

Avril 2021

# QIASymphony<sup>®</sup> SP

## Mode d'emploi de l'instrument (fiche de protocole)

Pour le kit PreAnalytiX QIASymphony PAXgene<sup>®</sup>  
Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) et le PreAnalytiX  
PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; **CE**<sub>0123</sub>)

Protocoles PAXgene Blood ccfDNA IVD :

PAXcircDNA\_2400, PAXcircDNA\_4800, PAXcircDNA\_PrimaryTube\_2400 et PAXcircDNA\_PrimaryTube\_4000

## Informations générales

Pour une utilisation diagnostique in vitro.

Le kit PAXgene Blood ccfDNA de QIAasymphony (CE-IVD), à utiliser avec l'instrument QIAasymphony SP, est destiné à l'isolement et à la purification automatisés de l'ADN acellulaire circulant (ccfDNA) à partir du plasma généré par le sang total veineux humain collecté dans le PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

La procédure de purification est optimisée pour une utilisation avec du plasma généré à partir de sang total veineux humain collecté dans les PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). Pour les instructions sur la procédure de prélèvement sanguin, voir le mode d'emploi du PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) sur la page d'accueil du produit ([www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com)).

Quatre protocoles différents ont été établis pour l'isolement automatisé du ccfDNA du plasma généré à partir de sang total veineux humain collecté dans les PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). Dans les versions standard, il est possible de sélectionner des volumes d'entrée d'échantillon de 2,4 ou 4,8 ml de plasma. En outre, les protocoles de manipulation des tubes primaires permettent de placer directement le PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) sur l'instrument QIAasymphony SP. Des protocoles de manipulation des tubes primaires sont disponibles pour des volumes d'entrée d'échantillon de 2,4 ou 4,0 ml de plasma (voir les tableaux dans les pages suivantes).

Chaque volume de plasma utilisé pour l'extraction du ccfDNA requiert le volume d'entrée de l'échantillon pertinent, y compris le volume de vide et le script de protocole pertinent, comme résumé dans le Tableau 1.

Tableau 1. Informations générales pour l'utilisation du kit QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

<b>Échantillon</b>	Le plasma humain généré à partir de sang total veineux collecté dans les PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)			
<b>Kit</b>	Kit QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, n° de réf. 768566			
<b>Version logicielle</b>	Version 5.0 ou plus récente			
<b>Protocoles</b>	<b>Ligne de protocole</b>	<b>Volume d'entrée de l'échantillon (y compris le volume vide) (ml)</b>	<b>Volume de l'échantillon utilisé pour l'extraction de ccfDNA (ml)</b>	<b>(Assay Control_) Nom du protocole</b>
	Étalon	2,8	2,4	(ACS_) PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	(ACS_) PAXcircDNA_4800
	Manipulation du tube primaire	selon l'outil de sélection	2,4	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

La préparation du plasma peut se faire en utilisant (A) le protocole standard de double centrifugation ou (B) via la manipulation du tube primaire : traitement direct des PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) centrifugés une seule fois sur l'instrument QIASymphony SP.

#### A) Préparation du plasma à partir du sang pour les protocoles standard

1. Centrifugez le PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) à température ambiante (15-25 °C) pendant 15 minutes à  $1\ 600-3\ 000 \times g$  à l'aide d'une centrifugeuse à godet basculant équilibrée. Si le freinage est préféré, il est recommandé d'utiliser un freinage de niveau moyen, et il doit être validé pour votre flux de travail spécifique.

Remarque : Pour obtenir les meilleures performances pour les échantillons conservés au réfrigérateur avant la centrifugation, laissez les tubes revenir à température ambiante avant le traitement.

2. Pipettez le plasma dans un tube centrifugeur à fond conique de 15 ml (non fourni), en veillant à ne pas perturber la fraction cellulaire nucléée.
3. Centrifugez le tube à centrifuger à fond conique de 15 ml pendant 10 minutes à température ambiante (15-25 °C) à  $1\ 600-3\ 000 \times g$  en utilisant une centrifugeuse équilibrée.

Remarque : Ne dépassez pas la vitesse de centrifugation maximale recommandée par le fabricant du tube secondaire.

4. Pipettez le volume de plasma requis (voir section « Volume d'échantillon » à la page 6) dans un tube à fond rond en polystyrène de 14 ml, 17 x 100 mm, en veillant à ne pas déranger le culot de cellules sanguines résiduelles, le cas échéant.
5. Transférez le tube à fond rond avec l'échantillon de plasma dans le portoir de tubes et chargez le portoir de tubes dans le tiroir d'entrée d'échantillon de l'instrument QIASymphony SP.

Remarque : Pour un rendement maximal du ccfDNA, traitez le plus grand volume de plasma disponible.

Remarque : Évitez la formation de mousse dans ou à la surface des échantillons de plasma. La présence de mousse ou de bulles d'air dans les échantillons peut entraîner le pipetage d'un volume d'échantillon erroné.

Remarque : Après la collecte de sang et la centrifugation, le plasma peut être conservé à une température de 2 à 8 °C pendant 7 jours maximum. Pour une conservation plus longue, nous recommandons de congeler les aliquotes.

Remarque : Lorsque vous utilisez des échantillons de plasma préalablement stockés (par exemple, conservés à 2-8 °C ou congelés à -20 ou -70 °C/-80 °C), ceux-ci doivent être équilibrés à la température ambiante (15-25 °C) avant de lancer la séquence.

---

B) Préparation du plasma à partir du sang pour la manipulation du tube primaire sur l'instrument QIASymphony SP

1. Centrifugez le PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) à température ambiante (15-25 °C) pendant 15 minutes à 3000 × g en utilisant une centrifugeuse à godet basculant équilibrée. Si le freinage est préféré, il est recommandé d'utiliser un freinage de niveau moyen et il doit être validé pour votre flux de travail spécifique.

Remarque : Pour obtenir les meilleures performances pour les échantillons conservés au réfrigérateur avant la centrifugation, laissez les tubes revenir à température ambiante avant le traitement.

2. Quantifier le volume de plasma dans chaque tube après le retrait du seau de la centrifugeuse avec l'outil de sélection du protocole de purification de PAXgene Blood ccfDNA fourni dans le kit (Figure 1). Lorsque le tube est retiré de la centrifugeuse, la flèche sarcelle de l'outil est alignée sur l'interface plasma/cellules. Les lignes bleues indiquent si le niveau de plasma est suffisant pour le protocole de manipulation du tube primaire de 2,4 ou 4,0 ml. Une hauteur minimale de colonne de plasma de 2,3 cm est nécessaire pour le protocole de 2,4 ml et un minimum de 3,4 cm est nécessaire pour le protocole de 4,0 ml.

Déterminer le protocole optimal pour traiter les  
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)  
directement sur l'instrument QIASymphony SP

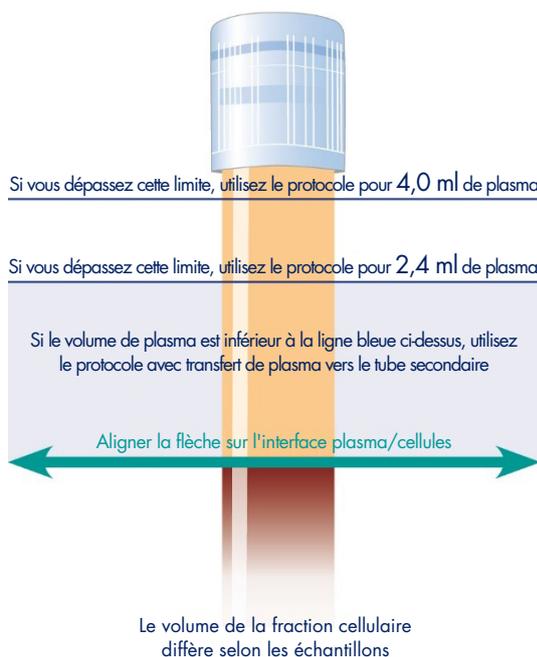


Figure 1. Détermination du volume de plasma à l'aide de l'outil de sélection du protocole de purification du ccfDNA du sang PAXgene (ceci est à titre d'illustration uniquement ; veuillez ne pas imprimer, car la taille réelle diffère - ne pas utiliser avec des échantillons).

Remarque : Si une séparation nette du plasma et de la fraction cellulaire n'a pas eu lieu ou si des phases ont été accidentellement mélangées à la sortie de la centrifugeuse, vous devez répéter la centrifugation.

3. Retirez le bouchon Hemogard des PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) avant de les placer sur l'instrument QIASymphony SP pour l'extraction directe de ccfDNA.
4. Placez les PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) ouverts qui contiennent suffisamment de plasma dans le portoir de tubes et chargez le portoir de tubes dans le tiroir d'entrée des échantillons de l'instrument QIASymphony SP.

## Volume d'échantillon

Pour vous assurer que dans le flux de travail régulier, 2,4 ml (protocole PAXcircDNA\_2400) et 4,8 ml d'échantillon (protocole PAXcircDNA\_4800) sont transférés par l'instrument, un volume vide de 0,4 et 0,5 ml, respectivement, est requis, ce qui signifie qu'un minimum de 2,8 et 5,3 ml d'échantillon doit être fourni. Dans le cas où des volumes de plasma inférieurs à 2,8 ou 5,3 ml sont disponibles, le mode Less Sample (quantité moindre d'échantillon), qui fait partie intégrante de la fonction de protocole, permet le transfert de volumes de plasma inférieurs à ceux indiqués. Dans ce cas, moins d'échantillon est transféré par l'instrument et le volume transféré est documenté dans le fichier des résultats. En outre, les échantillons respectifs sont marqués comme peu clairs (code d'erreur 140043, mode Enable Less Sample (autoriser une quantité moindre d'échantillon)). Les volumes minimums d'entrée de plasma pour activer le mode Less Sample (quantité moindre d'échantillon) sont de 1,6 ml (protocole PAXcircDNA 2400) et de 4,1 ml (protocole PAXcircDNA 4800). Les échantillons ne seront pas traités et seront signalés comme non valides si un volume d'échantillon inférieur est fourni. Pour la manipulation du tube primaire, le volume d'échantillon approprié est assuré en utilisant l'outil de sélection du protocole de purification PAXgene Blood ccfDNA fourni dans le kit et décrit dans la section « B) Préparation du plasma à partir du sang pour la manipulation du tube primaire sur l'instrument QIASymphony SP », page 4.

## Tiroir « Sample » (Échantillon)

Tableau 2. Informations pour le réglage du tiroir à échantillons\*

Type d'échantillon	Le plasma humain généré à partir de sang total veineux collecté dans les PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)
Volume d'entrée de l'échantillon (y compris le volume mort)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400) ; 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Voir l'outil de sélection du protocole de purification PAXgene Blood ccfDNA (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Voir l'outil de sélection du protocole de purification PAXgene Blood ccfDNA (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Tubes d'échantillon primaires	PAXgene Blood ccfDNA Tube 10 ml (CE-IVD) 16 x 100 mm (BD™, n° de réf. 768165)
Tubes d'échantillon secondaires	Tubes 14 ml, 17 x 100 mm en polystyrène à fond rond disponibles auprès de (Corning®, n° de réf. 352051)
Éléments d'insertion	s.o.
Autres	Protéinase K nécessaire dans les tubes 14 ml, 17 x 100 mm en polystyrène à fond rond (Corning, n° de réf. 352051) ; utiliser uniquement les positions 1 et 2 du portoir de tubes (pour la fente A)

\* Voir aussi la liste Labware disponible sous l'onglet Product Resources (Ressources produits) sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).  
s.o., sans objet.

## Tubes à échantillons pour portoir de tubes

Tableau 3. Informations pour la mise en place des portoirs de tubes\*

Nom sur l'écran tactile	Fournisseur	Matériel	Exemple de n° de réf.	Élément d'insertion	PAXcircDNA_2400	PAXcircDNA_4800	PAXcircDNA_PrimaryTube_2400	PAXcircDNA_PrimaryTube_4000
BD #352051 FalconPP 17 x 100	Corning <sup>†</sup>	14 ml Falcon® polystyrene round-bottom tube 17 x 100 mm	352051	Élément d'insertion inutile	2,8 ml <sup>‡</sup> 1,6 ml <sup>§</sup> (Mode Enable Less Sample (autoriser une quantité moindre d'échantillon))	5,3 ml <sup>‡</sup> 4,1 ml <sup>§</sup> (Mode Enable Less Sample (autoriser une quantité moindre d'échantillon))	s.o.	s.o.
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	PAXgene Blood ccfDNA Tube 10 ml (CE-IVD) 16 x 100 mm	768165	Élément d'insertion inutile	s.o.	s.o.	Voir l'outil de sélection du protocole de purification PAXgene Blood ccfDNA	

\* Voir aussi la liste Labware disponible sous l'onglet Product Resources (Ressources produits) sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

<sup>†</sup> Précédemment fourni par BD.

<sup>‡</sup> Volume minimum requis par échantillon et par protocole (y compris le volume mort) ; détection de caillots possible.

<sup>§</sup> Réduction du volume minimum d'échantillon en utilisant le mode Enable Less Sample (autoriser une quantité moindre d'échantillon). Le mode Enable Less Sample (autoriser une quantité moindre d'échantillon) a été conçu pour utiliser tout le liquide disponible en combinaison avec la détection du niveau de liquide et la détection des caillots. Les résultats du mode Enable Less Sample (autoriser une quantité moindre d'échantillon) entraînent un marquage peu clair des échantillons.

s.o., sans objet.

## Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

Position A1 et/ou A2	Cartouche de réactif
Position B1	s.o.
Portoir pour pointes à embouts 1-17	Embouts à filtre jetables, 200 µl ou 1 500 µl
Support de boîtes d'unités 1-4	Boîtes d'unités contenant des cartouches de préparation de l'échantillon ou des 8-Rod Covers

s.o. = sans objet.

## Tiroir « Waste » (Déchets)

Support de boîtes d'unités 1-4	Boîtes d'unités vides
Support pour sac à déchets	Sac à déchets
Support pour flacon à déchets liquides	Flacon à déchets liquides vide

## Tiroir « Eluate » (éluat)

Fournisseur	Matériel	Exemple de n° de réf.	Catégorie	Nom sur l'écran tactile	Adaptateur sur les fentes d'éluat 1 (réfrigérées)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Fournis avec le kit (19588)	Deep Well	QIA#19588* EMTR	Elution Microtube Rack QS
Eppendorf®	1.5 ml DNA LoBind® Tube	0030108.051	Tube, 1.5 ml	EP#0030108.051** T1.5 Snap Cap	Snap-Cap Microtube
Sarstedt®	1.5 ml Microtube, PP, non-skirted	72607	Tube, 1.5 ml/ Tube, 1.5 ml Adapter V1 (no BC)	SAR#72.607* T1.5 Screw/ SAR#72.607** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS
Sarstedt	2.0 ml Microtube, PP, non-skirted	72693	Tube 2.0 ml/ Tube_2.0ml AdapterV1 (no BC)	SAR#72.693* T2.0 Screw	Microtube Screw Cap QS
Starlab®	1.5 ml Microtube, graduated conical tube, non-skirted	E1415-2231	Tube, 1.5 ml/ Tube_1.5ml AdapterV1 (no BC)	SL#E1415-2231* T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS, 24 puits, n° de réf. 9020674 (fente réfrigérante 1)
				SL#E1415-2231** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (fente réfrigérante 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1.5/2.0 ml QS (fentes non réfrigérantes 2 à 4)

\* Indique le matériel de laboratoire pouvant être réfrigéré à l'aide d'un support réfrigérant muni d'un code-barres (transférable et utilisable sur le QIAsymphony AS).

\*\* Indique le matériel de laboratoire pouvant être réfrigéré à l'aide d'un support réfrigérant sans code-barres (non transférable et non utilisable sur le QIAsymphony AS).

## Matériel en plastique requis

Matériel en plastique	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Un lot, 24 échantillons*	Deux lots, 48 échantillons*	Un lot, 24 échantillons*	Deux lots, 48 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl <sup>††</sup>	24	48	24	48
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>††</sup>	64	128	104	200
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	15	30	18	36
8-Rod Covers <sup>†</sup>	3	6	3	6
	Trois lots, 72 échantillons*	Quatre lots, 96 échantillons*	Trois lots, 72 échantillons*	Quatre lots, 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl <sup>††</sup>	72	96	72	96
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>††</sup>	192	256	296	392
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	45	60	54	72
8-Rod Covers <sup>†</sup>	9	12	9	12

\* L'utilisation de moins de 24 échantillons par lot réduit le nombre requis d'embouts à filtre jetables par analyse. Le fait d'effectuer plus d'une analyse d'inventaire nécessite davantage de pointes à filtre jetables.

<sup>†</sup> Il y a 32 embouts à filtre par portoir.

<sup>‡</sup> Le nombre requis d'embouts à filtre correspond à 1 vérification d'inventaire par cartouche de réactif.

<sup>§</sup> Il y a 28 cartouches de préparation de l'échantillon par boîte d'unités.

<sup>†</sup> Il y a douze 8-Rod Covers par boîte d'unités.

Remarque : Les nombres indiqués d'embouts à filtre peuvent être différents des nombres affichés sur l'écran tactile en fonction des paramètres. Il est recommandé de charger le nombre maximal de pointes possible.

## Volume d'éluat

Volume d'éluat choisi (µl)*	Volume d'éluat initial (µl) <sup>†</sup>
60	75

\* Il s'agit du volume minimum accessible d'éluat dans le tube d'éluat finale pour le portoir de tubes EMT QIAGEN (n° de réf. 19588) et les tubes à bouchon à vis Sarstedt de 1,5 ml (n° de réf. 72.607). Dans certains cas particuliers, le volume d'éluat final pour des échantillons uniques peut être inférieur de 5 µl au maximum.

<sup>†</sup> Le volume initial de tampon d'éluat nécessaire pour garantir que le volume réel de l'éluat est le même que le volume sélectionné.

## Préparation de la protéinase K en position 1 (et si nécessaire, en position 2) de la fente A

Le kit QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) contient une solution de protéinase K prête à l'emploi. La protéinase K peut être conservée à température ambiante (15-25 °C). Pour un stockage prolongé, nous suggérons de conserver les flacons d'enzymes avec la protéinase K à 2-8 °C.

Nombre d'échantillons	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11 660 µl†
96	11 660 µl†	23 320 µl†

\* Pour chaque échantillon, 110 µl (pour 2400 µl de plasma) ou 220 µl (pour 4800/4000 µl de plasma) sont nécessaires, plus un volume vide supplémentaire de 1100 µl [(n x 110 ou 220 µl) + 1100 µl].

† Si plus de 11 660 µl sont nécessaires, utilisez un deuxième tube (Corning, n° de réf. 352051). Dans le second tube, un volume mort supplémentaire de 1100 µl est requis.

Remarque : Les tubes contenant la protéinase K sont placés dans un portoir de tubes. Le portoir de tubes contenant la protéinase K doit être placé sur les positions 1 et 2 dans la fente A du tiroir « Sample » (Échantillon). Nous recommandons d'utiliser les tubes 14 ml, 17 x 100 mm en polystyrène à fond rond (Corning, n° de réf. 352051) pour la protéinase K.

## Historique des révisions

Date	Modifications
R1, 04/2021	Version initiale.
R2, 04/2021	Remplacement de « (CE 0123) » au texte de format normal par celui indiquant de suivre les exigences de conception de l'IVDR Annexe X

Pour obtenir des renseignements actualisés et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des kits et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou peuvent être demandés aux services techniques QIAGEN ou au distributeur local.

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN Group) ; PAXgene® (PreAnalytiX GmbH); BD™ (Becton Dickinson and Company) ; Corning®, Falcon® (Corning, Inc.) ; Eppendorf®, LoBind® (Eppendorf AG) ; Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.) ; Starlab® (Starlab International GmbH). Les marques déposées, marques de commerce et autres marques citées dans ce document doivent être considérées comme protégées par la loi, même si elles ne sont pas spécifiquement signalées comme telles.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, tous droits réservés.

---

Commandez sur [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistance technique [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site Web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)