPC et le NSPC ne sont pas inclus, mais ils sont obligatoires (voir « Contrôles de traitement des échantillons », page 21). Le profil d'essai du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ ne contient donc pas de règles permettant l'analyse automatique des PSPC et NSPC. Les résultats du PSPC et du NSPC doivent être vérifiés manuellement par l'utilisateur.

- I Le PSPC doit afficher un résultat « Signal detected » pour la cible *T. vaginalis*.
- I Le NSPC doit afficher un résultat « No signal » pour la cible *T. vaginalis* et « Signal detected » pour la cible du contrôle interne.

**Remarque :** Si le résultat de l'un des contrôles de traitement diffère du statut défini ci-dessus, l'intégralité du cycle d'analyse devra être considérée comme non valide et à nouveau analysée.

Résultats des échantillons :

- I Voir le tableau 5 pour un résumé de l'interprétation des résultats.
- I Un échantillon est considéré comme positif pour *T. vaginalis* si le résultat pour la cible *T. vaginalis* est affiché comme « Signal detected » (scénario A).
- I Le résultat de la cible du contrôle interne peut être défini comme « No signal » pour les échantillons dans lesquels un signal a été détecté pour *T. vaginalis*. Dans ces cas, toutes les cibles correspondant à l'échantillon seront rapportées. Il n'est pas nécessaire de recommencer le test (scénario A).

**Remarque :** Dans certains échantillons positifs pour l'espèce *T. vaginalis*, on s'attend à ce que la PCR du contrôle interne puisse être inhibée suite à une compétition, ce qui entraînera l'attribution d'un résultat « No signal » pour le contrôle interne (scénario A).

- I Un échantillon est considéré négatif pour *T. vaginalis* si le résultat pour la cible *T. vaginalis* est rapporté en tant que « No signal » et que le résultat pour le contrôle interne est rapporté comme « Signal detected » (Signal détecté) (scénario B).



- I Le signal du contrôle interne doit être détecté dans les échantillons où aucun signal n'est détecté pour *T. vaginalis* (scénario B). Si le signal du contrôle interne n'est pas détecté ou qu'il présente l'état « INVALID », tous les résultats cibles de l'échantillon seront définis comme « INVALID ». L'échantillon doit être à nouveau testé (scénario C).
- I Si le résultat de la cible pour *T. vaginalis* est rapporté comme « INVALID », l'échantillon doit être retesté (scénario C).

**Tableau 5. Interprétation des résultats**

Scénario	Résultat cible		Détection de <i>T. vaginalis</i> dans l'échantillon
	<i>T. vaginalis</i>	Contrôle interne	
A	Signal détecté	Signal détecté/ Aucun signal	Oui
B	Aucun signal	Signal détecté	Non
C	INVALID	INVALID	Erreur/tester à nouveau l'échantillon

\* Recommencer le cycle QIASymphony RGQ avec de nouveaux échantillons ou en utilisant des échantillons déjà prélevés et traités selon les instructions décrites à la page 17. Si des échantillons ont déjà été traités une première fois sur le QIASymphony RGQ, vérifier que le tube de prélèvement eNAT contient encore au moins 1 050 µl de liquide.

Les cibles définies comme « INVALID » seront marquées avec un ou plusieurs indicateurs expliquant la raison de la non-validité de l'échantillon. L'analyse automatique peut entraîner l'attribution des indicateurs correspondants suivants, voir le Tableau 6.

**Tableau 6. Messages attribués lors de l'analyse automatique**

Message	Comportement	Description
ASSAY_INVALID	Non valide	L'essai est défini comme non valide parce qu'au moins un contrôle externe est non valide.
AUDAS_CONFLICT	Non valide	Les résultats de lecture par balayage automatique des données (AUDAS) sont conflictuels avec les résultats de l'analyse principale. Une évaluation automatique univoque de la validité des données n'est pas possible.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Non valide	La valeur de $C_T$ détectée est supérieure à la valeur de $C_T$ de seuil définie.
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Non valide Tableau	La valeur de $C_T$ détectée est inférieure à la valeur de $C_T$ de seuil définie.
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Non valide	La courbe d'amplification des données brutes dévie par rapport au comportement établi pour ce test. La probabilité de résultats incorrects ou d'une mauvaise interprétation est très élevée.
FLAT_BUMP	Non valide	La courbe d'amplification présente une bosse plate qui dévie par rapport au comportement établi pour ce test. La probabilité de résultats incorrects ou d'une mauvaise interprétation est très élevée (par ex. détermination de la valeur de $C_T$ fausse).
IC_INVALID	Non valide	Le contrôle interne n'est pas valide. La cible et le contrôle interne partagent le même tube.
IC_NO_SIGNAL	Non valide	Aucun signal de contrôle interne détecté. La cible et le contrôle interne partagent le même tube.

Message	Comportement	Description
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	Non valide	La courbe d'amplification coupe le seuil plus d'une fois. Il est impossible de déterminer un $C_T$ non équivoque.
NO_BASELINE	Non valide	Aucune ligne de base n'a été trouvée. L'analyse suivante ne peut pas être effectuée.
NO_CT_DETECTED	Non valide	Aucune valeur de $C_T$ n'est détectée pour cette cible.
NORM_FACTOR_ALTERATION	Avertissement	La courbe n'est pas normalisée correctement en raison d'un signal faible. <b>Remarque</b> : Si un échantillon valide est marqué avec cet indicateur, l'approbateur doit se montrer particulièrement vigilant quant aux informations fournies par cet indicateur avant de décider d'accepter ou de rejeter le résultat.
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 devant le point d'inflexion de la courbe d'amplification.
SATURATION_IN_PLATEAU	Avertissement	La fluorescence des données brutes présente une forte saturation dans la phase de plateau de la courbe d'amplification. <b>Remarque</b> : Si un échantillon valide est marqué avec cet indicateur, l'approbateur doit se montrer particulièrement vigilant quant aux informations fournies par cet indicateur avant de décider d'accepter ou de rejeter le résultat.

Message	Comportement	Description
SPIKE	Avertissement	<p>Une pointe dans la fluorescence des données brutes est détectée dans la courbe d'amplification mais en dehors de la zone où la valeur de <math>C_T</math> est déterminée.</p> <p><b>Remarque :</b> Si un échantillon valide est marqué avec cet indicateur, l'approbateur doit se montrer particulièrement vigilant quant aux informations fournies par cet indicateur avant de décider d'accepter ou de rejeter le résultat.</p>
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Non valide	Une pointe est détectée dans la courbe d'amplification à proximité de la valeur de $C_T$ .
STEEP_BASELINE	Non valide	Une ligne de base présentant une forte montée est détectée dans la fluorescence sur les données brutes de la courbe d'amplification.
STRONG_BASELINE_DIP	Non valide	Une forte chute de la ligne de base de la fluorescence des données brutes est détectée dans la courbe d'amplification.
STRONG_NOISE	Non valide	Un bruit élevé est détecté en dehors de la phase de croissance (exponentielle) de la courbe d'amplification.
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	Non valide	Détection d'un bruit de fond élevé pendant la phase de croissance (exponentielle) sur la courbe d'amplification.

Message	Comportement	Description
UPSTREAM	Variable	<p>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 QIASymphony).</p> <p><b>Remarque :</b> Pour les échantillons indiqués comme incertains, le comportement du logiciel Rotor-Gene AssayManager est défini dans l'environnement « Configuration » du logiciel AssayManager.</p> <p>Les indicateurs « Invalid » provenant de processus en amont entraînent toujours la détermination de l'échantillon correspondant comme non valide dans le logiciel Rotor-Gene AssayManager.</p>
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	Non valide	Des ondulations de la ligne de base de la fluorescence des données brutes ont été détectées dans la courbe d'amplification.

---

## Limitations

- I Tous les réactifs ne peuvent être utilisés que dans le cadre de diagnostics in vitro.
- I L'utilisation de ce produit est réservée à un personnel spécialement formé aux procédures de diagnostic in vitro.
- I L'utilisateur doit impérativement lire attentivement la notice d'instructions avant d'utiliser le système.
- I Le kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ doit être utilisé par un personnel de laboratoire qualifié, formé à l'utilisation du système QIAGEN QIASymphony RGQ, de l'application Rotor-Gene AssayManager et du système *artus* T. vaginalis.
- I Il convient de se conformer strictement à la notice d'instructions pour obtenir des résultats de PCR optimaux.
- I Il convient de porter une attention particulière aux dates limites d'utilisation imprimées sur la boîte et les étiquettes de tous les composants. Ne pas utiliser de composants périmés.
- I Bien que rares, des mutations dans les régions hautement conservées du génome cible reconnues par les amorces et/ou la sonde du kit peuvent entraîner un échec de la détection de la cible dans ces cas-là. La validité et la performance du format d'analyse sont évaluées à intervalles réguliers.
- I Tous les résultats diagnostiques générés doivent être interprétés en tenant compte des autres observations cliniques ou résultats biologiques disponibles.

## Contrôle de la qualité

En accord avec le système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot du kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ a été testé conformément aux spécifications prédéterminées afin d'assurer une qualité constante du produit.

---

# Caractéristiques de performance

## Limite de détection

La limite de détection du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ (associé au kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi) a été évaluée à l'aide de deux souches *T. vaginalis*, dont une souche sensible au métronidazole (ATCC 30001) et une souche résistante au métronidazole (ATCC 50143). Les deux souches ont été propagées dans un poste de travail anaérobie et quantifiées pour la présence de cellules viables et non viables. Les quantités connues de chaque souche *T. vaginalis* ont ensuite étéensemencées dans les deux (2) matrices d'échantillons : la matrice d'échantillons d'urine humaine négatifs au *T. vaginalis* et la matrice d'échantillons de sécrétion vaginale naturelle négatifs au *T. vaginalis*.

Six niveaux de concentration différents ont été évalués et 24 répliques ont été réalisées pour chaque niveau de dilution. Toutes les répliques, à chaque niveau de dilution, ont été préparées avec l'appareil QIASymphony SP/AS et le kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi, puis analysées sur un Rotor-Gene Q MDx. Les données regroupées (résultats PCR et quantification par hématimètre) ont été analysées à l'aide d'une analyse probit et du logiciel R. La limite de détection (limit of detection, LOD) pour chaque source est répertoriée dans le Tableau 7. Cela signifie que la probabilité de détecter le titre indiqué pour chaque souche est de 95 %. L'écart-type a été calculé et est également indiqué dans le Tableau 7. La LOD déterminée pour chaque souche a été confirmée avec 20 répliques supplémentaires pour chaque matrice.

**Tableau 7. Limite de détection**

Souche ATCC <i>T. vaginalis</i>	Matrice de test	LOD (C <sub>95</sub> ) (cellule/échantillon)	Écart type	LOD (C <sub>95</sub> ) (cellule/ml)	Vérification (positif/20)
30001	Urine	0,149	0,034	0,025	20/20
	NVF	0,088	0,021	0,044	20/20
50143	Urine	0,123	0,032	0,021	20/20
	NVF	0,530	0,138	0,265	20/20

ATCC : American Type Culture Collection ; LOD (Limit of detection) : limite de détection ; NVF (Natural vaginal fluid) : sécrétion vaginale naturelle.

## Réactivité analytique (inclusivité)

La réactivité analytique du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ a été évaluée grâce au test d'un panel de 43 souches *T. vaginalis* différentes (voir le Tableau 8), à environ 2 à 3 fois la limite de détection, par répliques de trois (3). Les 43 souches ont été détectées par le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ, avec un taux d'inclusivité de 100 %.

Remarque : conformément au protocole de l'étude, si une réplique renvoyait un résultat négatif, 3 répliques supplémentaires étaient retestées. L'organisme était jugé « détectable » si les résultats de ce deuxième test étaient tous positifs (100 %).



**Tableau 8. Génotypes importants testés dans les études de réactivité analytique (inclusivité)**

N° d'échantillon*	N° de panel	Souche	Nb. détecté/3 (urine)	Nb. détecté/3 (SVF)	Commentaires
1	30001	C-1:NIH	3/3	3/3	
2	30092	11769	3/3	3/3	
3	30093	45422	3/3	3/3	
4	30184	123414	3/3	3/3	
5	30185	129155-8	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Retesté <sup>†</sup>
6	30186	123413	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Retesté <sup>†</sup>
7	30187	165307-1	3/3	3/3	
8	30188	RP	3/3	3/6 <sup>†</sup>	Retesté <sup>†</sup>
9	30235	JH 30A n° 4	3/3	3/3	
10	30236	JH 31A n° 4	3/3	3/3	
11	30237	JH 32A n° 2	3/3	3/3	
12	30238	JH 32A n° 4	3/3	3/3	
13	30239	JH 34A n° 4	3/3	3/3	
14	30240	JH 37A n° 2	3/3	3/3	
15	30241	JH 37A n° 4	3/3	3/3	
16	30242	JH 161A n° 4	3/3	3/3	
17	30243	JH 162A n° 4	3/3	3/3	
18	30244	JH 191A n° 4	3/3	3/3	
19	30245	TVC	3/3	3/3	
20	30246	TVC1	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Retesté <sup>†</sup>
21	30248	TV 3	3/3	3/3	
22	30488	RFC-1	3/3	3/3	
23	50138	IR 78	3/3	3/9 <sup>†</sup>	Retesté <sup>†</sup>
24	50139	RU 357	3/3	3/3	

N° d'échantillon*	N° de panel	Souche	Nb. détecté/3 (urine)	Nb. détecté/3 (SVF)	Commentaires
25	50140	RU 384	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Retesté <sup>†</sup>
26	50141	RU 382	3/3	3/3	
27	50142	RU 393	3/3	3/3	
28	50143	CDC 085	3/3	3/3	
29	50144	CDC 337	3/3	3/3	
30	50145	CDC 409	3/3	3/3	
31	50146	NYH 209	3/3	3/3	
32	50147	NYH 272	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Retesté <sup>†</sup>
33	50148	NYH 286	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Retesté <sup>†</sup>
34	50167	B7RC2	3/3	3/3	
35	50183	HsD:NIH	3/3	3/3	
36	50747		3/3	3/3	
37	PRA-91	JRS-TV-120	3/3	3/3	
38	PRA-92	JRS-TV-141	3/3	3/3	
39	PRA-95	JRS-TV-VB102	3/3	3/3	
40	PRA-96	MT87	3/3	3/3	
41	PRA-97	BL++	3/3	3/3	
42	PRA-98	G3	3/3	3/3	
43	801805	Z070	3/3	3/3	

ATCC : American Type Culture Collection ; n° : numéro ; SVF (Simulated vaginal fluid) : sécrétion vaginale simulée.

\* Les échantillons 1 à 42 ont été obtenus auprès de l'ATCC et le numéro de panel indiqué dans le tableau correspond au numéro ATCC. L'échantillon 43 a été fourni par Zeptomatrix et le numéro de panel correspond au numéro de référence.

<sup>†</sup> Conformément au protocole de l'étude, si une réplique renvoyait un résultat négatif, 3 répliques supplémentaires étaient retestées. L'organisme était jugé « détectable » si les résultats de ce deuxième test étaient tous positifs (100 %).

## Réactivité croisée et interférences microbiennes

La réactivité croisée et les interférences microbiennes potentielles avec le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ ont été testées à l'aide d'un panel de bactéries, de champignons, de protozoaires ou de virus (Tableau 9). Dans l'étude de réactivité croisée, les organismes ont été ensemencés à  $1 \times 10^6$  UFC/ml pour les bactéries et la levure,  $1 \times 10^5$  UFP/ml pour les virus et  $1 \times 10^5$  cellules/ml pour les protozoaires, dans la matrice d'urine humaine négative ou de sécrétion vaginale naturelle, et ont été testés. Dans l'étude d'interférence microbienne, les mêmes organismes ont été ensemencés dans un échantillon contenant la souche *T. vaginalis* (ATCC 30001) à un niveau proche de la limite de détection (par ex.,  $3 \times$  LOD). Aucun des agents pathogènes testés n'a affiché de réactivité croisée. Aucun des agents pathogènes testés n'a causé d'interférence.

**Tableau 9. Panel d'organismes testés pour la réactivité croisée et les interférences microbiennes**

Espèces de micro-organismes	Réactivité croisée ? Oui / Non	Interférence ? Oui / Non
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Non	Non
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Non	Non
<i>Actinomyces israelii</i>	Non	Non
<i>Atopobium vaginae</i>	Non	Non
<i>Bacteroides (Parabacteroides) merdae</i>	Non	Non
<i>Bacteroides fragilis</i>	Non	Non
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	Non	Non
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Non	Non
<i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i>	Non	Non
<i>Campylobacter jejuni</i>	Non	Non
<i>Candida albicans</i>	Non	Non
<i>Candida glabrata</i>	Non	Non

<b>Espèces de micro-organismes</b>	<b>Réactivité croisée ? Oui / Non</b>	<b>Interférence ? Oui / Non</b>
<i>Candida parapsilosis</i>	Non	Non
<i>Candida tropicalis</i>	Non	Non
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Non	Non
<i>Clostridium difficile</i>	Non	Non
<i>Clostridium perfringens</i>	Non	Non
<i>Corynebacterium genitalium</i>	Non	Non
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Non	Non
<i>Entamoeba histolytica</i>	Non	Non
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Non	Non
<i>Enterococcus faecalis</i>	Non	Non
<i>Escherichia coli</i>	Non	Non
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Non	Non
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Non	Non
<i>Haemophilus ducreyi</i>	Non	Non
Herpes Simplex Virus Type1 (HSV-1)	Non	Non
Herpes Simplex Virus Type1 (HSV-2)	Non	Non
Human papillomavirus 16 (HPV-16, SiHa)	Non	Non
Human papillomavirus 18 (HPV-18)	Non	Non
HIV Type 1 (HIV-1)	Non	Non
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Non	Non
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Non	Non
<i>Lactobacillus jensenii</i>	Non	Non
<i>Lactobacillus vaginalis</i>	Non	Non
<i>Listeria monocytogenes</i>	Non	Non

Espèces de micro-organismes	Réactivité croisée ? Oui / Non	Interférence ? Oui / Non
<i>Mobiluncus curtisii</i>	Non	Non
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Non	Non
<i>Mycoplasma hominis</i>	Non	Non
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Non	Non
<i>Pentatrichomonas hominis</i>	Non	Non
<i>Peptococcus niger</i>	Non	Non
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Non	Non
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	Non	Non
<i>Prevotella bivia</i>	Non	Non
<i>Prevotella melaninogenica</i>	Non	Non
<i>Propionibacterium acnes</i>	Non	Non
<i>Proteus mirabilis</i>	Non	Non
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Non	Non
<i>Salmonella enterica (typhimurium)</i>	Non	Non
<i>Shigella flexneri</i>	Non	Non
<i>Staphylococcus aureus SARM</i>	Non	Non
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Non	Non
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Non	Non
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Non	Non
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Non	Non
<i>Trichomonas tenax</i>	Non	Non
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Non	Non
<i>Veillonella parvula</i>	Non	Non

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ; n/a : non applicable

**Tableau 10. Panel d'organismes testés *in silico* pour détecter la réactivité croisée**

Espèces de micro-organismes	Réactivité croisée ? Oui / Non
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Non

Remarque : cette souche n'étant pas disponible pour le test, l'analyse de réactivité croisée a donc été effectuée *in silico*. Il n'a pas été possible d'évaluer l'interférence microbienne.

## Précision et reproductibilité totales

La précision et la reproductibilité intermédiaires du kit *artus* *T. vaginalis* QS-RGQ ont été évaluées à l'aide d'un panel de 8 éléments, composé d'une souche *T. vaginalis* ATCC 30001. Les éléments du panel ont été formulés dans la matrice d'urine humaine ou dans les sécrétions vaginales simulées (SVF) (17) avec une concentration de *T. vaginalis* équivalente à 3 fois la LOD, à 1 fois la LOD et inférieure à la LOD. Les éléments de panel négatifs, R1 et R5, ont été préparés avec la matrice uniquement. Pour la reproductibilité, le panel de 8 éléments a été testé en trois exemplaires, sur 3 systèmes d'instrument, sur 3 sites, sur 2 cycles par jour sur 5 jours, avec 3 lots de kits *artus* *T. vaginalis* QS-RGQ combinés à 3 lots de kits QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi. Les résultats sont résumés dans le Tableau 11, page 63.

La précision et la reproductibilité totales ont également été évaluées en termes de valeurs Ct pour chaque cible détectée. L'écart-type (É-T), le coefficient de variation (CV) et la variation entre les cycles, entre les jours, entre les lots, entre les sites (reproductibilité) et au sein d'un cycle (répétabilité) sont répertoriés dans le Tableau 12, page 64.

**Tableau 11. Récapitulatif de la reproductibilité de site à site pour le kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ**

Description du panel	Matrice	ID	Total rép.	Nb. + site 1	Nb. + site 2	Nb. + site 3	Total + (%)	Critère d'acceptation
ATCC 30001 T. vaginalis	Urine	PSPC-1	30	10	10	10	100	100 % positifs
PSPC	SVF	PSPC-2	30	10	10	10	100	100 % positifs
P. hominis Hs-3:NIH	Urine	NSPC-1	30	0	0	0	0	100 % négatifs
ATCC 30000 NSPC	SVF	NSPC-2	30	0	0	0	0	100 % négatifs
Négatif	Urine	R1	90	0	0	0	0	100 % négatifs
Inférieur à la LOD	Urine	R2	90	9	16	16	45,6	20–80 % positifs
1 × LOD	Urine	R3	90	30	30	30	100	≥95 % positifs
3 × LOD	Urine	R4	90	30	30	30	100	100 % positifs
Négatif	SVF	R5	90	0	0	0	0	100 % négatifs
Inférieur à la LOD	SVF	R6	90	9	19	13	45,6	20–80 % positifs
1 × LOD	SVF	R7	90	30	30	30	100	≥95 % positifs
3 × LOD	SVF	R8	90	30	30	30	100	100 % positifs

LOD (limit of detection): limite de détection ; rép. : réplique ; nb. : nombre ; NSPC (Negative Specimen Process Control): contrôle de traitement d'échantillons négatifs ; PSPC (Positive Specimen Process Control): contrôle de traitement d'échantillons positifs ; SVF : sécrétion vaginale simulée ; Total + (%) : pourcentage total d'échantillons positifs.

**Tableau 12. Précision totale et composants pour la précision du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ**

Test	Paramètre	PSPC-1	PSPC-2	R2	R3	R4	R6	R7	R8
	C <sub>imoyen</sub>	30,12	30,49	35,09	31,09	29,91	35,74	31,64	30,40
	Nb.	30	30	81	90	90	81	90	90
Au sein d'un cycle	É.-T.	0,202	0,176	0,991	0,410	0,441	1,121	0,232	0,207
	% CV	0,67	0,58	2,82	1,32	1,47	3,14	0,73	0,68
	Var <sub>tot</sub>	0,041 (89,69)	0,031 (52,10)	0,981 (78,42)	0,168 (78,37)	0,194 (74,32)	1,256 (95,65)	0,054 (67,28)	0,043 (65,81)
Entre les cycles /op.	É.-T.	0,000	0,000	0,485	0,000	0,000	0,185	0,097	0,000
	% CV	0,00	0,00	1,38	0,00	0,00	0,52	0,31	0,00
	Var <sub>tot</sub>	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,236 (18,82)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,034 (2,62)	0,009 (11,74)	0,000 (0,00)
Entre différents jours	É.-T.	0,000	0,090	0,000	0,151	0,000	0,000	0,000	0,011
	% CV	0,00	0,30	0,00	0,49	0,00	0,00	0,00	0,04
	Var <sub>tot</sub>	0,000 (0,00)	0,008 (13,70)	0,000 (0,00)	0,023 (10,68)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,000 (0,18)
Entre les lots	É.-T.	0,000	0,137	0,000	0,099	0,019	0,000	0,000	0,030
	% CV	0,00	0,45	0,00	0,32	0,06	0,00	0,00	0,10
	Var <sub>tot</sub>	0,000 (0,00)	0,019 (31,78)	0,000 (0,00)	0,010 (4,57)	0,000 (0,14)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,001 (1,35)
Entre les sites	É.-T.	0,069	0,038	0,186	0,117	0,258	0,151	0,130	0,146
	% CV	0,23	0,12	0,53	0,38	0,86	0,42	0,41	0,48
	Var <sub>tot</sub>	0,005 (10,32)	0,001 (2,41)	0,035 (2,76)	0,014 (6,38)	0,067 (25,54)	0,023 (1,73)	0,017 (20,98)	0,021 (32,66)
Précision totale	É.-T.	0,213	0,243	1,119	0,463	0,511	1,146	0,283	0,255
	% CV	0,71	0,80	3,19	1,49	1,71	3,21	0,90	0,84
	Var <sub>tot</sub>	0,045 (100,0)	0,059 (100,0)	1,252 (100,0)	0,215 (100,0)	0,262 (100,0)	1,313 (100,0)	0,080 (100,0)	0,065 (100,0)

CV : coefficient de variation ; Nb. : nombre total de répliques avec des valeurs C<sub>i</sub> autres que zéro ; op. : opérateur ; PSPC (Positive Specimen Process Control): contrôle de traitement d'échantillons positifs ; É-T : écart-type ; Var<sub>tot</sub> : variation (% de variation totale).



---

## Contamination par transfert

L'étude incluait une série de cinq cycles de PCR. Chaque cycle contenait 34 échantillons fortement positifs et 34 échantillons négatifs, placés de manière alternée (comme sur un échiquier). Les 5 cycles PCR en échiquier (utilisés pour évaluer la contamination croisée au sein d'un cycle) ont été interrompus par des cycles PCR négatifs contenant des échantillons entièrement négatifs afin d'évaluer le potentiel de contamination par transfert entre les cycles. L'échantillon fortement positif utilisé dans cette étude était une souche *T. vaginalis* (ATCC 30001) diluée dans les matrices d'urine et de sécrétion vaginale simulée, de manière à atteindre une concentration de  $1 \times 10^5$  cellules/ml. Cette concentration a été définie pour représenter au moins 95 %, ou plus, des résultats obtenus avec les échantillons de patients infectés dans la population ciblée.

Tous les échantillons positifs ont été signalés comme « signal détecté » et tous les échantillons négatifs ont été signalés comme « signal non détecté ». Aucune contamination croisée ou par transfert n'a été observée sur l'ensemble des procédures.

## Substances interférentes

Un panel de substances exogènes et endogènes (répertoriées dans le Tableau 13) susceptibles d'être présentes dans les échantillons de patients a été testé pour déterminer si ces substances entraînaient une réactivité croisée ou des interférences avec la performance du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ. Les substances ont été testées à des concentrations cliniquement pertinentes, en présence (interférence) et en l'absence (réactivité croisée) de cible *T. vaginalis* (ATCC 30001) à une concentration équivalente à 3 fois la LOD, dans les matrices d'urine humaine et de sécrétion vaginale naturelle, respectivement, en trois exemplaires pour chaque substance. Aucune des substances n'a présenté d'interférence / de réactivité croisée avec la détection de *T. vaginalis* par le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ.

**Tableau 13. Substances testées pour leur interférence / réactivité croisée potentielle**

<b>Catégorie de substances interférentes</b>	<b>N°</b>	<b>Ingrédient actif potentiellement interférent</b>	<b>Conc. testée</b>	<b>Réactivité croisée ? Oui / Non</b>	<b>Interférence ? Oui / Non</b>
Lubrifiants vaginaux par ex., lubrifiant anatomique K-Y Jelly	1	Glycérine avec propylène glycol	1 % v/v	Non	Non
Douches, par ex., Douche vaginale Summer's Eve extra nettoyante vinaigre et eau	2	Vinaigre, benzoate de sodium	1 % v/v	Non	Non
Sang total humain	3	Sang total	10 % v/v	Non	Non
Leucocytes humains	4	Leucocytes humains	1 × 10 <sup>6</sup> cellules/ml (urine) 2,5 × 10 <sup>6</sup> cellules/ml (NVF)	Non	Non
Cellules HeLa	5	Cellules HeLa	1 × 10 <sup>5</sup> cellules/ml	Non	Non
ADN génomique humain	6	ADNg humain	500 ng/ml	Non	Non
Spermicides, par ex., gel vaginal contraceptif Options Gynol II	7	Nonoxynol 9, 4 %	1 % (p/v)	Non	Non

<b>Catégorie de substances interférentes</b>	<b>N°</b>	<b>Ingrédient actif potentiellement interférent</b>	<b>Conc. testée</b>	<b>Réactivité croisée ? Oui / Non</b>	<b>Interférence ? Oui / Non</b>
Traitements contre les mycoses vaginales, médicaments anti-fongiques, médicaments anti-démangeaisons	8	Clotrimazole, 1 %	1 % (p/v)	Non	Non
	9	Nitrate de miconazole, 2 %	1 % (p/v)	Non	Non
	10	Crème nystatine (100 000 USP)	1 % (p/v)	Non	Non
	11	Phénazopyridine HCl 200 mg	1 % (p/v)	Non	Non
	12	Itraconazole 100 mg	1 % (p/v)	Non	Non
	13	Tinidazole 250 mg	1 % (p/v)	Non	Non
	14	Terconazole 80 mg	1 % (p/v)	Non	Non
	15	Fluconazole 200 mg	1 % (p/v)	Non	Non
	16	Gel vaginal au métronidazole 0,75 %	1 % (p/v)	Non	Non
	17	Crème vaginale clindamycine 2 %	1 % (p/v)	Non	Non
	18	Isobutane, amidon de maïs, silice hydratée, huile minérale	1 % v/v	Non	Non
Hormones intravaginales, par ex., gel Crinone 8 %, crème vaginale Estrace	19	Progestérone	1 % (p/v)	Non	Non
	20	Œstrogène (œstradiol)	1 % (p/v)	Non	Non

<b>Catégorie de substances interférentes</b>	<b>N°</b>	<b>Ingrédient actif potentiellement interférent</b>	<b>Conc. testée</b>	<b>Réactivité croisée ? Oui / Non</b>	<b>Interférence ? Oui / Non</b>
Liquide séminal humain	21	Liquide séminal humain	5 % v/v	Non	Non
Mucus, par ex., mucus gastrique de porc	22	Mucine	1 % (p/v)	Non	Non
Crème anti-hémorroïdes (test vaginal uniquement), par ex., crème Preparation H apaisante efficacité maximale	23	Glycérine 14,4 %, phényléphrine HCl 0,25 %, pramoxine HCl 1 %	1 % (p/v)	Non	Non
Urine anormale (test urinaire uniquement)	24	Fortement anormale avec urobilinogène (KOVA-Trol I*)	Substitut à l'urine	Non	Non
	25	Urine humaine acide (pH 4,0)	Substitut à l'urine	Non	Non
	26	Urine humaine alcaline (pH 9,0)	Substitut à l'urine	Non	Non

\* Substance achetée auprès de KOVA International. Pour de plus amples informations sur les valeurs de pH, de protéines, de glucose, de corps cétoniques, d'hémoglobine, de bilirubine, de nitrite, de leucocytes estérases, de gravité spécifique, d'osmolalité et de créatine, consultez le site Internet de KOVA International.

LOD (Limit of detection) : limite de détection ; NVF (Natural vaginal fluid) : sécrétion vaginale naturelle.

---

## Évaluation de la performance diagnostique

Une évaluation de la performance diagnostique du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ a été réalisée au cours d'une étude expérimentale prospective, en comparant les résultats du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ à une méthode de référence composite incluant un examen microscopique à l'état frais et un examen microscopique / de culture InPouch TV (Biomed Diagnostics, Inc, White City, OR, USA) pour les échantillons prélevés chez les sujets féminins. Pour les échantillons d'urine prélevés prospectivement chez les sujets masculins, les résultats du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ ont été comparés à une méthode de référence composée d'un examen microscopique / de culture InPouch TV et d'une analyse PCR utilisant des amorces différentes du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ, suivie d'un séquençage bidirectionnel. L'étude urinaire masculine prospective a été remplacée par une étude d'un panel urinaire masculin, en raison de la faible prévalence de *T. vaginalis* chez les sujets masculins participant à l'étude prospective. Pour les échantillons d'urine masculine modifiée, les résultats du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ ont été comparés à la méthode de référence de l'examen microscopique / de culture InPouch TV uniquement. Les échantillons ont été prélevés sur cinq (5) zones géographiques distinctes (5 sites de prélèvement), conformément aux procédures ci-après :

- I Trois (3) prélèvements vaginaux et un (1) prélèvement endocervical ont été collectés par le clinicien chez chaque sujet féminin et un (1) échantillon d'urine auto-prélevé a été prélevé chez chaque sujet féminin et masculin participant à l'étude.
- I Le premier (1) prélèvement vaginal, le prélèvement endocervical (Regular FLOQSwab a été utilisé pour les échantillons vaginaux et endocervicaux), l'échantillon d'urine féminine et l'échantillon d'urine masculine ont été placés dans un tube eNAT individuel contenant 2 ml de solution eNAT pour le test avec le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ.
- I Un examen microscopique à l'état frais a été réalisé immédiatement après le deuxième (2) prélèvement vaginal, sur le site de prélèvement, conformément au processus de niveau de soin de l'établissement pour la microscopie.

- I Le troisième (3) échantillon vaginal (pour la méthode de référence de l'étude féminine) prélevé chez le même sujet féminin a été collecté sur l'instrument approprié (coton-tige jetable) défini sur l'étiquette pour la culture InPouch. L'InPouch a été directement inoculé avec le coton-tige, moins d'une heure après le prélèvement, conformément au mode d'emploi de l'InPouch TV.
- I Pour la méthode de référence de culture de l'étude masculine, l'échantillon d'urine masculine a été prélevé de manière à inoculer directement l'InPouch moins d'une heure après le prélèvement, conformément au mode d'emploi de l'InPouch TV.
- I Pour le test de référence de séquençage / PCR d'urine masculine, un culot créé à partir de 10 ml de la première urine a été re-suspendu dans 1 ml de milieu eNAT et envoyé au laboratoire de référence pour un examen approfondi pour le *T. vaginalis* grâce à une analyse PCR et un séquençage bidirectionnel.

Un échantillon dit « vrai positif au *T. vaginalis* » a été défini comme un échantillon où le *T. vaginalis* est identifié par les deux tests (*artus T. vaginalis* QS-RGQ PCR et l'une des méthodes de référence composites, par exemple, l'examen à l'état frais et/ou InPouch TV pour les échantillons féminins ; InPouch TV et/ou analyse PCR + séquençage pour les échantillons masculins).

Un échantillon dit « faux positif au *T. vaginalis* » a été défini comme un échantillon où le *T. vaginalis* est identifié uniquement par le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ et non par les tests de référence (les deux méthodes de référence doivent être négatives).

Un échantillon dit « faux négatif au *T. vaginalis* » a été défini comme un échantillon où le *T. vaginalis* est identifié uniquement par les tests de référence (l'une des deux ou les deux méthodes de référence), mais pas par le test *artus T. vaginalis* QS-RGQ.

Un échantillon dit « vrai négatif » a été défini comme un échantillon où le *T. vaginalis* n'a été identifié par aucun des tests (le test *artus T. vaginalis* QS-RGQ et les deux méthodes de référence doivent être négatifs).

---

Sur un total de 4 222 échantillons féminins prospectifs (1 408 prélèvements vaginaux, 1 408 prélèvements endocervicaux et 1 406 échantillons d'urine féminine), 84 (20 vaginaux, 42 endocervicaux et 22 urinaires) n'étaient pas disponibles pour les tests, pour diverses raisons (hystérectomie ou problèmes liés au transport ou au prélèvement, par exemple). Sur les 4 138 échantillons disponibles pour les tests (1 388 prélèvements vaginaux, 1 366 prélèvements endocervicaux et 1 384 échantillons d'urine féminine), 228 ont généré des résultats non valides, pour diverses raisons. Toutefois, seulement 25 échantillons (soit 0,6 % du nombre total d'échantillons testés) ont été classés comme « non valides et non résolus »\*, après une analyse des causes profondes. Au final, 3 910 échantillons au total ont donc pu être évalués afin de générer les résultats d'analyse statistique.

Au total, 335 échantillons masculins ont été prélevés prospectivement. Sur ces 335 échantillons, 0 (zéro) a généré des résultats non valides ou indéterminés lorsqu'ils ont été testés avec le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ. 12 échantillons sur 335 ont généré des résultats non valides lors du séquençage de référence, en raison d'un volume d'échantillons insuffisant pour l'extraction d'ADN pour le séquençage bidirectionnel. Par conséquent, 323 échantillons au total ont généré des résultats valides.

Au total, 100 échantillons masculins ont été fabriqués pour la portion modifiée artificielle de l'étude clinique, en raison de la faible prévalence de *T. vaginalis* au sein de la population d'urine masculine. Sur les 100 membres du panel d'urine masculine modifiée testée avec le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ sur EGI MDx et avec des cultures InPouch, 30 échantillons ont été exclus en raison d'erreurs techniques avec le test de culture InPouch. Ainsi, 70 résultats évaluable ont pu être inclus dans l'analyse statistique.

La sensibilité et la spécificité en fonction du sexe, du type d'échantillon et de l'état des symptômes sont répertoriées dans le Tableau 14 pour les échantillons vaginaux et endocervicaux et dans le Tableau 15 pour les échantillons d'urine.

\* lorsqu'ils sont évalués par les contrôles internes, négatifs et positifs de l'analyse.

**Tableau 14. Résultats de l'étude de concordance clinique *T. vaginalis* (kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ vs. méthodes de référence composites) : échantillons vaginaux et endocervicaux**

État	Nb.	VP	FP	VN	FN	% prév.	Sensibilité (IC 95 %)	Spécificité (IC 95 %)	% VPP	% VPN
Prélèvements vaginaux										
Sym.	895	82	20	793	0	9,2	100,0 (95,5– 100)	97,5 (96,2– 98,4)	80,4 (71,6– 86,9)	100,0 (99,5– 100)
Asym.	403	37	4	362	0	9,2	100,0 (90,6– 100)	98,9 (97,2– 99,6)	90,2 (77,5– 96,1)	100,0 (99,0– 100)
Tous	1298	119	24	1155	0	9,2	100,0 (96,9– 100)	98,0 (97,0– 98,6)	83,2 (76,2– 88,5)	100,0 (99,7– 100)
Prélèvements endocervicaux										
Sym.	872	81	9	782	0	9,3	100,0 (95,5– 100)	98,9 (97,9– 99,4)	90,0 (82,1– 94,7)	100,0 (99,5– 100)
Asym.	383	31	2	350	0	8,1	100,0 (89,0– 100)	99,4 (98,0– 99,8)	93,9 (80,4– 98,3)	100,0 (98,9– 100)
Tous	1255	112	11	1132	0	8,9	100,0 (96,7– 100)	99,0 (98,3– 99,5)	91,1 (84,7– 94,9)	100,0 (99,7– 100)

Asym. : asymptomatique ; IC : intervalle de confiance ; FN : faux négatif ; FP : faux positif ; Nb. : nombre ; n/a : non applicable ; VPN : valeur prédictive négative ; Prév. : prévalence ; Pop. : population ; VPP : valeur prédictive positive ; Sym. : symptomatique ; VN : vrai négatif ; VP : vrai positif



**Tableau 15. Résultats de l'étude de concordance clinique *T. vaginalis* (kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ vs. méthodes de référence composites) : échantillons d'urine féminine et masculine**

État	Nb.	VP	FP	VN	FN	% prév.	Sensibilité (IC 95 %)	Spécificité (IC 95 %)	% VPP (IC 95 %)	% VPN (IC 95 %)
Échantillons d'urine féminine										
Sym.	939	88	12	837	2	9,6	97,8 (92,3–99,4)	98,6 (97,5–99,2)	88,0 (80,2–93,0)	99,8 (99,1–99,9)
Asym.	418	37	3	377	1	9,1	97,4 (86,5–99,5)	99,2 (97,7–99,7)	92,5 (80,1–97,4)	99,7 (98,5–100)
Tous	1357	125	15	1214	3	9,4	97,7 (93,3–99,2)	98,8 (98,0–99,3)	89,3 (83,1–93,4)	99,8 (99,3–99,9)
Échantillons d'urine masculine										
Sym.	91	1	1	89	0	1,1	100,0 (20,7–100)	98,9 (94,0–99,8)	50,0 (9,4–90,6)	100,0 (95,9–100)
Asym.	232	7	0	224	1	3,4	87,5 (52,9–97,8)	100,0 (98,3–100)	100,0 (64,6–100)	99,6 (97,5–99,9)
CS	70	25	1	43	1	n/a	96,2 (81,1–99,3)	97,7 (88,2–99,6)	n/a	n/a
Tous	393	33	2	356	2	n/a	94,3 (81,4–98,4)	99,4 (98,0–99,8)	94,3 (81,4–98,4)	99,4 (98,0–99,8)

Asym. : asymptomatique ; IC : intervalle de confiance ; CS (contrived specimen) : échantillon modifié artificiel ; FN : faux négatif ; FP : faux positif ; Nb. : nombre ; n/a : non applicable ; VPN : valeur prédictive négative ; Prév. : prévalence ; Pop. : population ; VPP : valeur prédictive positive ; Sym. : symptomatique ; VN : vrai négatif ; VP : vrai positif.

---

## Analyse des discordances

Pour chaque échantillon discordant, une extraction d'ADN a été effectuée sur l'échantillon clinique restant dans la solution eNAT, suivie d'une analyse PCR avec des amorces différentes de celles utilisées dans le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ. Cette opération a été suivie d'un séquençage bidirectionnel. Une recherche d'homologie BLAST dans la base de données du NCBI a été réalisée sur les séquences afin de confirmer l'identité et l'homologie avec le *T. vaginalis*. Les échantillons ont été considérés comme étant positifs au *T. vaginalis* si le produit de l'analyse PCR affichait une homologie >95 %, avec toutes les souches de *T. vaginalis* identifiées dans la base de données du NCBI.

Au total, 53 échantillons féminins discordants et 2 échantillons discordants masculins ont subi une procédure d'analyse discordante, avec une modification des paramètres de performance finale, selon le Tableau 16, pour les échantillons vaginaux et endocervicaux, et selon le Tableau 17 pour les échantillons d'urine féminine et masculine.

**Tableau 16. Concordance du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ et des méthodes de référence composites – après résolution des discordances : échantillons vaginaux et endocervicaux**

État	Nb.	VP	FP	VN	FN	% prév.	% PPA (IC 95 %)	% NPA (IC 95 %)
Prélèvements vaginaux								
Sym.	887	89	5	793	0	10,0	100,0 (95,9-100)	99,4 (98,5- 99,7)
Asym.	401	38	1	362	0	9,5	100,0 (90,8- 100)	99,7 (98,5- 100)
Tous	1288	127	6	1155	0	9,9	100,0 (97,1- 100)	99,5 (98,9- 99,8)
Prélèvements endocervicaux								
Sym.	871	85	4	782	0	9,8	100,0 (95,7-100)	99,5 (98,7- 99,8)
Asym.	383	32	1	350	0	8,4	100,0 (89,3-100)	99,7 (98,4- 99,9)
Tous	1254	117	5	1132	0	9,3	100,0 (96,8-100)	99,6 (99,0- 99,8)

Asym. : asymptomatique ; IC : intervalle de confiance ; FN : faux négatif ; FP : faux positif ; Nb. : nombre ; NPA (negative percent agreement) : concordance de pourcentage négatif ; PPA (positive percent agreement) : concordance de pourcentage positif ; Prév. : prévalence ; Sym. : symptomatique ; VN : vrai négatif ; VP : vrai positif.

**Tableau 17. Concordance du kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ et des méthodes de référence composites – après résolution des discordances : échantillons d'urine féminine et masculine**

État	Nb.	VP	FP	VN	FN	% prév.	% PPA (IC 95 %)	% NPA (IC 95 %)
Échantillons d'urine féminine								
Sym.	939	96	4	839	0	10,2	100,0 (96,2-100)	99,5 (98,8- 99,8)
Asym.	418	39	1	378	0	9,3	100,0 (91,0-100)	99,7 (98,5- 100)
Tous	1357	135	5	1217	0	9,9	100,0 (97,2-100)	99,6 (99,0- 99,8)
Échantillons d'urine masculine								
Sym.	91	2	0	89	0	2,2	100,0 (34,2- 100)	100,0 (95,9- 100)
Asym.	232	7	0	225	0	3,0	100,0 (64,6- 100)	100,0 (98,3- 100)
CS	70	25	1	43	1	n/a	96,2 (81,1- 99,3)	97,7 (88,2- 99,6)
Tous	393	34	1	357	1	n/a	97,1 (85,5- 99,5)	99,7 (98,4- 100)

Asym. : asymptomatique ; IC : intervalle de confiance ; CS (contrived specimen) : échantillon modifié artificiel ; FN : faux négatif ; FP : faux positif ; Nb. : nombre ; n/a : non applicable ; NPA (negative percent agreement) : concordance de pourcentage négatif ; PPA (positive percent agreement) : concordance de pourcentage positif ; Prév. : prévalence ; Sym. : symptomatique ; VN : vrai négatif ; VP : vrai positif.

---

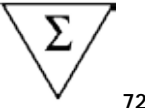





# Références

1. Forna, F. and Gülmezoglu, A.M. (2003). Interventions for treating trichomoniasis in women. Cochrane Database Syst. Rev. CD000218.
2. Van der Pol, B. (2007). *Trichomonas vaginalis* infection: the most prevalent nonviral sexually transmitted infection receives the least public health attention. Clin. Infect. Dis. **44**, 23.
3. World Health Organization. (2001). Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overviews and estimates. Disponible à l'adresse [http://www.who.int/hiv/pub/sti/en/who\\_hiv\\_aids\\_2001.02.pdf](http://www.who.int/hiv/pub/sti/en/who_hiv_aids_2001.02.pdf) (accessed June 13, 2016).
4. Wang, C.C., McClelland, R.S., Reilly, M., Overbaugh, J., Emery, S.R., Mandaliya, K., et al., (2001). The effect of treatment of vaginal infections on shedding of human immunodeficiency virus type 1. J. Infect. Dis. **183**, 1017.
5. Soper, D. (2004). Trichomoniasis: under control or undercontrolled? Am. J. Obstet. Gynecol. **190**, 281.
6. Francis, S.C., Kent, C.K., Klausner, J.D., Rauch, L., Kohn, R., Hardick, A., et al., (2008). Prevalence of rectal *Trichomonas vaginalis* and *Mycoplasma genitalium* in male patients at the San Francisco STD clinic, 2005-2006. Sex Transm. Dis. **35**, 797.
7. [Guideline] Workowski, K.A. and Berman, S.M. (2006). Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006. MMWR Recomm. Rep. **55**, 1.
8. Krieger, J.N., Tam, M.R., Stevens, C.E., Nielsen, I.O., Hale, J., Kiviat, N.B., et al., (1988) Diagnosis of trichomoniasis. Comparison of conventional wet-mount examination with cytologic studies, cultures, and monoclonal antibody staining of direct specimens. JAMA. **259**, 1223.

9. Radonjic, I.V., Dzamic, A.M., Mitrovic, S.M., Arsic Arsenijevic, V.S., Popadic, D.M., Kranjic Zec, I.F. (2006) Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection: The sensitivities and specificities of microscopy, culture and PCR assay. Eur. J. Obstet. Gynecol Reprod Biol. **126**, 116.
10. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010: Diseases Characterized by Vaginal Discharge. Centers for Disease Control and Prevention. Disponible à l'adresse <http://www.cdc.gov/std/treatment/2010/vaginal-discharge.htm#a2> (accessed June 13, 2016).
11. Eckert, J. Protozoa. In: Kayser, F.H., Bienz, K.A., Eckert, J., et al., eds. Color Atlas of Medical Microbiology. 2nd ed. New York, NY: Thieme; 2005.
12. Schwebke, J.R. and Burgess, D. (2004). Trichomoniasis. Clin Microbiol Rev. **17**, 794.
13. Magnus, M., Clark, R., Myers, L., Farley, T., Kissinger, P.J. (2003). *Trichomonas vaginalis* among HIV-Infected women: are immune status or protease inhibitor use associated with subsequent *T. vaginalis* positivity? Sex Transm Dis. **30**, 839.
14. Hobbs, M.M., Kazembe, P., Reed, A.W., Miller, W.C., Nkata, E., Zimba, D., et al. (1999). *Trichomonas vaginalis* as a cause of urethritis in Malawian men. Sex Transm Dis. **26**, 381.
15. Petrin, D., Delgaty, K., Bhatt, R., Garber, G. (1998). Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. Clin. Microbiol. Rev. **11**, 300.
16. Dan, M. and Sobel, J.D. (1996). Trichomoniasis as seen in a chronic vaginitis clinic. Infect. Dis. Obstet. Gynecol. **4**, 77.
17. Marques, M.R.C., Loebenberg, R., and Almukainzi, M. (2011). Simulated biological fluids with possible application in dissolution testing. Dissolution Technol. **18**, 15-28.

# Symboles

Les symboles figurant dans le tableau suivant sont utilisés dans cette notice d'utilisation.

Symbole	Définition des symboles
	Contient suffisamment de réactifs pour 72 tests
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Marquage CE
	Référence du catalogue
	Numéro de lot
	Numéro de matériel

Symbole	Définition des symboles
<b>COMP</b>	Composants
<b>CONT</b>	Contient
<b>MASTER</b>	Master
<b>MG-SOL</b>	Solution de magnésium
<b>IC</b>	Contrôle interne
<b>CONTROL +</b>	<i>T. vaginalis</i> Positive Control
<b>CONTROL -</b>	<i>T. vaginalis</i> Negative control
<b>GTIN</b>	Code d'article commercial international



## Symbole

## Définition des symboles

---

**Rn**

R désigne une révision des instructions d'utilisation (manuel) et n représente le numéro de révision



Limites de température



Fabricant



Utiliser jusqu'au



Consultez le mode d'emploi

# Guide de résolution des principaux problèmes rencontrés

Consultez cette section pour obtenir des informations sur la gestion des erreurs et le dépannage. Si les étapes recommandées ne résolvent pas le problème, contacter les services techniques QIAGEN pour obtenir une assistance, soit via notre centre de support technique à l'adresse [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) en appelant le 00800-22-44-6000 ou en contactant les départements du support technique QIAGEN ou l'un de nos distributeurs locaux.

Problème ou cause possible	Action corrective
----------------------------	-------------------

## Manipulation générale

Message d'erreur affiché sur l'écran tactile

En cas d'affichage d'un message d'erreur pendant un cycle intégré, 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 entamée n'est pas utilisée, veiller à ce que les compartiments contenant les tampons soient scellés avec des bandelettes d'étanchéité.

---

**Problème ou cause possible****Action corrective**

---

b) Stockage de la cartouche de réactif (RC)

Le stockage de la cartouche de réactif (RC) à une température inférieure à 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 minutes en agitant de temps en temps pour dissoudre le précipité. S'assurer de remettre les cuves dans leurs positions correctes. Si la cartouche de réactifs (RC) est déjà entamée, vérifier que les compartiments sont scellés à l'aide de bandelettes d'étanchéité et incuber l'ensemble de la cartouche au bain-marie\* à 37 °C pendant 30 minutes en agitant de temps à autre.

**Faible rendement en acides nucléiques**

a) Remise en suspension incomplète des particules magnétiques

Avant de démarrer la procédure, s'assurer que les particules magnétiques sont totalement remises en suspension. 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.

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

Problème ou cause possible	Action corrective
c) Absence d'ARN entraîneur (CARRIER)	Reconstituer l'ARN entraîneur (CARRIER) dans le tampon AVE (AVE) et mélanger à un volume approprié de tampon AVE (AVE) comme décrit dans la section « Préparation de l'ARN entraîneur (CARRIER) et du contrôle interne (T. vaginalis IC) », page 22. Répéter la purification avec de nouveaux échantillons.
d) Acides nucléiques dégradés	Les échantillons n'ont pas été correctement stockés ou ont subi trop de cycles de congélation-décongélation. Répéter la purification avec de nouveaux échantillons.
e) Lyse incomplète des échantillons	Avant emploi, vérifier que les tampons QSL2 et QSB1 ne contiennent pas de précipité. Si nécessaire, retirer les compartiments contenant les tampons QSL2 et QSB1 de la cartouche de réactifs (RC) et les incubent 30 minutes 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 incubent l'ensemble de la cartouche au bain-marie à 37 °C pendant 30 minutes en agitant de temps en temps.*

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

Problème ou cause possible	Action corrective
f) Obstruction du cône de pipette par une substance insoluble	<p>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, centrifuger l'échantillon à 3 000 x g pendant 1 minute et transférer le surnageant dans un nouveau tube d'échantillon.</p>
QIASymphony AS détecte un volume de Master insuffisant transféré dans le tube	<p>Combiner les contenus d'un nombre approprié de tubes Master dans un seul tube avant utilisation. Combiner les contenus d'un nombre approprié de tubes Mg-Sol dans un seul 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).</p> <p>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.</p>

## Problème ou cause possible

## Action corrective

---

### Aucun signal pour les témoins positifs

- |  |   |
|--|---|
| a) 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 « Jeux de contrôles et de paramètres d'analyse », page 24. |
| b) Les conditions de stockage d'un ou plusieurs composants du kit ne respectaient pas les instructions fournies dans la rubrique « Stockage et manipulation des réactifs » (page 16) | Vérifier les conditions de conservation et la date de péremption (voir l'étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit si nécessaire.   |
| c) Le kit <i>artus T. vaginalis</i> QS-RGQ est périmé  | Vérifier les conditions de conservation et la date de péremption (voir l'étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit si nécessaire.   |

### Signal faible ou inexistant du contrôle interne d'un échantillon négatif soumis à purification au moyen du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen et absence simultanée d'un signal d'échantillon

- |                         |  |
|-------------------------|--|
| a) La PCR a été inhibée | Veiller à ce que la méthode d'isolement validée soit utilisée (voir « Protocole : Isolement de l'ADN et configuration de test sur le QIASymphony SP/AS », page 25) et suivre les instructions à la lettre. |
|-------------------------|--|

## Problème ou cause possible

## Action corrective

b) De l'ADN a été perdu lors de l'extraction

L'absence de signal du contrôle interne peut indiquer la perte d'ADN au cours de l'extraction. Veiller à ce que la méthode d'isolement validée soit utilisée (voir « Protocole : Isolement de l'ADN et configuration de test sur le QIASymphony SP/AS », page 25) et suivre les instructions à la lettre.

Consulter également la section « Faible rendement en acides nucléiques » ci-dessus.

c) Les conditions de stockage d'un ou plusieurs composants du kit ne respectaient pas les instructions fournies dans la rubrique « Stockage et manipulation des réactifs » (page 16)

Vérifier les conditions de conservation et la date de péremption (voir l'étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit si nécessaire.

d) Le kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ est périmé

Vérifier les conditions de conservation et la date de péremption (voir l'étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit si nécessaire.

## Signaux avec les contrôles négatifs de la PCR analytique

a) Contamination lors de la préparation de la PCR

Recommencer le cycle intégré du QS-RGQ avec de nouveaux réactifs.

Si possible, fermer les tubes de PCR juste après l'addition de l'échantillon à tester.

S'assurer que les surfaces de travail et les appareils sont décontaminés régulièrement.

---

**Problème ou cause possible****Action corrective**

---

b) Contamination lors de l'extraction

Répéter la procédure d'extraction et la PCR des échantillons à analyser en utilisant des réactifs encore non utilisés.

S'assurer que les surfaces de travail et les appareils sont décontaminés régulièrement.



## Pour commander

Produit	Contenu	N° réf.
<i>artus T. vaginalis</i> QS-RGQ Kit (72)	Pour 72 réactions : Master, solution magnésium, contrôle interne, <i>T. vaginalis</i> Positive Control, <i>T. vaginalis</i> Negative Control.	4571366
<b>Produits connexes</b>		
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (92)	2 cartouches de réactifs, portoirs de tubes d'enzyme et accessoires inclus	939016
QIASymphony SP	Module de préparation des échantillons QIASymphony, garantie 1 an pièces et main-d'œuvre	9001297
QIASymphony AS	Module de préparation de la PCR du système QIASymphony, garantie d'un an, pièce et main d'œuvre	9001301
Rotor Gene Q AssayManager Software versions 1.0.X where X ≥ 4	Logiciel pour l'analyse de routine en combinaison avec les appareils Rotor-Gene Q et QIASymphony RGQ ; licence pour un seul logiciel à installer sur un seul ordinateur	9022737
Rotor Gene Q MDx Cycler	Thermocycleur pour PCR en temps réel et analyseur de fusion haute résolution à 5 canaux (vert, jaune, orange, rouge et pourpre) plus canal HRM, ordinateur portable, logiciel, accessoires : garantie 1 an pièces et main-d'œuvre, installation et formation non comprises	9002032

---

Cette page est intentionnellement laissée vierge.

Marques déposées : QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); ATCC® (American Type Culture Collection); BD® (Becton, Dickinson and Company); Corning® (Corning Inc.); eNAT®, FLOQSwab™ (Copan Diagnostics Inc.), Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

#### Accord de licence limitée pour le kit *artus T. vaginalis* 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](http://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 sa 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 toute licence, expresse ou tacite, autre 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 dans les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de ce Contrat de licence limité 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 ce Contrat de licence limité 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](http://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-2296-002 11102416 154022896 10-2017

© 2017 QIAGEN, tous droits réservés.

---

Pour commander [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Support technique [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site Web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)