

# Manuel du kit *artus*<sup>®</sup> GBS QS-RGQ



Version 1

**IVD**

Diagnostics in vitro qualitatifs

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



**REF**

4576366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

Fabriqué par **IMD**<sub>KL</sub> QIAGEN

**R3** **MAT** 1078211FR



## **QIAGEN Sample & Assay Technologies**

QIAGEN est le premier fournisseur de technologies novatrices d'échantillons et d'analyses, permettant d'isoler et de détecter le contenu de n'importe quel échantillon biologique. Nos produits et services ultramodernes de grande qualité garantissent un succès total, de l'échantillon jusqu'au résultat.

### **QIAGEN fixe les normes en matière de :**

- purification d'ADN, d'ARN et de protéines ;
- analyse d'acides nucléiques et de protéines ;
- recherche de microARN et interférence ARN ;
- automatisation des technologies d'échantillons et d'analyses.

Notre mission est de permettre à notre clientèle de réussir et d'accomplir des progrès décisifs. Pour plus d'informations, visiter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Sommaire

Utilisation prévue	4
Résumé et description	4
Informations sur l'agent pathogène	4
Principe de la technique	4
Matériel fourni	5
Contenu du kit	5
Matériel nécessaire mais non fourni	5
Avertissements et précautions	7
Informations de sécurité	7
Précautions générales	8
Stockage et manipulation des réactifs	9
Manipulation et conservation des échantillons	9
Procédure	11
Contrôles	12
Préparation de l'ARN entraîneur (CARRIER) et du contrôle interne (contrôle interne GBS)	12
Jeux de contrôles et de paramètres d'analyse	14
Protocoles	
■ Isolement de l'ADN et configuration de test sur le QIAAsymphony SP/AS	15
■ PCR sur l'appareil Rotor-Gene Q	30
Interprétation des résultats	34
Résolution des principaux problèmes rencontrés	40
Contrôle qualité	45
Limitations	46
Caractéristiques de performance	46
Références	46
Symboles	47
Coordonnées	48
Pour commander	49

## Utilisation prévue

Le kit *artus* GBS QS-RGQ est un test d'amplification d'ADN par PCR en temps réel réalisé sur les appareils QIA Symphony SP/AS et Rotor-Gene Q pour la détection qualitative directe du streptocoque du groupe B (GBS) dans des cultures de bouillon de Lim (Lim Broth) enrichies (croissance effectuée pendant 18–24 heures) d'échantillons vaginaux/rectaux prélevés sur écouvillons chez des femmes en période prénatale.

Le kit *artus* GBS QS-RGQ est conçu pour être utilisé comme une aide à la détection d'une colonisation par le GBS chez la femme en période prénatale. Des isolats de culture sont nécessaires à la réalisation des tests de sensibilité, comme recommandé pour les femmes allergiques à la pénicilline.

## Résumé et description

Le kit *artus* GBS QS-RGQ constitue un système prêt à l'emploi pour la détection de l'ADN du streptocoque du groupe B par le biais d'une amplification en chaîne par polymérase (PCR) sur les appareils Rotor-Gene Q avec préparation d'échantillon et configuration de test au moyen des appareils QIA Symphony SP et AS.

## Informations sur l'agent pathogène

Les streptocoques du groupe B (GBS), comprenant l'espèce *Streptococcus agalactiae*, sont des cocci formant des chaînes, à Gram-positif, bêta-hémolytiques, qui sont les principaux responsables des septicémies mortelles et de la méningite chez les nouveaux-nés, entraînant des taux de morbidité et de mortalité élevés (1). Environ 25 % des femmes enceintes sont colonisées par le GBS et peuvent transmettre la bactérie aux nouveaux-nés *in utero* ou lors de la naissance vaginale. Les directives des Centers for Disease Control and Prevention (centres de contrôle et de prévention des maladies, CDC) recommandent un dépistage prénatal chez la femme enceinte, au cours des semaines 35–37 de sa grossesse, afin de prévenir toute transmission aux nouveaux-nés (2). Les tests d'amplification d'acides nucléiques se sont avérés plus sensibles que les procédés de culture traditionnels et peuvent aider à identifier une population plus large de mères colonisées par le GBS (3).

## Principe de la technique

Les solutions GBS Master A et GBS Master B contiennent des réactifs et des enzymes pour l'amplification spécifique de régions cibles du génome du GBS et



pour la détection directe de l'amplicon spécifique dans le canal de fluorescence Cycling Green du Rotor-Gene Q.

En outre, le kit *artus* GBS QS-RGQ contient un second système de contrôle hétérologue permettant d'identifier d'éventuels dysfonctionnements sur tout le processus d'analyse. Cette détection se fait sous forme de contrôle interne (IC) dans le canal de fluorescence Cycling Red des appareils Rotor-Gene Q.

## Matériel fourni

Le contenu du kit *artus* GBS 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.

## Contenu du kit

<b><i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit</b>				<b>(72)</b>
<b>Référence</b>				<b>4576366</b>
<b>Nombre de réactions</b>				<b>72</b>
Bleu	GBS Master A	<b>MASTER</b>   <b>A</b>	3 x 330 µl	
Violet	GBS Master B	<b>MASTER</b>   <b>B</b>	3 x 600 µl	
Vert	GBS Internal Control (contrôle interne GBS)	<b>IC</b>	3 x 540 µl	
Rouge	GBS Positive Control (contrôle positif GBS)	<b>CONTROL</b>   <b>+</b>	3 x 330 µl	
Blanc	GBS Negative Control (contrôle négatif GBS)	<b>CONTROL</b>   <b>-</b>	3 x 330 µl	
<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit Handbook (Manuel du kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ) (anglais)				1

## Matériel nécessaire mais non fourni

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées disponibles auprès du fournisseur du produit.

## **Adaptateurs pour QIAasympphony SP**

- Portoir de microtubes QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, référence 9020730) avec châssis de transfert pour QIAasympphony SP/AS
- Élément d'insertion de tube 3B (Insert, 2.0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, référence 9242083)

## **Consommables et réactifs pour QIAasympphony SP**

- QIAasympphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (référence 937036)
- 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, 1500 µl (cônes munis de filtres) (référence 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (cônes munis de filtres) (référence 990332)
- Elution Microtubes CL (microtubes d'élution CL) (EMTR) (référence 19588)
- Tip disposal bags (sachets de récupération des cônes usagés) (référence 9013395)
- Microtubes sans jupe de 2,0 ml, type H (référence 72.693) ou microtubes à jupe de 2,0 ml, type I (Sarstedt®, référence 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)) 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 ; BD™ était l'ancien fournisseur de ces tubes ; Corning, Inc. est le fournisseur actuel), pour une utilisation avec les échantillons et le contrôle interne

## **Adaptateurs et supports pour réactif pour QIAasympphony AS**

- Adaptateur réfrigérant 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, référence 9018090)
- Rangées de tubes RG 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, référence 9018092)

## **Consommables pour QIAasympphony AS**

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (rangées de tubes et de bouchons) (référence 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (tubes coniques) (référence 997102)

- Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (tubes coniques) (référence 997104)
- Filter-Tips, 1500 µl (cônes munis de filtres) (référence 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (cônes munis de filtres) (référence 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (cônes munis de filtres) (référence 997120)
- Tip disposal bags (sachets de récupération des cônes usagés) (référence 9013395)

### **Matériel standard de laboratoire**

- Pipettes (réglables)\* et cônes de pipettes stériles munis de filtres
- Mixeur Vortex\*
- Centrifugeuse de paillasse\* avec rotor pour tubes réactionnels de 2 ml

### **Matériel pour la préparation des échantillons et la configuration de l'analyse**

- QIASymphony SP (référence 9001297),\* version logicielle 4.0 ou supérieure
- QIASymphony AS (référence 9001301),\* version logicielle 4.0 ou supérieure

### **Équipement pour la PCR**

- Appareil Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM\*†
- Rotor-Gene AssayManager® version 1.0 ou supérieure

## **Avertissements et précautions**

Pour utilisation en diagnostic in vitro

### **Informations de sécurité**

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, veuillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Elles sont disponibles en ligne au format PDF à l'adresse

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

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

[www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) où vous pouvez trouver, consulter et imprimer les FDS de chaque kit et composant de kit QIAGEN®.

Pour lire les informations de sécurité sur le kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini, consulter le mode d'emploi (manuel) du kit *QIASymphony DSP Virus/Pathogen (QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit Instructions for Use)* fourni avec le kit. Pour lire les informations de sécurité sur les appareils, consulter les manuels d'utilisation suivants : Manuel d'utilisation du QIASymphony SP/AS — Description générale (*QIASymphony SP/AS User Manual — General Description*), Manuel d'utilisation du QIASymphony SP/AS — Utilisation du QIASymphony SP (*QIASymphony SP/AS User Manual — Operating the QIASymphony SP*), Manuel d'utilisation du QIASymphony SP/AS — Utilisation du QIASymphony AS (*QIASymphony SP/AS User Manual — Operating the QIASymphony AS*), Manuel d'utilisation du QIASymphony Management Console (*QIASymphony Management Console User Manual*), Manuel d'utilisation de l'application principale Rotor-Gene AssayManager (*Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual*), Manuel d'utilisation du module d'extension de base *artus* (*artus Basic Plug-in User Manual*) et le manuel d'utilisation livré avec l'appareil Rotor-Gene Q.

Mettre au rebut les déchets d'échantillons et de tests conformément aux règles de sécurité locales.

Les mentions de danger et conseils de prudence suivants s'appliquent aux composants du kit *artus* GBS QS-RGQ :

### GBS Positive Control



Contient un mélange de 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one et de 2-méthyl-isothiazol-3(2H)-one (3:1). Attention ! Peut provoquer une réaction allergique cutanée. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage

### Précautions générales

Toujours respecter les mesures suivantes :

- Utiliser des cônes de pipette stériles avec filtre.
- Pendant les étapes manuelles, laisser les tubes fermés si possible et éviter la contamination.
- Décongeler tous les composants pour les amener à température ambiante (15 à 25 °C) avant le début du test.

- Une fois décongelés, mélanger les composants (en pipetant plusieurs fois ou en mélangeant par vortexages brefs et répétés) et centrifuger brièvement. Vérifier que les tubes de réactifs ne contiennent pas de mousse ou de bulles.
- Ne pas mélanger de composants issus de kits portant des numéros de lots différents.
- Respecter les précautions universelles. Tous les échantillons de patients doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de manière appropriée.
- Vérifier que les adaptateurs nécessaires sont prérefrigérés entre 2 et 8 °C.
- Travailler rapidement et laisser les réactifs pour PCR dans de la glace ou dans un bloc réfrigérant avant le chargement.
- Toujours suivre le flux de travail dans l'ordre. Le temps de transfert entre les appareils QIASymphony AS et Rotor-Gene Q ne doit pas dépasser 30 minutes.
- Vérifier que l'entretien a été effectué et que les pièces de rechange (par exemple les protège-cônes) ont été remises en place.
- Vérifier que les fichiers de processus d'application (Application Process) et le module d'extension du Rotor-Gene AssayManager sont installés.

## Stockage et manipulation des réactifs

Les composants du kit *artus* GBS QS-RGQ doivent être stockés entre –30 et –10 °C et sont stables jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'étiquette. Il faut éviter la congélation-décongélation répétée (>3 x), car elle peut amoindrir la sensibilité du test. Tous les réactifs chargés dans le QIASymphony AS ne peuvent être utilisés que pour ce cycle. Ne pas retirer les composants résiduels pour les utiliser dans le cadre d'une deuxième PCR.

## Manipulation et conservation des échantillons

D'autres informations sur la manipulation et le stockage d'échantillons de bouillon de LIM sont fournies dans le Tableau 1.



Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

**Tableau 1. Manipulation, stockage et préparation d'échantillons de bouillon de LIM**

Prélèvement des échantillons	Un échantillon vaginal-rectal est prélevé sur écouvillon et transporté au laboratoire en utilisant des systèmes de transport d'écouvillon standard contenant un milieu de transport non nutritif (par ex., un milieu Amies ou Stuart). Dans le laboratoire, l'écouvillon est retiré du milieu de transport et placé dans un bouillon sélectif de Lim (Bouillon de Todd-Hewitt complété avec de la colistine [10 µg/ml] et de l'acide nalidixique [15 µg/ml]). Après avoir incubé une culture de bouillon de Lim ensemencée pendant 18–24 heures à une température de 35 °C ± 2 °C à l'air ambiant ou sous une atmosphère contenant 5 % de CO <sub>2</sub> , une fraction aliquote du bouillon est analysée en utilisant le kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ.
Transport des échantillons	Transport en récipient incassable Expédition dans les 24 heures suivant le prélèvement Envoi postal conforme à la législation en vigueur en matière de transport d'agents pathogènes* Les échantillons doivent être expédiés sous forme réfrigérée (2 à 8°C)
Stockage des échantillons (temps requis pour le transport inclus)	2–8 °C pendant 7 jours max. –30 à –10 °C pendant 30 jours max.
Préparation des échantillons	Placer 350 µl d'une culture de bouillon de Lim après incubation dans un microtube Sarstedt de 2,0 ml et charger le tout dans le QIAasympyphony SP

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

# Procédure

**Tableau 2. Informations générales**

Kit	<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit, <b>REF</b> 4576366
Matériel de prélèvement	Cultures enrichies de bouillon de Lim (croissance pendant 18–24 heures à 35 °C ± 2 °C) préparées à partir d'échantillons vaginaux/rectaux prélevés sur écouvillon, chez des femmes en période prénatale
Purification en amont	QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (référence 937036)
Volume d'échantillon (dont volume excédentaire)	350 µl
Jeu de paramètres d'analyse	<i>artus</i> _GBS_broth200_V1
Jeu de contrôles d'analyse par défaut	Complex200_V6_DSP_ <i>artus</i> _GBS
Volume d'élution	60 µl
Version logicielle requise pour le QIAasymphony	Version 4.0 ou supérieure
Profil de configuration requis pour le QIAasymphony 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* (y compris tous les contrôles à charger sur les appareils QIAasymphony SP et QIAasymphony AS)
Durée du cycle dans le système QIAasymphony SP/AS	Pour 24 réactions : environ 90 minutes Pour 72 réactions : environ 280 à 290 minutes
Durée du cycle dans l'appareil Rotor-Gene Q	Environ 120 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 contrôle positif GBS (fourni avec le kit *artus* GBS QS-RGQ) permet de surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'essai en aval. Ce contrôle positif est chargé dans le QIAAsymphony SP avant la purification de l'ADN (voir l'étape 7, page 21 pour plus d'informations sur le chargement du contrôle positif).

### Contrôle négatif

Le contrôle négatif GBS (fourni avec le kit *artus* GBS QS-RGQ) est chargé dans le QIAAsymphony SP avant la purification de l'ADN, à la place d'un échantillon de patient, et permet de détecter toute contamination au cours de la préparation des échantillons et/ou de l'essai en aval (voir l'étape 7, page 21 pour plus d'informations sur le chargement du contrôle négatif).

## Préparation de l'ARN entraîneur (CARRIER) et du contrôle interne (contrôle interne GBS)

L'emploi des kits QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen avec le kit *artus* GBS QS-RGQ nécessite l'introduction du contrôle interne (contrôle interne GBS), constitué d'ADN de plasmide artificiel en solution tamponnée, dans la procédure de purification pour surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'essai en aval.

Le contrôle interne (contrôle interne GBS), fourni avec le kit *artus* GBS QS-RGQ, doit être ajouté avec le mélange ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE). Le volume total du mélange contrôle 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 QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini, pour remettre en suspension l'ARN entraîneur (CARRIER) lyophilisé. Mélanger en retournant le tube.

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

Le tableau 3 présente l'addition du contrôle interne à l'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 3. Préparation de l'ARN entraîneur (CARRIER) et du contrôle interne (contrôle interne GBS)**

<b>Composant</b>	<b>n = nombre d'échantillons et de contrôles</b>	
	<b>n ≤ 13 Volume (µl) (tubes Sarstedt)*</b>	<b>n &gt; 13 Volume (µl) (tubes BD™)†</b>
Solution mère d'ARN entraîneur (CARRIER)	$(n + 3) \times 3$	$(n + 5) \times 3$
Contrôle interne (contrôle interne GBS)	$(n + 3) \times 9$	$(n + 5) \times 9$
Tampon AVE (AVE)	$(n + 3) \times 108$	$(n + 5) \times 108$
<b>Volume final par échantillon (hors volume mort)</b>	<b>120</b>	<b>120</b>
<b>Volume total pour n échantillons</b>	<b><math>(n + 3) \times 120</math></b>	<b><math>(n + 5) \times 120</math></b>

\*Microtubes 2,0 ml Type H et Microtubes 2,0 ml Type I (microtubes Sarstedt, références 72.693 et 72.694). Si le contrôle interne est préparé sous forme de solution mère dans un tube plus gros, multiplier le volume total de chaque composant par le nombre de tubes de contrôle interne 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 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (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 « Complex200\_V6\_DSP\_artus\_GBS » (Complex200\_V6\_DSP\_artus\_GBS) dans la liste déroulante de l'ACS.
4. Saisir le nombre d'échantillons requis.
5. Sélectionner le matériel de laboratoire utilisé pour le contrôle interne.

6. Sélectionner un volume d'élution de 60 µl.
7. Sélectionner « Internal Control/Eluate » (contrôle interne/éluat) et « 0.1 µl » (0,1 µl) pour le mode de contrôle interne.
8. Appuyer sur « Calculate » (calculer) pour démarrer le calcul du mélange de contrôle interne.

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_GBS_broth200_V1` est directement associé au premier jeu de contrôle d'analyse `Complex200_V6_DSP_artus_GBS`, spécifiant le processus de purification d'échantillon associé.

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

## Remarques importantes avant de commencer

- S'assurer de bien connaître le fonctionnement des appareils QIAasymphony SP/AS. Se référer aux manuels d'utilisation fournis avec les appareils et aux versions les plus récentes disponibles en ligne sur le site [www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx](http://www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx) pour le mode d'emploi.
- Télécharger l'Application Package (paquet d'applications) via la fonction « Protocol Files » (fichiers de protocoles) sous l'onglet « Resources » (ressources) de la page de catalogue web *artus* GBS QS-RGQ Kit ([www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE](http://www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE)).
- Avant la première utilisation d'une cartouche de réactifs (RC), vérifier que les tampons QSL2 et QSB1 dans la cartouche de réactifs (RC) ne contiennent pas de précipité. Si nécessaire, retirer les compartiments contenant les tampons QSL2 et QSB1 de la cartouche de réactifs et les incuber 30 min à 37 °C en agitant de temps en temps pour dissoudre le précipité. Veiller à remettre les compartiments à la bonne position. Si la cartouche de réactifs (RC) est déjà entamée, vérifier que les compartiments sont scellés à l'aide de bandelettes d'étanchéité et incuber l'ensemble de la cartouche au bain-marie à 37 °C pendant 30 min en agitant de temps en temps.\* Laisser les réactifs revenir à la température ambiante (15–25 °C).
- 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).
- Éviter d'agiter vigoureusement la cartouche de réactifs (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.
- Travailler rapidement et laisser les réactifs pour PCR dans de la glace ou dans un bloc réfrigérant avant le chargement.
- Les volumes de réactifs sont optimisés pour 3 lots de 24 réactions par kit et par cycle.
- S'assurer que les éluats de la préparation des échantillons et tous les composants du kit *artus* GBS QS-RGQ ne restent pas dans l'appareil plus longtemps que le temps normal nécessaire à la purification des échantillons

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

et à la configuration de test de 72 réactions d'essai, comprenant jusqu'à 30 minutes de temps de transfert du QIAAsymphony AS à l'appareil Rotor-Gene Q.

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

## Avant de commencer

- Avant chaque utilisation, tous les réactifs d'essai du kit *artus* GBS QS-RGQ doivent être complètement décongelés, mélangés (par pipetage ou vortexage bref) et centrifugés pendant au moins 3 secondes. Éviter la formation de bulles et de mousse avec les réactifs.
- Préparer tous les mélanges requis. Si nécessaire, préparer les mélanges contenant l'ARN entraîneur (CARRIER) et les contrôles internes juste avant de commencer. Plus plus d'informations, voir la rubrique « Préparation de l'ARN entraîneur (CARRIER) et du contrôle interne (contrôle interne GBS) », page 12.
- 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 QIAAsymphony SP/AS - Description générale, manuel d'utilisation du QIAAsymphony SP/AS - Utilisation du QIAAsymphony SP, manuel d'utilisation du QIAAsymphony SP/AS - Utilisation du QIAAsymphony AS et manuel d'utilisation du QIAAsymphony Management Console. Veiller à effectuer la maintenance régulièrement pour minimiser le risque de contamination croisée.
- S'assurer que le profil de traitement « Default Profile 1 » (profil par défaut 1) du QIAAsymphony 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

### Purification bactérienne sur le QIAAsymphony SP

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

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

**3. Se connecter à l'appareil.**

**4. Préparer le tiroir « Waste » (déchets) du QIASymphony SP.**

- Ouvrir le tiroir « Waste ».
- 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.
- 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.

- Insérer le poste de réserve de cônes.
- Insérer des boîtes d'unités vides (voir le tableau 4 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).
- Installer un sachet pour cônes usagés vide (sous le tiroir à déchets lors d'une utilisation sur paillasse ou dans la poubelle en cas d'utilisation du QIASymphony Cabinet SP/AS).
- Fermer le tiroir « Waste » et effectuer un inventaire.

**Tableau 4. Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1–3**

	Un lot, 24 échantillons*	Deux lots, 48 échantillons	Trois lots, 72 échantillons
<b>Boîtes d'unités vides</b>	2	3	4



**Figure 1. Position des boîtes d'unités (1–4).**

## 5. Charger le tiroir « Eluate » (éluates).

- Placer l'adaptateur (portoir de microtubes d'élution QS, Elution Microtubes Rack QS) sur le châssis de transfert.
- Ouvrir le tiroir « Eluate ».
- Placer l'ensemble constitué de l'adaptateur et du châssis de transfert dans l'emplacement 1 du tiroir « Eluate ».
- Sélectionner « Elution Slot 1 » (emplacement d'élution 1) sur l'écran tactile.
- Retirer la partie inférieure du portoir de microtubes d'élution CL (Elution Microtubes CL rack) en tournant le portoir jusqu'à ce que la base se libère.
- Lire le code-barres du portoir de microtubes d'élution CL à l'aide du lecteur de code-barres portatif.
- Insérer le portoir dans l'adaptateur en position « Elution Slot 1 ».
- Retirer le couvercle du portoir de microtubes d'élution CL.
- Fermer le tiroir « Eluate ».
- Appuyer sur « OK ».
- Patienter jusqu'à la fin de la lecture.

## 6. Charger le tiroir « Reagents and Consumables » (réactifs et consommables) (Figure 2).

- Ouvrir le tiroir « Reagents and Consumables ».
- Se munir de la cartouche de réactifs (RC) et, avant la première utilisation, vérifier que les tampons QSL2 et QSB1 de la cartouche ne contiennent pas de précipité. Si les tampons QSL2 et QSB1 contiennent un précipité, suivre les instructions de la page 15.

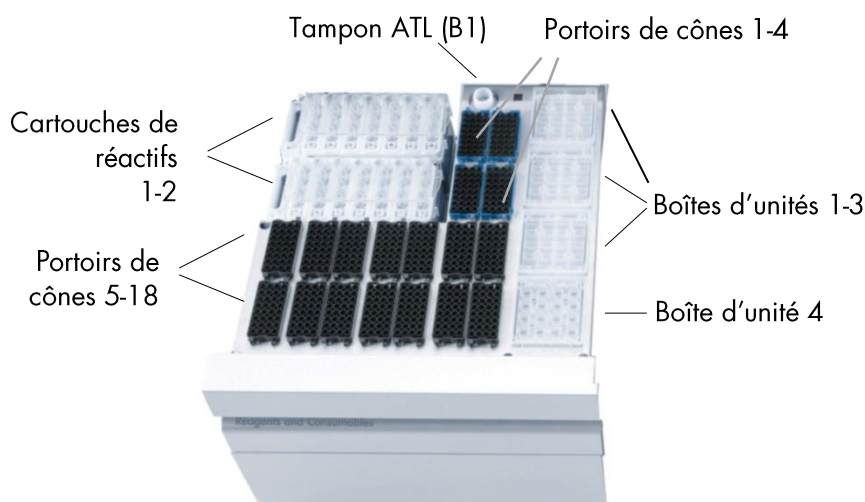
**Remarque :** Éviter d'agiter vigoureusement la cartouche de réactifs (RC) afin de ne pas former de mousse, source potentielle de problèmes de détection du niveau de liquide.

- Placer la cartouche de réactifs (RC) dans le support pour cartouche de réactifs.
- S'assurer que les particules magnétiques soient parfaitement remises en suspension. Mélanger vigoureusement par vortexage le compartiment contenant les particules magnétiques pendant au moins 3 minutes avant utilisation. Replacer le compartiment contenant les particules magnétiques dans la cartouche de réactifs (RC).

- Avant de charger la cartouche de réactifs (RC), retirer le couvercle du compartiment contenant les particules magnétiques.
- Ouvrir les tubes d'enzymes. Placer les couvercles des tubes d'enzymes sur les porte-bouchons du support pour cartouche de réactifs.

**Remarque :** Si les tubes d'enzymes contiennent des bulles d'air, aspirer les bulles à la surface.

- Monter le portoir de tubes d'enzymes (ER) sur la cartouche de réactifs (RC).
- Monter le couvercle de perforation (PL) sur la cartouche de réactifs (RC) et fixer le tout délicatement.
- 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 96 échantillons maximum.
- Appuyer sur le bouton « R+C » de l'écran tactile.
- Appuyer sur le bouton « Bottle ID » (ID (identifiant) du flacon).
- 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 QIASymphony SP.**

- 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 15.
- Placer le flacon de tampon ATL (ATL) en position B1, qui se situe à côté de l'emplacement 1 de la cartouche de réactifs (RC 1).

**Remarque** : Éviter d'agiter vigoureusement le flacon de tampon afin de ne pas former de mousse. Cela pourrait entraîner des problèmes de détection du niveau de liquide.

- Charger suffisamment de portoirs de cônes à filtres jetables de 200 µl dans les positions de support de portoir à cônes 1-4 (voir le tableau 5, page 21).
- Charger suffisamment de portoirs de cônes à filtres jetables de 1 500 µl dans les positions de support de portoir à cônes 5-18 (voir le tableau 5, page 21).
- Veiller à convenablement fixer les portoirs.

**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.

- Retirer le couvercle des boîtes d'unités pour les cartouches de préparation d'échantillons et charger suffisamment de cartouches de préparation d'échantillons dans les positions de support de boîte d'unités 1-3 (voir le tableau 5, page 21).
- Retirer le couvercle de la boîte d'unités des manchons pour 8 barreaux et charger la boîte d'unités avec suffisamment de manchons pour 8 barreaux dans la position de support de boîte d'unités 4 (voir le tableau 5, page 21).

**Remarque** : 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.

- Appuyer sur « OK » à l'écran des consommables.
- Fermer le tiroir « Reagents and Consumables » et effectuer un inventaire.



**Tableau 5. Matériel en plastique requis pour les lots d'échantillons 1–3**

	<b>Un lot, 24 échantillons*</b>	<b>Deux lots, 48 échantillons*</b>	<b>Trois lots, 72 échantillons*</b>
<b>Cônes à filtres jetables, 200 µl<sup>†‡</sup></b>	34 (1 portoir)	60 (2 portoirs)	86 (3 portoirs)
<b>Cônes à filtres jetables, 1 500 µl<sup>†‡</sup></b>	123 (4 portoirs)	205 (7 portoirs)	295 (10 portoirs)
<b>Cartouches de préparations d'échantillons</b>	18	36	54
<b>Manchons pour 8 barreaux</b>	3	6	9

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

† Il y a 32 cônes à filtres/portoir de cônes, 28 cartouches de préparation d'échantillons/boîte d'unités et douze manchons pour 8 barreaux/boîte d'unités.

‡ Le nombre de cônes à filtres requis comprend les cônes à filtres nécessaires à un inventaire dans chaque cartouche de réactifs.

## **7. Charger le tiroir « Sample » (échantillon) avec les contrôles positif et négatif.**

- Placer le tube contenant le contrôle positif GBS (fourni avec le kit *artus* GBS QS-RGQ) dans la position 1 du premier porte-échantillon (utiliser l'élément d'insertion de tube 3B pour microtubes de 2 ml).
- Placer le tube contenant le contrôle négatif GBS (fourni avec le kit *artus* GBS QS-RGQ) dans la position 2 du premier porte-échantillon (utiliser l'élément d'insertion de tube 3B pour microtubes de 2 ml).

**Remarque :** Veiller à charger les contrôles positif et négatif dans la bonne position. L'application Rotor-Gene AssayManager n'importera pas le fichier de résultats si les contrôles positif et négatif sont placés dans une autre position. Ne pas charger les contrôles dans des supports supplémentaires pour le même lot AS.

**Remarque :** La position des échantillons et des contrôles dans le portoir à essais peut être affichée avant de démarrer le cycle. Une fois le lot AS créé (étape 11, page 23), appuyer sur le bouton du tiroir « Assays » (essais) à l'écran tactile et sélectionner l'emplacement « Assay » respectif. Le type

d'échantillon de chaque position sera affiché (« Type » (type)), en appuyant sur le bouton à bascule « Sample ».

## 8. Charger le tiroir « Sample » (échantillon) avec les échantillons.

- Charger les échantillons préparés (voir page 10) dans les microtubes de 2 ml dans le portoir pour tubes à échantillons contenant déjà les contrôles (utiliser l'élément d'insertion de tube 3B pour microtubes de 2 ml).
- Si nécessaire, préparer d'autres portoirs de tubes d'échantillons de la manière précitée. Ne pas ajouter de contrôles supplémentaires aux porte-échantillons devant être combinés avec le même lot AS (voir étape 11).

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

- Vérifier que les tubes d'échantillons et les tubes de contrôles sont correctement chargés et fixés.
- Insérer tous les portoirs à 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.

## 9. 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.

- Appuyer sur l'onglet « Integrated Run » de l'écran tactile.
- Appuyer sur « Define run » (définir le cycle).
- Sélectionner l'option « SP Batch 1 » (lot SP 1) (ou le numéro de lot approprié du porte-échantillons avec la fonction « Full Process Controls » (contrôles du traitement intégral), si un chargement continu est prévu).
- Appuyer sur « Edit samples » (modifier les échantillons).
- S'assurer que le matériel de laboratoire approprié est attribué aux échantillons. Si nécessaire, corriger l'attribution du matériel de laboratoire.
- Appuyer sur « ID/Type » (ID/type).

- Sélectionner la première position et appuyer sur « Sample ID » (ID d'échantillon).
- Appuyer sur le champ de texte et saisir GBS Positive Control (contrôle positif GBS), puis appuyer sur « OK ».
- Sélectionner la première position et appuyer sur « EC+ ».
- Sélectionner la seconde position et appuyer sur « Sample ID ».
- Appuyer sur le champ de texte et saisir GBS Negative Control (contrôle négatif GBS), puis appuyer sur « OK ».
- Sélectionner la seconde position et appuyer sur « EC- ».
- Si nécessaire, résoudre les erreurs de lecture de code-barres d'échantillons et insérer les ID.
- Appuyer sur « OK ».

**Remarque :** Ne pas attribuer le type d'échantillon « EC+ » ou « EC- » à d'autres tubes que les contrôles positif et négatif fournis avec le kit *artus* GBS QS-RGQ. L'application Rotor-Gene AssayManager rejettera les cycles ayant des profils de contrôles incorrects. En cas de traitement additionnel d'échantillons caractérisés antérieurement avec les échantillons de test, veiller à attribuer le « sample type » (type d'échantillon) « Sample » à ces échantillons.

## 10. Définir le ou les essais à analyser.

- Appuyer sur le bouton correspondant « SP Batch » (lot SP).
- Appuyer sur « Define assays » (définir les essais).
- Sélectionner les échantillons à traiter avec l'essai.
- Sélectionner l'essai « artus\_GBS\_broth200\_V1 » dans la catégorie « artus QS-RGQ ».
- Appuyer sur « OK ».
- Recommencer l'étape 10 pour tous les lots et échantillons à traiter.

## 11. Définir le lot QIA Symphony AS.

- Sélectionner tous les lots qui doivent être traités dans le cadre d'un seul cycle QIA Symphony RGQ intégré.
- Appuyer sur « Create AS batch » (créer le lot AS).

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

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

## 12. Charger le tiroir « Sample » avec le mélange de contrôle interne.

- Placer le ou les tubes de mélange de contrôle interne préparés antérieurement (voir page 12) dans le porte-échantillons (utiliser l'élément d'insertion de tube 3B pour microtubes de 2 ml).
- 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 « Consommables et réactifs pour QIASymphony SP »), 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.

## 13. Définir les positions du contrôle interne

- Appuyer sur le bouton « Define ICs » (définir Les IC).
- Sélectionner les positions du mélange de contrôle interne.
- Sélectionner le contrôle interne correspondant « Complex200\_V6\_DSP\_artus\_GBS » dans le dossier « Required » (requis).
- 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).
- Appuyer sur « OK ».
- Vérifier l'onglet « R+C » pour s'assurer que tous les réactifs et consommables requis ont été chargés.

## 14. Démarrer le cycle.

- Pour démarrer le cycle, appuyer sur le bouton « Run » (analyser).
- Lire et confirmer le message qui apparaît.
- Nous recommandons de patienter à proximité de l'appareil jusqu'à ce qu'il ait effectué la détection du niveau de liquide des tubes de contrôle interne (l'état du portoir QIASymphony SP change en « running » (cycle en cours)).

**Remarque :** 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 ».

**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**

### **15. Installer un sachet pour cônes usagés vide et des goulottes d'évacuation des cônes.**

- Installer un sachet pour cônes usagés vide pour une utilisation sur paillasse ou dans la poubelle en cas d'utilisation du QIASymphony Cabinet SP/AS.
- Ouvrir le tiroir « Eluate and Reagents » (éluates et réactifs) et le tiroir « Assays » du QIASymphony AS.
- 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.

- Fermer le capot, puis lire et confirmer le message.

### **16. Charger le tiroir « Assays » avec le portoir à essais.**

- Appuyer sur l'emplacement 5 « Assay » (essai) (jaune).
- Introduire le nombre de rangées de tubes requis (4 tubes = 1 segment) dans un adaptateur préréfrigéré 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.

- Charger l'adaptateur avec des rangées de tubes dans l'emplacement 5 du tiroir « Assays ».
- 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.

- Appuyer sur « Load » (charger).

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

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

**Remarque :** Commencer le chargement des portoirs de cônes à partir des positions à l'arrière (près des adaptateurs réfrigérants). Dans de rares cas, la tête de pipetage peut ne pas atteindre certaines positions vers le capot, ce qui peut entraîner une interruption automatique de l'appareil. 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.

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

- 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 15).
- Appuyer sur l'emplacement 3 « Reagent » (réactif) (jaune) de l'écran tactile.
- Préparer un support pour réactifs prérefrigéré comme demandé sur l'écran tactile.
- 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 de réactifs appropriés dans les positions correspondantes, comme indiqué sur l'écran tactile.

**Remarque :** Le test GBS n'est pas conçu pour traiter moins de 24 réactions par cycle. Si le nombre de réactions du cycle est inférieur à 24, un tube entier de GBS Master A et de GBS Master B doit être introduit dans le QIASymphony AS, même si le QIASymphony AS affiche un volume de chargement spécifique pour le cycle qui est inférieur aux volumes de GBS Master A et de GBS Master B présents dans les tubes fournis avec le kit.

**Remarque :** Il peut s'avérer nécessaire de combiner les mêmes types de réactifs (GBS Master A ou GBS Master B) en un seul tube si le volume requis dépasse le volume de remplissage des réactifs correspondants. Un seul tube de chacun des réactifs GBS Master A et GBS Master B suffit pour 24 éluats de QIASymphony SP (contrôles y compris).

**Remarque :** Les réactifs visqueux peuvent être difficiles à manipuler avec des pipettes manuelles. S'assurer de transférer l'intégralité du volume de GBS Master A et de GBS Master B dans les tubes respectifs.

**Remarque :** En variante, sélectionner l'option « List View » (aperçu des listes) de l'écran tactile et 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.

- 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.
- Appuyer sur le champ de texte et lire le code-barres du kit sur le côté supérieur du kit *artus* GBS QS-RGQ au moyen du lecteur de code-barres portatif.

**Remarque :** 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.

- Charger l'adaptateur pour réactifs préparé dans l'emplacement 3 du tiroir « Eluate and Reagents ».
- Appuyer sur le bouton « Load ».
- Fermer les deux tiroirs.
- Appuyer sur « Scan » (lire) pour accéder à la boîte de dialogue de lecture.
- 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.

- La configuration de test démarrera automatiquement une fois que la préparation des échantillons sur le QIASymphony SP sera terminée.

## **19. Vérifier le temps restant avant la fin du lot du QIASymphony AS pour retirer le portoir à essais.**

- 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**

### **20. Retirer le lot du QIASymphony AS et le portoir à essais.**

- Ouvrir les tiroirs « Assays » et « Eluate and Reagents ».
- Retirer l'adaptateur et les rangées de tubes, puis fermer les tubes en utilisant les bouchons appropriés.
- Appuyer sur l'emplacement 5 « Assay ».
- Appuyer sur le bouton « Remove ».
- Retirer l'adaptateur pour réactifs et mettre les réactifs au rebut conformément aux règles de sécurité locales.
- Appuyer sur l'emplacement 3 « Reagent ».
- Appuyer sur le bouton « Remove ».
- Fermer les tiroirs « Assays » et « Eluate and Reagents ».
- Appuyer sur « Scan » pour accéder à la boîte de dialogue de lecture.
- Appuyer sur « Scan » pour effectuer un inventaire des adaptateurs situés à gauche et à droite (typiquement présélectionnés).
- Appuyer sur le bouton « Integrated Batch » (lot intégré) (vert) pour supprimer le cycle intégré.
- Lire et confirmer le message.
- 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.

### **21. Transférer le fichier de résultats vers un dossier défini. Pour transférer le fichier de résultats au moyen d'une clé USB, suivre l'étape 21a. Pour transférer le fichier de résultats au moyen du QMC, suivre l'étape 21b.**

#### **21a. Transfert d'un fichier de résultats au moyen d'une clé USB.**

- Insérer la clé USB.
- Sélectionner « Tools ».
- Sélectionner « File Transfer » (transfert de fichiers).
- Sélectionner « Result Files » (fichiers de résultats) dans la colonne « Save to USB Stick » (enregistrer sur la clé USB).
- Appuyer sur le bouton « Transfer » (transférer).
- Lire et confirmer le message.
- Une fois le transfert réussi, appuyer sur « OK » et retirer la clé USB.



- Aller à « Protocole : PCR sur l'appareil Rotor-Gene Q », page 30.

#### **21b. Transfert d'un fichier de résultats au moyen du QMC.**

- Se connecter au QIASymphony SP/AS approprié.
- Sélectionner l'icône de transfert de fichiers.
- Choisir le format de fichier « Result File AS » (fichier de résultats AS).
- 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).
- 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).

**Remarque :** Si plusieurs lots sont configurés sur le QIASymphony AS 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 14.

- Aller à « Protocole : PCR sur l'appareil Rotor-Gene Q », page 30.

**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.

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

### Remarques importantes avant de commencer

- Prenez le temps de vous familiariser avec l'appareil Rotor-Gene Q avant de démarrer le protocole. Consulter le manuel d'utilisation de l'appareil.
- L'application Rotor-Gene AssayManager permet d'effectuer une interprétation automatique des résultats de PCR.
- Le kit *artus* GBS 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 de cycle sont verrouillés pour le cycle.
- Télécharger l'Application Package (paquet d'applications) via la fonction « Protocol Files » (fichiers de protocoles) sous l'onglet « Resources » (ressources) de la page de catalogue web *artus* GBS QS-RGQ Kit ([www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE](http://www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE)).
- Une fois le module d'extension installé et le profil d'essai importé (voir le chapitre « Avant de commencer », ci-dessous), l'application Rotor-Gene AssayManager peut utiliser les informations fournies dans le fichier de résultats du QIA Symphony AS pour configurer un cycle pour une amplification par PCR en temps réel, puis pour l'interprétation automatique des résultats.
- Pour la sécurité du processus sur tous le système, il est nécessaire d'activer les paramètres suivants pour le mode fermé : « 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 ».

### Avant de commencer

- Pour une interprétation automatique des résultats en utilisant le kit *artus* GBS QS-RGQ avec l'application Rotor-Gene AssayManager, il est impératif d'installer la dernière version du module d'extension de base *artus* Basic sur votre application Rotor-Gene AssayManager. Démarrer le processus d'installation en double-cliquant sur le fichier **ArtusBasic.Installation.msi** et en suivant les instructions d'installation. Pour une description détaillée, se référer au chapitre « Installing Plug-ins »

(installation des modules d'extension) (voir le manuel d'utilisation de l'application principale Rotor-Gene AssayManager).

- Pour utiliser le kit *artus* GBS QS-RGQ avec des échantillons de bouillon de LIM, il est impératif d'importer le fichier **AP\_artus\_GBS\_broth200\_QS\_V1\_0\_x.iap** 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\_GBS\_broth200\_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** : Une même version de profil d'essai ne peut pas être importée deux fois.

## Procédure

### 1. Préparer le rotor et démarrer le cycle sur l'appareil Rotor-Gene Q.

- Placer un rotor de 72 puits dans le support pour rotor.
- Mettre les rangées de tubes dans le rotor. Veiller à commencer avec la position 1 et à placer les rangées de tubes dans la bonne orientation.
- Utiliser des rangées de tubes bouchés vides pour compléter les positions inutilisées.
- Fixer l'anneau de verrouillage.
- Charger le rotor et son anneau de verrouillage dans l'appareil Rotor-Gene Q.
- En cas d'utilisation d'une clé USB pour le transfert des données directement à partir du QIA Symphony SP/AS, décompresser le fichier de résultats provenant du QIA Symphony 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.

- Démarrer l'application Rotor-Gene AssayManager.
- Se connecter en mode fermé.

- Sélectionner l'environnement « Setup » (paramétrage) si ce n'est déjà fait.
- Importer le fichier de résultats du QIASymphony AS situé en bas de l'écran. Sélectionner la source « QIASymphony » (QIASymphony) selon le « Import type » (type d'importation).
- Dans la boîte de dialogue « Select file » (sélectionner un fichier), ouvrir le fichier de résultats de QIASymphony AS correspondant et cliquer sur « Open ».
- Lire et confirmer le message.
- 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).
- Saisir un nom d'expérience.
- Sélectionner le cycleur à utiliser dans la boîte de dialogue « Cycler selection » (sélection des cycleurs).
- Vérifier que l'anneau de verrouillage est correctement fixé et le confirmer à l'écran.
- Fermer le capot de l'appareil Rotor-Gene Q.
- Cliquer sur le bouton « Start run » (démarrer le cycle).

**Remarque :** Si les cycles sont effectués sur plusieurs cycleurs, passer à l'environnement du cycleur correspondant pour voir l'état d'avancement du cycle.

- Une fois le cycle terminé, cliquer sur « Finish run... » (terminer le cycle).
- Pour les utilisateurs connectés et ayant le rôle « Operator » (opérateur) : Cliquer sur « Release » (libérer).
- Pour les utilisateurs connectés et ayant le rôle Approver (approbateur) : Cliquer sur « Release and go to approval » (libérer et aller à l'approbation).

## 2. Libérer et communiquer les résultats.

- Si vous avez utilisé la fonction « Release » auparavant, sélectionner l'environnement « Approval » (approbation).
- Appuyer sur la fonction « Apply filter » (appliquer le filtre) (ou choisir au préalable vos propres options de filtre).
- Sélectionner une expérience.
- Cliquer sur « Start approval » (démarrer l'approbation).

- 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.

- Facultatif : Saisir des commentaires.
- Cliquer sur « Release /report data... » (libérer/communiquer les données).
- Choisir un profil de rapport et cliquer sur « OK ». Le rapport sera automatiquement généré et enregistré.

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

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

### 3. Effectuer la maintenance.

- Une fois analysés tous les lots QIA Symphony AS du cycle intégré du QIA Symphony SP/AS, procéder à la maintenance comme décrit dans le manuel d'utilisation du QIA Symphony SP/AS — Description générale.

**Remarque** : Cet entretien peut être effectué n'importe quand avant le début du prochain cycle intégré, selon la réglementation ou les priorités locales.

- Effectuer une maintenance préventive quotidienne, hebdomadaire et annuelle, comme décrit dans le manuel d'utilisation du QIA Symphony 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 QIAasymphony SP/AS pour une analyse de tout le flux de travail, depuis l'échantillon jusqu'au résultat. Seuls des échantillons présentant un état valide doivent être utilisés.

Le profil d'essai du kit *artus* GBS QS-RGQ contient les règles permettant l'analyse automatique des résultats des échantillons, des contrôles positif/négatif et du cycle.

Chaque échantillon et chaque contrôle affiche un résultat indépendant pour chaque cible : GBS et Internal Control (contrôle interne) Chaque résultat est reporté comme « Signal detected » (signal détecté), « No signal » (aucun signal) ou « INVALID ».

Résultats des contrôles positif/négatif :

- Toutes les cibles du contrôle positif (« Positive Control » (contrôle positif)) et du contrôle négatif (« Negative Control » (contrôle négatif)) doivent être valides pour confirmer que l'état de l'essai est un succès et que les résultats du test peuvent être communiqués. Si la moindre cible du contrôle positif ou du contrôle 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.
- Le contrôle positif doit afficher un résultat « Signal detected » pour le GBS et le contrôle interne.
- Le contrôle négatif doit afficher un résultat « Signal detected » pour le contrôle interne et « No signal » pour les cibles spécifiées.

Résultats des échantillons :

- Voir le Tableau 6 pour un résumé de l'interprétation des résultats.
- Un échantillon est considéré positif pour le GBS si la cible est détectée.
- Le signal du contrôle interne doit être détecté dans les échantillons n'affichant aucun signal pour le GBS. Si le signal du contrôle interne n'est pas détecté ou qu'il présente l'état « INVALID » dans les échantillons n'affichant aucun signal pour le GBS, toutes les cibles de l'échantillon seront définies comme « INVALID ». L'échantillon doit être à nouveau testé.
- La cible du contrôle interne peut être définie comme « No signal » ou « INVALID » dans les échantillons dans lesquels un signal spécifique au GBS

a été détecté. Dans ces cas de figure, toutes les cibles de l'échantillon seront définies. Il n'est pas nécessaire de recommencer le test.

- **Remarque** : Dans certains échantillons positifs pour le GBS, il est attendu que la PCR du contrôle interne puisse être inhibée par compétition avec l'amplification du GBS, entraînant l'attribution d'un résultat « No signal » ou « INVALID » pour le contrôle interne.
- Dans certains échantillons, un résultat pour le GBS peut être défini comme « INVALID ». Dans ce cas particulier, il est recommandé de tester à nouveau l'échantillon.
- Si la cible GBS est définie comme « INVALID » et que l'indicateur affiche CT\_ABOVE\_ACCEPTED\_RANGE, il n'est pas nécessaire de tester à nouveau cet échantillon qui sera considéré comme « No signal » si le contrôle interne est valide.

**Tableau 6. Résumé de l'interprétation des résultats**

Résultat cible		État de l'échantillon	GBS détecté dans l'échantillon
GBS	Contrôle interne		
Signal detected	Signal detected/ No signal/ INVALID	Valide	Oui
No signal	Signal detected	Valide	Non
No signal	No signal/INVALID	Non valide	Erreur, tester à nouveau l'échantillon
INVALID*	Signal detected/ No signal/ INVALID	Valide ou non valide	Erreur, tester à nouveau l'échantillon

\*Si une cible est définie comme non valide et que l'indicateur indique CT\_ABOVE\_ACCEPTED\_RANGE, il n'est pas nécessaire de tester à nouveau cet échantillon qui sera défini comme « no signal », si le contrôle interne est valide.

Cette analyse automatique peut entraîner l'attribution des indicateurs correspondants suivants.

Indicateur	Comportement	Description
ASSAY_INVALID	Non valide	Essai non valide, car au moins un contrôle externe est non valide.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Non valide	La valeur $C_T$ détectée est supérieure à la valeur $C_T$ seuil définie (voir ci-dessus).
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Non valide	La valeur de $C_T$ détectée est inférieure à la valeur $C_T$ seuil définie.
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Non valide	La courbe d'amplification des données brutes présente une forme qui s'écarte du comportement défini pour cet essai. Il existe une forte probabilité que les résultats soient faux ou l'interprétation mauvaise.
FLAT_BUMP	Non valide	La courbe d'amplification présente une forme de bosse aplatie, s'écartant du comportement défini pour cet essai. Il existe une forte probabilité que les résultats soient faux ou que l'interprétation soit mauvaise (mauvaise détermination de la valeur $C_T$ ).
IC_INVALID	Non valide	Le contrôle interne est non valide. La cible et le contrôle interne sont dans le même tube.
IC_NO_SIGNAL	Non valide	Aucun signal détecté pour le contrôle interne. La cible et le contrôle interne sont dans le même tube.



Indicateur	Comportement	Description
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	Non valide	La courbe d'amplification franchit le seuil plusieurs fois. Il n'est pas possible de déterminer une valeur de $C_T$ univoque.
NO_CT_DETECTED	Non valide	Aucune valeur de $C_T$ n'est détectée pour cette cible.
NORM_FACTOR_ALTERATION	Avertissement	<p>La courbe n'est pas normalisée correctement en raison d'un signal faible.</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>
OTHER_TARGET_INVALID	Non valide	Une autre cible du même échantillon est non valide.
SATURATION	Non valide	La fluorescence des données brutes présente une forte saturation avant le point d'inflexion de la courbe d'amplification.
SATURATION_IN_PLATEAU	Avertissement	<p>La fluorescence des données brutes présente une saturation dans la phase de plateau de la courbe d'amplification.</p> <p><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>

Indicateur	Comportement	Description
SPIKE	Variable	Un pic est détecté dans la fluorescence des données brutes de la courbe d'amplification, mais en-dehors de la région de détermination de la valeur $C_T$ .
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Non valide	Un pic est détecté dans la courbe d'amplification à proximité de la valeur de $C_T$ .
STEEP_BASELINE	Non valide	Une augmentation brutale de la ligne de base de la fluorescence des données brutes est détectée dans la courbe d'amplification.
STRONG_BASELINE_DIP	Non valide	Une forte chute de la ligne de 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	Un bruit important est détecté dans la phase de croissance (exponentielle) de la courbe d'amplification.
UNCERTAIN	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.

Indicateur	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 QIAasympphony).</p> <p><b>Remarque :</b> Pour les indicateurs signalés « unclear » lors de processus en amont, le comportement de l'application Rotor-Gene AssayManager est défini dans l'environnement « Configuration ».</p> <p>Pour les indicateurs « invalid » attribués lors de processus en amont, l'application Rotor-Gene AssayManager invalide toujours ces échantillons.</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.

## Résolution des principaux problèmes rencontrés

Ce guide de résolution des principaux problèmes rencontrés peut aider à répondre à certaines questions qui peuvent se poser. Pour plus d'informations, voir aussi la page Foire aux Questions de notre Centre de support technique : [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Les scientifiques des Services techniques de QIAGEN seront ravis de répondre à toutes les questions sur les informations et protocoles figurant dans ce manuel ou sur les technologies d'échantillons et d'analyses (pour les coordonnées, voir quatrième de couverture ou le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Commentaires et suggestions

---

#### Manipulation générale

Message d'erreur  
affiché sur l'écran  
tactile

En cas d'affichage d'un message d'erreur pendant un cycle intégré, se reporter au manuel d'utilisation fourni avec les appareils.

#### Précipité dans un compartiment de réactif de la cartouche entamée du kit QIAasymphony 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.

## Commentaires et suggestions

---

- |  |   |
|--|---|
| b) Stockage de la cartouche de réactifs (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 min en agitant de temps en temps pour dissoudre le précipité. Veiller à remettre les compartiments à la bonne position. Si la cartouche de réactifs (RC) est déjà entamée, vérifier que les compartiments sont scellés à l'aide de bandelettes d'étanchéité et incuber l'ensemble de la cartouche de réactifs (RC) au bain-marie* à 37 °C pendant 30 min en agitant de temps en temps. |
|--|---|

### Faible rendement en acides nucléiques

- |   |  |
|---|--|
| a) Remise en suspension incomplète des particules magnétiques | Avant de commencer la procédure, s'assurer de la remise en suspension complète des particules magnétiques. Avant emploi, mélanger au Vortex pendant au moins 3 minutes.  |
| b) Échantillons congelés mal mélangés après décongélation     | Décongeler les échantillons sous agitation douce pour garantir un mélange homogène.  |
| c) Absence d'ARN entraîneur (CARRIER)                         | Reconstituer l'ARN entraîneur (CARRIER) dans 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 (contrôle interne GBS) », page 12. 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.  |

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

## Commentaires et suggestions

---

- |   |  |
|---|--|
| 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 incuber pendant 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 incuber l'ensemble de la cartouche au bain-marie à 37 °C pendant 30 minutes en agitant de temps en temps.* |
| f) Obstruction du cône de pipette par une substance insoluble | La substance insoluble n'a pas été éliminée de l'échantillon avant la purification sur QIASymphony. Pour éliminer la substance insoluble dans le cas d'applications impliquant des bactéries, centrifuger l'échantillon à 3 000 x g pendant 1 minute et transférer le surnageant dans un nouveau tube d'échantillon.   |

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

### **QIAsymphony AS ne détecte pas assez de Master**

Une quantité insuffisante de Master a été transférée dans le tube

Combiner les contenus d'un nombre approprié de tubes GBS Master A dans un seul tube avant utilisation. Combiner les contenus d'un nombre approprié de tubes GBS Master B 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).

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

### **Pas de signal avec le contrôle positif (contrôle positif pour le GBS) pour la cible GBS**

a) Mauvaise configuration de la PCR

S'assurer que la configuration de test 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 14.

## Commentaires et suggestions

- |   |   |
|---|---|
| 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 9) | Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (cf. étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit s'il y a lieu. |
| c) Le kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ a expiré  | Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (cf. étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit s'il y a lieu. |

**Signal faible ou inexistant du contrôle interne d'un échantillon négatif soumis à purification au moyen du kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen pour la cible « Internal Control » (contrôle interne) et absence simultanée de signal pour la cible GBS**

- |   |   |
|---|---|
| a) Les conditions de PCR ne respectent pas le protocole | Vérifier les conditions de PCR (voir ci-dessus) et si besoin, répéter la PCR avec les réglages corrigés.  |
| b) La PCR a été inhibée                                 | Veiller à ce que la méthode d'isolement validée soit utilisée (voir la rubrique « Protocole : Isolement de l'ADN et configuration de test sur le QIAasymphony SP/AS », page 15) et suivre les instructions à la lettre.   |
| c) De l'ADN a été perdu lors de l'extraction            | <p>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 la rubrique « Protocole : Isolement de l'ADN et configuration de test sur le QIAasymphony SP/AS », page 15) et suivre les instructions à la lettre.</p> <p>Consulter également « Faible rendement en acides nucléiques » ci-dessus.</p> |



## Commentaires et suggestions

---

- |   |   |
|---|---|
| d) 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 9) | Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (cf. étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit s'il y a lieu. |
| e) Le kit <i>artus</i> GBS QS-RGQ a expiré  | Vérifier les conditions de stockage et la date limite d'utilisation (cf. étiquette du kit) des réactifs et utiliser un nouveau kit s'il y a lieu. |

### Signaux avec les contrôles négatifs pour la cible GBS de la PCR analytique

- |   |   |
|---|---|
| a) Contamination lors de la préparation de la PCR | <p>Répéter la PCR avec de nouveaux réactifs et en réplicats.</p> <p>Si possible, fermer les tubes de PCR juste après l'addition de l'échantillon à tester.</p> <p>Veiller à ce que le plan de travail et les appareils soient décontaminés à intervalles réguliers.</p> |
| b) Contamination lors de l'extraction             | <p>Répéter l'extraction et la PCR de l'échantillon à tester au moyen de nouveaux réactifs.</p> <p>Veiller à ce que le plan de travail et les appareils soient décontaminés à intervalles réguliers.</p>   |

## Contrôle qualité

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

## Limitations

Tous les réactifs ne peuvent être utilisés que dans le cadre de diagnostics in vitro.

Le kit *artus* GBS QS-RGQ ne doit être utilisé que par du personnel de laboratoire formé à l'utilisation des appareils QIA Symphony SP/AS et Rotor-Gene Q, et de l'application Rotor-Gene AssayManager.

L'utilisation de ce produit est réservée à un personnel spécialement formé aux procédures de diagnostic in vitro. Tous les résultats diagnostiques générés doivent être interprétés conjointement à d'autres résultats cliniques ou de laboratoire.

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

Il convient de porter une attention particulière aux dates limite d'utilisation imprimées sur la boîte et les étiquettes de tous les composants. Ne pas utiliser de composants ayant expiré.

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

## Caractéristiques de performance

Consulter l'adresse [www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE](http://www.qiagen.com/p/artus-GBS-QS-RGQ-Kit-CE) pour obtenir les caractéristiques de performance du kit *artus* GBS QS-RGQ.

## Références

1. Fluegge, K. et al. (2006) Incidence and clinical presentation of invasive neonatal group B streptococcal infections in Germany. *Pediatrics*, **117**, e1139.
2. Centers for Disease Control and Prevention (É-U). GBS Prevention in Newborns. <http://www.cdc.gov/groupbstrep/about/prevention.html>
3. Young, B.C., Dodge, L.E., Gupta, M., Rhee, J.S. and Hacker, M.R. (2011) Evaluation of a rapid, real-time intrapartum group B streptococcus assay. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **205**, 372.

# Symboles

Les symboles suivants peuvent apparaître sur l’emballage et la notice :



<N>

Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions



À utiliser avant



Dispositif médical de diagnostic in vitro



Référence



Numéro de lot



Référence du matériel



Composants



Contient



Nombre



Code article international (GTIN)

Rn

R désigne une révision du manuel et n représente le numéro de révision



Limite de température



Fabricant



Lire les informations dans le manuel



Attention



Master A

<b>MASTER</b> <b>B</b>	Master B
<b>IC</b>	Contrôle interne
<b>CONTROL</b> <b>+</b>	Contrôle positif
<b>CONTROL</b> <b>-</b>	Contrôle négatif

## Coordonnées

Pour une assistance technique et plus d'informations, consulter notre Centre d'assistance technique sur le site [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support), composer le 00800-22-44-6000 ou contacter l'un des Départements du service technique de QIAGEN ou des distributeurs locaux (voir la quatrième de couverture ou le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Pour commander

Produit	Contenu	Référence
<i>artus</i> GBS QS-RGQ Kit (72)	Pour 72 réactions : 2 Masters, contrôle positif, contrôle interne, contrôle négatif	4572366
<b>QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit</b>		
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit	Pour 192 préparations (200 µl chacune) : comprend 2 cartouches de réactifs, des portoirs de tubes d'enzymes et des accessoires	937036
<b>Appareils QIASymphony SP/AS</b>		
QIASymphony SP	Module de préparation d'échantillons QIASymphony : comprend une garantie de 1 an pièces et main d'œuvre	9001297
QIASymphony AS	Module de configuration de test QIASymphony : comprend une garantie de 1 an pièces et main d'œuvre	9001301
<b>Rotor-Gene Q</b>		
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Thermocycleur pour PCR en temps réel et analyseur « High Resolution Melt » (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
<b>Rotor-Gene AssayManager — pour les analyses de routine avec les appareils Rotor-Gene Q et QIASymphony RGQ</b>		
Rotor-Gene AssayManager	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

Produit	Contenu	Référence
Rotor-Gene AssayManager (10)	Logiciel pour l'analyse de routine en combinaison avec les appareils Rotor-Gene Q et QIA Symphony RGQ ; licence pour plusieurs logiciels pour une installation sur 10 ordinateurs maximum	9022739

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

Page laissée volontairement vierge





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

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

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

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

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

1. Le produit ne doit être utilisé que conformément aux protocoles fournis et à ce manuel, et avec les composants fournis à l'intérieur du kit. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce kit avec tout autre composant non fourni dans ce kit, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, ce manuel et d'autres protocoles disponibles à l'adresse [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Certains de ces protocoles supplémentaires ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour les utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été testés de manière approfondie ni optimisés par QIAGEN. QIAGEN n'offre aucune garantie sur eux ni aucune garantie qu'ils n'enfreignent pas les droits de tiers.
2. Hormis les licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce kit et/ou son(s) utilisation(s) ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce kit et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du kit consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les termes précédents. QIAGEN peut faire appliquer des interdictions de cet Accord de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de cet Accord de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au kit et/ou à ses composants.

Pour les termes de licence mis à jour, voir [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2015 QIAGEN, tous droits réservés.

---

**www.qiagen.com**

**Australia** ■ techservice-au@qiagen.com

**Austria** ■ techservice-at@qiagen.com

**Belgium** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Brazil** ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

**Canada** ■ techservice-ca@qiagen.com

**China** ■ techservice-cn@qiagen.com

**Denmark** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Finland** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**France** ■ techservice-fr@qiagen.com

**Germany** ■ techservice-de@qiagen.com

**Hong Kong** ■ techservice-hk@qiagen.com

**India** ■ techservice-india@qiagen.com

**Ireland** ■ techservice-uk@qiagen.com

**Italy** ■ techservice-it@qiagen.com

**Japan** ■ techservice-jp@qiagen.com

**Korea (South)** ■ techservice-kr@qiagen.com

**Luxembourg** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Mexico** ■ techservice-mx@qiagen.com

**The Netherlands** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Norway** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Singapore** ■ techservice-sg@qiagen.com

**Sweden** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Switzerland** ■ techservice-ch@qiagen.com

**UK** ■ techservice-uk@qiagen.com

**USA** ■ techservice-us@qiagen.com

