

Décembre 2017

Fiche de protocole QIAasymphony[®] SP

Protocole Cellfree 1000_V7

Ce document est la *fiche de protocole QIAasymphony SP Cellfree1000_V7_DSP, R2*, destinée au kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi, version 1.

Informations générales

Le kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen est destiné à être utilisé dans le cadre de diagnostics in vitro.

Kit	Kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi
Support de l'échantillon*	Plasma, sérum et liquide céphalorachidien
Nom du protocole	Cellfree1000_V7_DSP
Set témoin d'analyse par défaut	ACS_Cellfree1000_V7_DSP_default_IC
Données	Volume d'éluat : 60 µl, 85 µl, 110 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou supérieure

* Pour plus d'informations, voir les sections « Préparation des échantillons » et « Limites », page 6.

Tiroir à échantillons « Sample »

Type d'échantillon	Plasma, sérum et liquide céphalorachidien
Volume d'échantillon	Dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon ; pour en savoir plus, consulter la page www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Tubes primaires d'échantillon	Pour en savoir plus, consulter la page www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Tubes secondaires d'échantillon	Pour en savoir plus, consulter la page www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Inserts	Dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon ; pour en savoir plus consulter la page www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Autre	Tampon AVE avec solution d'ARN nécessaire ; l'utilisation d'une solution témoin est facultative

Tiroir à réactifs et consommables « Reagents and Consumables »

Position A1 et/ou A2	Cartouches de réactif (RC)
Position B1	néant
Porte support des pointes 1 à 17	Pointes de filtres jetables, 200 µl
Porte support des pointes 1 à 17	Filtres jetables, 1.500 µl
Porte boîte d'unités 1 à 4	Boîtes d'unités contenant des cartouches de préparation d'échantillon
Porte boîte d'unités 1 à 4	Boîtes d'unités contenant des manchons pour 8 barreaux

Tiroir à la poubelle « Waste »

Porte boîte d'unités 1 à 4	Boîtes d'unités vides
Support pour sac poubelle	Sac poubelle
Support pour bouteille à déchets liquides	Bouteille à déchets liquides

Tiroir à éluats «Eluate »

Support d'éluat (nous conseillons d'utiliser la fente 1, position refroidissement)	Pour en savoir plus, consulter la page www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
---	---

Éléments en plastique nécessaires

	Un lot, 24 échantillons*	Deux lots, 48 échantillons*	Trois lots, 72 échantillons*	Quatre lots, 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	28	52	76	100
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	113	206	309	402
Cartouches de préparation d'échantillon§	21	42	63	84
Manchons pour 8 barreaux¶	3	6	9	12

* L'utilisation de plus d'une solution témoin par lot et la réalisation de plus d'un scan d'inventaire nécessite davantage de pointes de filtres jetables. Si vous utilisez moins de 24 échantillons par lot, réduisez le nombre de pointes de filtres jetables nécessaires par traitement.

† Il y a 32 pointes de filtres sur chaque support de pointes.

‡ Le nombre de pointes de filtres requises correspond à 1 scan d'inventaire par cartouche de réactif.

§ Il y a 28 cartouches de préparation d'échantillon par boîte d'unités.

¶ Il y a douze manchons pour 8 barreaux par boîte d'unité.

Remarque : Le nombre de pointes de filtres indiqué peut s'avérer différent du nombre affiché sur l'écran tactile, selon les paramètres, notamment le nombre de solutions témoins utilisées par lot.

Volume d'éluat choisi

Volume d'éluat choisi (µl)*	Volume d'éluat initial (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Le volume d'éluat choisi sur l'écran tactile. Il correspond au volume minimum accessible d'éluat dans le tube d'éluat final.

† Le volume initial de solution d'éluat nécessaire pour assurer le même volume réel d'éluat que le volume choisi.

Préparation du mélange témoin interne-ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE)

Volume d'éluéon choisi (µl)	Volume ARN entraîneur (CARRIER) (µl)	Volume de solution témoin (µl)*	Volume de tampon AVE (AVE) (µl)	Volume final par échantillon (µl)
60	5	9	106	120
85	5	11.5	103.5	120
110	5	14	101	120

* Le calcul de la quantité de solution témoin s'appuie sur les volumes d'éluéon initiaux. Le volume mort supplémentaire dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon ; pour en savoir plus, consulter la page www.qiagen.com/goto/dsphandbooks

Remarque : Les valeurs indiquées dans le tableau sont destinées à la préparation du mélange solution témoin-ARN entraîneur (CARRIER) pour une analyse en aval nécessitant 0,1 µl de solution témoin/µl d'éluat.

Les tubes contenant le mélange témoin interne-ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE) sont placés sur un porte-tubes. Ce porte-tubes doit être placé dans la fente A du tiroir à échantillons.

Selon le nombre d'échantillons à traiter, il est recommandé d'utiliser des tubes de 2 ml (Sarstedt, référence 72.693 ou 72.694) ou des tubes de 14 ml, 17 x 100 mm, en polystyrène, à fond rond (Becton Dickinson, référence 352051) pour diluer le témoin interne tel que décrit dans le tableau de la page 5. Il est possible de répartir le volume dans 2 tubes ou plus.

Calcul du volume du mélange de témoin interne

Type de tube	Nom sur l'écran tactile QIAasympphony	Calcul du volume par tube du mélange témoin interne-ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE)
Microtube de 2 ml muni d'un bouchon, microtube de 2 ml en PP, À COLLERETTE (Sarstedt, référence No. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microtube de 2 ml muni d'un bouchon, microtube de 2 ml en PP, SANS COLLERETTE (Sarstedt, référence No. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tube de 14 ml, 17 x 100 mm, en polystyrène, à fond rond, (Becton Dickinson, référence 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Utiliser cette équation pour calculer le volume nécessaire de mélange de témoin interne (n = nombre d'échantillons, 120 µl = volume de mélange témoin interne-ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE), 360 µl = volume mort requis par tube). Exemple, pour 12 échantillons ($n = 12$) : $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Ne pas verser dans le tube un volume supérieur à 1,9 ml (c'est-à-dire un maximum de 12 échantillons par tube). S'il y a plus de 12 échantillons à traiter, utiliser des tubes supplémentaires en veillant à prévoir un volume mort pour chaque tube.

† Utiliser cette équation pour calculer le volume nécessaire de mélange témoin interne-ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE) (n = nombre d'échantillons, 120 µl = volume de mélange témoin interne-ARN entraîneur (CARRIER)-tampon AVE (AVE), 600 µl = volume mort requis par tube). Exemple, pour 96 échantillons ($n = 96$) : $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12\ 120 \mu\text{l}$.

Pour les inserts nécessaires, voir www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Préparation des échantillons

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 techniques de données de sécurité (SDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur du produit.

Échantillons de plasma, sérum et liquide céphalorachidien

La procédure de purification est optimisée pour une utilisation avec des échantillons de plasma, de sérum ou de liquide céphalorachidien. Les échantillons de sang traités avec de l'EDTA ou du citrate comme anticoagulant peuvent être utilisés pour la préparation de plasma. Les échantillons peuvent être frais ou congelés à condition qu'ils n'aient pas été recongelés après la décongélation. Après le prélèvement et la centrifugation, le plasma, le sérum ou le liquide céphalorachidien peut être stocké à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant une durée maximale de 6 heures. Pour un stockage plus long, nous conseillons de congeler des aliquotes entre -20°C et -80°C. Le plasma ou le sérum congelé ne doit pas être décongelé plus d'une fois. Le processus de congélation/décongélation répété entraîne la dénaturation et la précipitation des protéines, ce qui donne des titres viraux réduits et, par conséquent, des rendements réduits d'acides nucléiques viraux. Si des cryoprécipités sont visibles dans les échantillons, centrifuger à 6800 x g pendant trois minutes, transférer les surnageants dans les tubes frais sans gêner les culots et lancez immédiatement la procédure de purification. La centrifugation à faible force G ne réduit pas les titres viraux.

Limites

Les échantillons de sang traités avec l'activateur de coagulation sérique peuvent entraîner une baisse du rendement des acides nucléiques viraux. Ne pas utiliser les tubes de prélèvement sanguin Greiner Bio-One® VACUETTE® contenant l'activateur de coagulation sérique Z.

Historique des révisions

Historique des révisions du document	
R2 12/2017	Mise à jour pour la version logicielle 5.0 de QIASymphony

Pour obtenir des informations à jour et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN® respectifs. Les manuels QIAGEN sont à demander auprès du support technique QIAGEN, ou bien à votre distributeur QIAGEN local. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des Services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Groupe QIAGEN) BD™ (Becton Dickinson and Company); Falcon® (Corning, Inc.); Bio-One®, VACUETTE® (Greiner Bio-One GmbH); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Les noms enregistrés, les marques déposées etc., utilisés dans ce document, même si non mentionnés comme tels ne peuvent être considérés comme non protégés juridiquement.
12/2017 HB-0301-S35-002 © 2017 QIAGEN, tous droits réservés.

Pour commander www.qiagen.com/shop | Support technique support.qiagen.com | Site Web www.qiagen.com