

Mai 2021

Mode d'emploi (manuel) du QIASymphony[®] PAXgene[®] Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)



192

Version 1



Pour utilisation diagnostique in vitro



768566



PreAnalytiX GmbH, Feldbachstrasse, CH – 8634
Hombrechtikon, Suisse



R1

1123518FR



A QIAGEN / BD Company

Marques commerciales : PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH) ; QIAGEN®, QIAcube®, QIASymphony® (groupe QIAGEN) ; Corning®, Falcon® (Corning, Inc.) ; Eppendorf® (Eppendorf AG) ; SpeedVac® (Thermo Fisher Scientific ou ses filiales). Les noms déposés, les marques commerciales, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

Contrat de licence limité pour le QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit doit être utilisé uniquement avec les composants du panel, conformément aux protocoles fournis avec le produit et à ce manuel. PreAnalytiX® n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce panel avec tout autre composant non fourni dans ce panel, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, dans ce manuel et dans d'autres protocoles disponibles sur les sites www.qiagen.com et www.PreAnalytiX.com.
2. En dehors des licences énoncées expressément, PreAnalytiX n'offre aucune garantie que ce panel et/ou sa ou ses utilisations ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
3. Ce panel et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. PreAnalytiX rejette notamment toutes autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du panel consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre, de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. PreAnalytiX peut faire appliquer les interdictions de ce Contrat 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 ce Contrat de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au panel et/ou à ses composants.

Pour consulter les mises à jour de la licence, voir les sites www.qiagen.com et www.PreAnalytiX.com.

HB-2866-001 1123518 © 2021 PreAnalytiX GmbH, tous droits réservés.

Contenu

Utilisation prévue.....	5
Utilisateurs prévus.....	5
Description et principe	6
Résumé et explications	6
Principe de la procédure	7
Matériel fourni.....	9
Contenu du kit	9
Matériel nécessaire, mais non fourni	10
Équipement.....	10
Avertissements et précautions	11
Informations de sécurité.....	11
Précautions	12
Stockage et manipulation des réactifs.....	14
Composants du kit.....	14
Prélèvement et préparation des échantillons	16
Procédure	20
Description générale : Purification automatisée de l'ADNlc sur l'appareil QIAsymphony SP	20
Synthèse du protocole.....	25
Protocole : Purification automatisée de l'ADNlc sur l'appareil QIAsymphony SP	28
Contrôle qualité.....	31
Limitations.....	31
Guide de dépannage.....	32
Symboles.....	34

Annexe : Quantification de l'ADNlc.....	36
Informations pour commander.....	37
Historique des révisions du document.....	39

Utilisation prévue

Le QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), qui doit être utilisé avec l'appareil QIASymphony SP, est conçu pour l'isolement et la purification automatisées de l'ADN libre circulant (ADNlc) dans le plasma préparé à partir de sang total veineux humain prélevé dans un PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Le QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) fait appel à une technologie à particules magnétiques pour l'isolement et la purification automatisées de l'ADNlc dans le plasma humain.

Le QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) est conçu pour une utilisation diagnostique in vitro et doit être réservé aux utilisateurs professionnels, tels que les techniciens et les médecins formés aux techniques de biologie moléculaire.

Utilisateurs prévus

Ce kit est réservé à un usage professionnel.

Ce produit est destiné à être utilisé uniquement par un personnel ayant reçu les instructions et la formation spécifiquement liées aux techniques de biologie moléculaire et étant familiarisé avec cette technologie.

Description et principe

Résumé et explications

L'ADN libre circulant (ADNlc) est généralement présent dans le plasma sous forme de fragments courts (< 1 000 pb). La concentration en ADNlc dans le plasma est généralement faible (entre 1 et 100 ng/ml) et varie considérablement entre les individus. Combiné au PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) marqué CE, le QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) constitue une méthode normalisée pour le prélèvement, le stockage et le transport du sang, pour la stabilisation de l'ADN en tube fermé et pour l'isolement et la purification de l'ADNlc subséquents dans le plasma humain à l'aide de l'appareil QIAGEN® QIASymphony SP.

Les protocoles sur l'appareil QIASymphony SP sont fournis pour l'extraction de l'ADNlc dans 2,4 et 4,8 ml de plasma préparé dans des PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) par double centrifugation. Le plasma est transféré et traité dans un tube secondaire sur l'appareil QIASymphony SP.

Des protocoles de manipulation des tubes primaires sont également disponibles sur l'appareil QIASymphony SP pour des volumes de 2,4 et 4 ml de plasma. Dans ce cas, il n'est pas nécessaire d'appliquer une seconde étape de centrifugation ni de transférer l'échantillon dans un tube secondaire.

La technologie à particules magnétiques du QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit permet la purification d'ADNlc de haute qualité exempt de protéines, de nucléases et d'autres impuretés. L'appareil QIASymphony SP effectue toutes les étapes de la procédure de purification. Il est possible de traiter jusqu'à 96 échantillons, par lots de 24, en un seul cycle. Pour l'isolement de l'ADN génomique (ADNg) de la fraction leucoplaquettaire du sang prélevé dans des PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) sur l'appareil QIASymphony SP, se reporter aux instructions contenues dans le mode d'emploi du PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) (www.PreAnalytiX.com).

Principe de la procédure

La technologie de l'appareil QIASymphony SP associe la rapidité et l'efficacité de la purification des acides nucléiques par échange d'anions avec la facilité de manipulation des particules magnétiques (figure 1). La procédure de purification est conçue pour garantir un traitement sans risque et reproductible des échantillons potentiellement infectieux, et elle est constituée de 3 étapes : liaison, lavage et élution (figure 2). Les utilisateurs ont le choix entre plusieurs volumes d'échantillon.

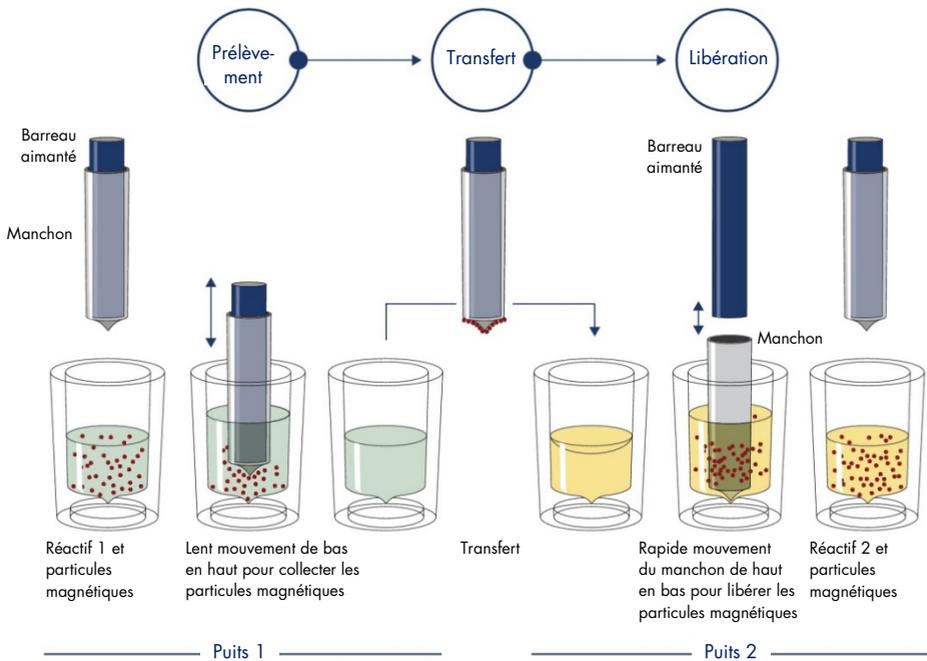


Figure 1. Représentation schématique du principe de l'appareil QIASymphony SP. L'appareil QIASymphony SP traite l'échantillon contenant des particules magnétiques comme suit : Un barreau aimanté protégé par un manchon pénètre dans un puits contenant l'échantillon et attire les particules magnétiques. Le manchon du barreau aimanté est ensuite placé au-dessus d'un autre puits dans lequel les particules magnétiques sont libérées. Ces étapes sont répétées plusieurs fois au cours du traitement des échantillons. Équipé d'une tête magnétique contenant une barrette de 24 barreaux aimantés, le QIASymphony SP peut traiter jusqu'à 24 échantillons simultanément.

QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit

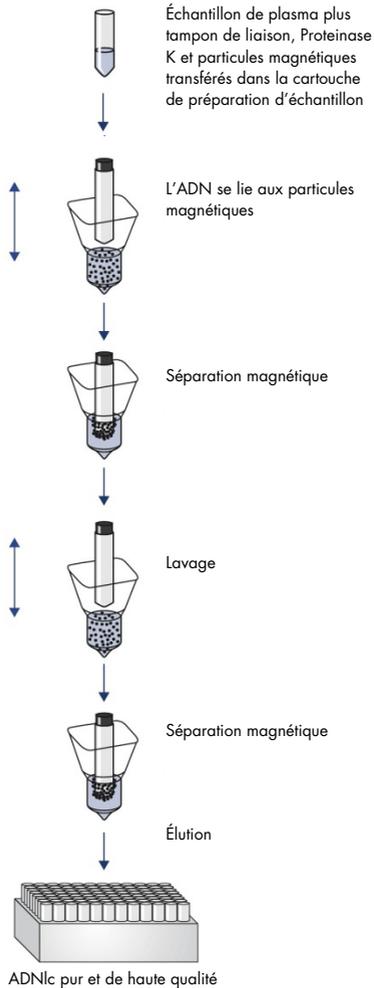


Figure 2. Étapes d'extraction de l'ADNlc avec le QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD). Les fragments d'ADNlc sont isolés du plasma préparé à partir de sang total veineux humain prélevé dans un PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Pendant la première étape de traitement, les protéines plasmatiques sont digérées par la Proteinase K et l'ADNlc se lie sur la surface des particules magnétiques. Trois étapes de lavage garantissent l'élimination des contaminants. Enfin, l'ADNlc est élué des particules magnétiques et est prêt à l'emploi pour les applications en aval.

Matériel fourni

Contenu du kit

Abréviation	Élément	Quantité	Ingrédients actifs	Concentration [%]**
	QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)	(192)		
	N° de référence	768566		
	Nombre de réactions	192		
RC	Reagent cartridge (Cartouche de réactif)*†	2	Détergent non ionique Particule magnétique d'échange d'anions NaOH Éthanol	≥ 0,5–< 10 [p/p] S.o. ≥ 0,05–< 0,1 [p/p] ≥ 70–< 90 [v/v]
PROTK	Proteinase K (Protéinase K)†	5 × 10 ml	Proteinase K	≥ 1–< 3 % [p/p]
PL	Piercing lid (Couvercle perforable)	2	–	S.o.
RSS	Reuse Seal Set‡	2	–	S.o.
	Elution Microtubes CL, racked (Microtubes d'éluion CL, sur portoir)#	2	–	S.o.
	Caps for Elution Microtubes (Bouchons pour microtubes d'éluion)#	1 × (55 × 8)	–	S.o.
	Mode d'emploi (manuel)	1	–	S.o.
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (Outil de sélection du protocole PAXgene Blood de purification d'ADNlc)	1	–	S.o.

* Contient de l'azoture de sodium comme conservateur.

† Voir page 34 pour la liste des symboles et les définitions.

‡ Chaque Reuse Seal Set contient 8 bandelettes d'étanchéité réutilisables.

Également disponibles séparément ; voir Informations pour commander.

** Concentration maximale dans un seul puits.

Matériel nécessaire, mais non fourni

Lors de la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques, respecter toujours les précautions universelles et porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection conformément aux normes et procédures appliquées dans votre établissement. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur du produit.

Vérifier que les appareils ont été contrôlés et étalonnés conformément aux recommandations du fabricant.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, N° de réf. 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, N° de réf. 997004)
- Filter-Tips, 200 µl et Filter-Tips, 1500 µl (QIAGEN, N° de réf. 990332 et 997024, respectivement)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, N° de réf. 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD, PreAnalytiX ; N° de réf. 768165)
- Tubes à échantillons. Pour les formats compatibles de tubes primaires et secondaires, voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet Product Resources (Ressources produit) de la page produit à l'adresse www.qiagen.com.
- Pour les formats compatibles de tubes d'éluion, voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet Product Resources (Ressources produit) de la page produit à l'adresse www.qiagen.com.

Équipement*

- Pipette (5 ml)
- Appareil QIASymphony SP (QIAGEN, N° de réf. 9001297)

* Avant utilisation, vérifier que les appareils ont été contrôlés et étalonnés conformément aux recommandations du fabricant.

Avertissements et précautions

Pour utilisation diagnostique in vitro

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

Noter qu'il est obligatoire pour les clients situés dans l'Union européenne de rapporter tout incident grave survenant en lien avec le dispositif au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre de l'utilisateur et/ou du patient.

Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques, respecter toujours les précautions universelles et porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection conformément aux normes et procédures appliquées dans votre établissement. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Elles sont disponibles en ligne au format PDF à l'adresse www.qiagen.com/safety, où il est possible de trouver, consulter et imprimer les FDS de chaque kit et composant de kit PreAnalytiX.

- Tous les produits chimiques et biologiques sont potentiellement dangereux. Les prélèvements et échantillons sont potentiellement infectieux et doivent être traités comme du matériel présentant un risque biologique.
- Jeter les échantillons et les dosages usagés conformément aux procédures de sécurité locales.

Précautions

Les tampons inclus dans la cartouche de réactif (RC) contiennent de l'azoture de sodium. En cas de déversement de tampons, nettoyer avec un détergent de laboratoire approprié et de l'eau. Si le liquide renversé contient des agents potentiellement infectieux, nettoyer l'endroit contaminé d'abord avec un détergent de laboratoire et de l'eau puis avec de l'hypochlorite de sodium (eau de Javel) à 1 % (v/v).

Les mentions de danger et conseils de prudence suivants s'appliquent aux composants du QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit.

MBS3

Contient : azoture de sodium. Avertissement ! Peut être nocif en cas d'ingestion. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

Proteinase K



Contient : Proteinase K. Danger! Provoque une légère irritation cutanée. Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Porter un équipement de protection respiratoire. En cas d'exposition prouvée ou suspectée : appeler un centre antipoison ou un médecin. Transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer.

QSE2



Contient : hydroxyde de sodium. Danger ! Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Éliminer le contenu/récipient dans une usine de traitement des déchets agréée. En cas de contact avec les yeux : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. En cas de contact avec la peau (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se doucher. Appeler immédiatement un centre antipoison ou un médecin. Garder sous clef. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

QSW9



Contient : éthanol. Danger ! Liquide et vapeurs très inflammables. Provoque une sévère irritation des yeux. Tenir à l'écart de la chaleur/des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. Ne pas fumer. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

Stockage et manipulation des réactifs

Le QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) doit être stocké en position verticale à température ambiante (15–25 °C). Les particules magnétiques contenues dans les cartouches de réactifs (RC) restent actives lorsqu'elles sont stockées dans cette plage de température.

Remarque : La date d'expiration du kit figure sur l'étiquette de la boîte du QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD). Cette date d'expiration est celle de la cartouche de réactif.

Ne pas utiliser le QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) après la date d'expiration.

Composants du kit

Le QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) contient une solution de Proteinase K prête à l'emploi qui peut être stockée à température ambiante (15–25 °C).

Ne pas stocker les RC à des températures inférieures à 15 °C.

Toute RC de QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) ouverte peut être stockée à température ambiante (15–25 °C) pendant 4 semaines, permettant de réduire les coûts grâce à la réutilisation des réactifs et d'offrir plus de souplesse dans le traitement des échantillons. Si une RC est entamée, remettre le couvercle du compartiment contenant les particules magnétiques et sceller les cartouches de réactifs (RC) dès la fin du protocole avec les bandelettes d'étanchéité réutilisables fournies pour éviter l'évaporation.

Pour éviter l'évaporation du réactif, la RC ne doit pas être ouverte pendant plus de 15 heures (durée des cycles comprise) à une température ambiante maximale de 32 °C. Le stockage incorrect des composants du kit peut accélérer le vieillissement des tampons.

L'analyse de lots contenant un faible nombre d'échantillons (< 24) augmente le temps d'ouverture de la RC et les volumes de tampon nécessaires, risquant de diminuer le nombre total de préparations d'échantillons par cartouche.

Éviter l'exposition des RC à la lumière UV (p. ex. pour la décontamination), car cela peut accélérer le vieillissement des RC et des tampons.

Prêter attention aux dates d'expiration et aux conditions de stockage imprimées sur l'emballage et les étiquettes des composants. Ne pas utiliser de composants périmés ou stockés dans de mauvaises conditions.

Prélèvement et préparation des échantillons

La procédure de purification est optimisée pour une utilisation avec du plasma préparé à partir de sang prélevé dans des PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). Pour plus d'informations sur le prélèvement du sang, la manipulation de ces tubes et la préparation du plasma, voir le mode d'emploi du PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), qui est disponible dans les onglets Product Resource (Ressource produit) et Resources (Ressources) des pages produit sur www.qiagen.com et www.PreAnalytiX.com, respectivement.

La préparation du plasma peut s'effectuer à l'aide (A) du protocole de double centrifugation conventionnel ou (B) de la manipulation des tubes primaires : traitement direct des PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) centrifugés une fois sur l'appareil QIASymphony SP.

A) Préparation du plasma sanguin pour les protocoles conventionnels

1. Centrifuger le PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) à température ambiante (15–25 °C) pendant 15 min à 1 600–3 000 × *g* (première centrifugation) et pendant 10 min à 1 600–3 000 × *g* (seconde centrifugation) à l'aide d'une centrifugeuse à godets oscillants chargée de façon équilibrée. Si une décélération est privilégiée, il est recommandé d'utiliser une décélération moyenne qui doit être validée pour votre méthode spécifique.

Remarque : Pour des performances optimales avec des échantillons réfrigérés avant la centrifugation, ramener les tubes à température ambiante avant leur traitement.

2. Pipetter le plasma dans un tube de centrifugeuse à fond conique de 15 ml (non fourni), en veillant à ne pas perturber la fraction leucoplaquettaire.
3. Centrifuger le tube de centrifugeuse à fond conique de 15 ml à température ambiante (15–25 °C) pendant 15 min à 1 600–3 000 × *g* (première centrifugation) et pendant 10 min à 1 600–3 000 × *g* (seconde centrifugation) à l'aide d'une centrifugeuse chargée de façon équilibrée.

Remarque : Ne pas dépasser la vitesse de centrifugation maximale recommandée par le fabricant des tubes secondaires.

4. Pipetter le volume de plasma requis (voir section « Volume d'échantillon » page 20) dans un tube en polystyrène à fond rond de 14 ml, 17 x 100 mm, en veillant à ne pas perturber le culot de cellules sanguines résiduel, le cas échéant.
5. Transférer le tube à fond rond avec l'échantillon de plasma sur le porte-tubes et charger le porte-tubes dans le tiroir de chargement d'échantillons de l'appareil QIASymphony SP.

Remarque : Pour un rendement maximal en ADNlc, traiter le volume maximal de plasma disponible.

Remarque : Éviter la formation de mousse dans ou sur les échantillons de plasma. La présence de mousse ou de bulles d'air sur les échantillons peut entraîner le pipetage d'un volume incorrect d'échantillon.

Remarque : Après le prélèvement et la centrifugation du sang, les PAXgene Blood ccfDNA Tubes (IVD) stabilisent l'ADNlc (profil d'ADNlc) dans le plasma à 2–8 °C pendant un maximum de 7 jours avant traitement du plasma. Pour un stockage plus long, nous recommandons de congeler des aliquotes.

Remarque : En cas d'utilisation d'échantillons de plasma préalablement stockés (p. ex. conservés à 2–8 °C ou congelés à –20 °C ou –70 °C/–80 °C), ils doivent être ramenés à température ambiante (15–25 °C) avant l'exécution du protocole.

B) Préparation du plasma sanguin pour la manipulation des tubes primaires sur l'appareil QIASymphony SP

1. Centrifuger le PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) à température ambiante (15–25 °C) pendant 15 min à 3 000 x g en utilisant une centrifugeuse à godets oscillants chargée de façon équilibrée. Si une décélération est privilégiée, il est recommandé d'utiliser une décélération moyenne qui doit être validée pour votre méthode spécifique.

Remarque : Pour des performances optimales avec des échantillons réfrigérés avant la centrifugation, ramener les tubes à température ambiante avant leur traitement.

2. Quantifier le volume de plasma dans chaque tube après l'avoir retiré du godet de la centrifugeuse grâce à l'outil de sélection du protocole PAXgene Blood de purification d'ADNlc fourni dans le kit (figure 3). Une fois le tube retiré de la centrifugeuse, la flèche de couleur turquoise sur l'outil est alignée avec l'interface plasma/cellules. Les traits bleus indiquent que le niveau de plasma est suffisant pour le protocole de manipulation des tubes primaires de 2,4 ou 4,0 ml. Une hauteur de colonne de plasma minimum 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 utiliser les PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) directement à bord de l'appareil QIASymphony SP

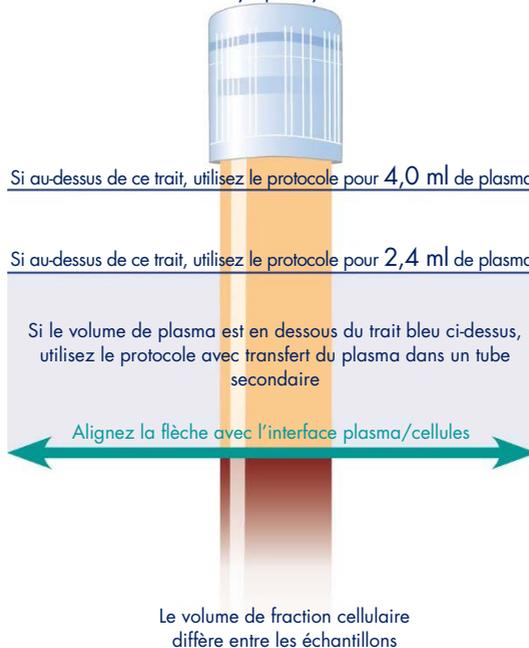


Figure 3. Détermination du volume de plasma à l'aide de l'outil de sélection du protocole PAXgene Blood de purification d'ADNlc. (Cette figure est fournie à titre d'illustration uniquement ; ne pas l'imprimer, car les dimensions réelles sont différentes – elle n'est pas adaptée à l'utilisation avec des échantillons).

Remarque : Si la séparation nette du plasma et de la fraction cellulaire ne s'est pas faite ou si les phases ont été accidentellement inversées après le retrait de la centrifugeuse, la centrifugation doit être renouvelée.

3. Retirer le bouchon Hemogard des PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) avant de placer ces derniers à bord de l'appareil QIASymphony SP pour une extraction directe de l'ADNlc.
Remarque : Le débouchage des tubes et la manipulation des tubes ouverts doivent être effectués avec précaution afin de réduire le risque de déversement d'échantillons, de contamination croisée entre les tubes et d'exposition au sang.
4. Placer les PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) ouverts contenant suffisamment de plasma dans le porte-tubes et charger le porte-tubes dans le tiroir de chargement d'échantillons de l'appareil QIASymphony SP.

C) Congélation et décongélation des échantillons de plasma traités à partir de PAXgene Blood ccfDNA Tubes

1. Pour la congélation, transférer le plasma dans des tubes appropriés (p. ex. des cryotubes) posés sur un portoir approprié.
2. Congeler et stocker le plasma à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pour un stockage en dessous de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, congeler d'abord les échantillons de plasma à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant au moins 24 h avant de les transférer à -70 ou $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Décongeler le plasma à température ambiante ($15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Remarque : Ne pas décongeler à basse température (p. ex. $4\text{ }^{\circ}\text{C}$).

4. Si des cryoprécipités se forment dans le plasma, vortexer le tube pendant 30 s après décongélation et utiliser l'échantillon pour la procédure d'isolement de l'ADNlc de l'appareil QIASymphony SP sans autre traitement.

Remarque : Il n'est pas recommandé de centrifuger le plasma pour éliminer les cryoprécipités, car ils peuvent contenir de l'ADNlc.

Remarque : Pour éviter la formation de cryoprécipités, le plasma peut être décongelé à $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 30 minutes au lieu de le décongeler à température ambiante.

Procédure

Description générale : Purification automatisée de l'ADNlc sur l'appareil QIASymphony SP

Avec l'appareil QIASymphony SP, la préparation automatisée des échantillons devient simple et pratique. Les échantillons, les réactifs, les consommables et les éluats sont séparés dans différents tiroirs. Il suffit de charger les échantillons, les réactifs fournis dans des cartouches spéciales et les portoirs de consommables dans les tiroirs correspondants avant un cycle. Lancer le protocole et récupérer l'ADNlc dans le tiroir « Eluate » (Éluat) après traitement. Consulter les manuels d'utilisation fournis avec votre appareil pour les instructions d'utilisation.

Remarque : Bien que les opérations de maintenance optionnelles ne soient pas indispensables au fonctionnement de l'appareil, elles sont fortement recommandées pour réduire le risque de contamination.

Volume d'échantillon

Dans la méthode usuelle, pour veiller à ce que les échantillons de 2,4 ml (protocole PAXcircDNA_2400) et de 4,8 ml (protocole PAXcircDNA_4800) soient transférés par l'appareil, un volume mort de respectivement 0,4 ml et 0,5 ml est nécessaire, ce qui signifie qu'un volume d'échantillon minimal de 2,8 et 5,3 ml doit être fourni. Si le volume de plasma est inférieur à 2,8 ou 5,3 ml, la fonction de protocole intégrée Less Sample mode (mode Moins d'échantillon) permet automatiquement de transférer des volumes de plasma inférieurs à ceux indiqués. Dans ce cas, un moindre volume d'échantillon est transféré par l'appareil et le volume transféré est enregistré dans le fichier de résultats. En outre, les échantillons respectifs sont marqués comme indéfinis (code d'erreur 140043, Enable Less Sample mode [mode Autoriser une quantité moindre d'échantillon]). Les volumes de plasma minimaux pour activer le Less Sample mode (mode Moins d'échantillon) sont de 1,6 et 4,1 ml. Les échantillons ne sont pas traités et sont marqués comme non valides si un volume d'échantillon inférieur est fourni. Pour la méthode de manipulation de tubes primaires, le volume d'échantillon approprié est garanti à l'aide de l'outil de sélection du protocole PAXgene Blood de purification d'ADNlc fourni dans le kit (pour sa description, voir « Préparation du matériau d'échantillon » page 24).

Chargement des RC dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

Les réactifs pour la purification de l'ADNlc sont contenus dans une cartouche de réactif (RC) innovante (figure 4). Chaque compartiment de la cartouche contient un réactif particulier, tel que particules magnétiques, tampon de liaison, tampon de lavage ou tampon d'éluion. Les RC entamées peuvent être refermées à l'aide de bandelettes d'étanchéité réutilisables en vue d'une réutilisation ultérieure, évitant de jeter les restes de réactifs à la fin de la procédure de purification.



Figure 4. Cartouche de réactif (RC) QIAAsymphony. La RC contient tous les réactifs nécessaires au protocole.

Avant de commencer la procédure, veiller à la remise en suspension complète des particules magnétiques. Avant la première utilisation, retirer le compartiment à particules magnétiques du socle de la RC, vortexer énergiquement pendant au moins 3 min et remettre le compartiment sur le socle de la RC.

Remarque : Les particules magnétiques peuvent changer de couleur. Cela n'a aucun impact sur les performances.

Placer la RC sur le support de RC. Placer le couvercle perforable sur le dessus de la RC avant de l'utiliser pour la première fois (figure 4).

Remarque : Le couvercle perforable est coupant. Faire attention lors de sa mise en place sur la RC. Veiller à bien orienter le couvercle perforable sur la RC.

Après avoir retiré le couvercle du compartiment à particules magnétiques, charger la RC dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).

Les RC entamées peuvent être stockées jusqu'à la prochaine utilisation (voir « Stockage et manipulation des réactifs » page 14).

Remarque : Il faut ajouter la Proteinase K (voir « Actions à effectuer avant de commencer » page 26).

Remarque : Veiller à ne pas échanger les RC, les compartiments de particules magnétiques et les flacons de Proteinase K entre des lots de kit différents.

Chargement du matériel en plastique dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

Les cartouches de préparation des échantillons, les 8-Rod Covers (pré-rangés dans des boîtes) et les cônes à filtre jetables (cônes de 200 µl sur portoirs bleus, de 1 500 µl sur portoirs noirs) sont chargés dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).

Remarque : Veiller à retirer les couvercles des boîtes avant leur chargement dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).

Remarque : Les cônes sont munis de filtres pour éviter la contamination croisée.

Les emplacements pour portoirs de cônes sur le plan de travail de l'appareil QIASymphony SP peuvent accueillir les deux types de portoirs. L'appareil QIASymphony SP identifie le type des cônes chargés pendant la réalisation de l'inventaire.

Remarque : Ne pas remplir les portoirs de cônes, les boîtes des cartouches de préparation d'échantillons ou les 8-Rod Covers avant de lancer un nouveau protocole. L'appareil QIASymphony SP peut utiliser des portoirs de cônes et des boîtes partiellement utilisés.

Pour plus d'informations sur la commande de matériel en plastique, voir page 37.

Chargement du tiroir « Waste » (Déchets)

Les cartouches de préparation des échantillons et les 8-Rod Covers utilisés au cours d'un cycle sont rangés dans des boîtes vides situées dans le tiroir « Waste » (Déchets). Veiller à ce que le tiroir « Waste » (Déchets) contienne suffisamment de boîtes vides pour accueillir tout le matériel en plastique utilisé au cours du protocole.

Remarque : Veiller à retirer les couvercles des boîtes avant leur chargement dans le tiroir « Waste » (Déchets). Si des boîtes pour 8-Rod Covers sont utilisées dans le but de récupérer les cartouches de préparation des échantillons et les 8-Rod Covers, veiller à retirer le séparateur de boîtes.

Un sachet de récupération des cônes à filtre usagés doit être fixé sur la face avant du tiroir « Waste » (Déchets).

Remarque : L'automate ne vérifie pas la présence du sachet pour cônes usagés. Vérifier la bonne fixation du sachet pour cônes usagés avant le démarrage d'un protocole. Pour plus d'informations, consulter le manuel d'utilisation de votre appareil. Vider le sachet de récupération des cônes usagés après le traitement de 96 échantillons au maximum afin d'éviter un engorgement dû aux cônes.

Un flacon à déchets collecte les liquides usagés issus de la procédure de purification. Le tiroir « Waste » (Déchets) ne peut être fermé que si le flacon à déchets est en place. Éliminer les déchets liquides conformément aux réglementations locales de sécurité et de respect de l'environnement. Ne pas autoclaver le flacon à déchets rempli. Vider le flacon après le traitement d'un maximum de 96 échantillons.

Chargement du tiroir « Eluate » (Éluat)

Charger le portoir d'éluat requis dans le tiroir « Eluate » (Éluat). Dans la mesure où le stockage à long terme des éluats dans le tiroir « Eluate » (Éluat) peut entraîner leur évaporation ou condensation, la position de refroidissement doit être utilisée. Utiliser uniquement l'« Elution slot 1 » (Emplacement d'éluat 1) avec l'adaptateur réfrigérant correspondant.

Volume d'éluat choisi (µl)*	Volume d'éluat initial (µl)†
60	75

* Il s'agit du volume accessible minimal d'éluat dans le tube d'éluat final pour le porte-échantillons QIAGEN EMT (N° de réf. 19588) et les tubes à bouchon à vis Sarstedt de 1,5 ml (N° de réf. 72.607). Dans certains cas, le volume d'éluat final pour des échantillons simples peut être de 5 µl ou moins.

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

Réalisation de l'inventaire

Avant le démarrage d'un cycle, l'appareil vérifie que les consommables chargés dans les différents tiroirs sont en quantité suffisante pour les lots en file d'attente.

Préparation du matériau d'échantillon

Voir « Prélèvement et préparation des échantillons » page 16.

Stockage de l'ADNlc

Après la préparation d'échantillons, les éluats d'ADNlc peuvent être stockés à -20 ou -80 °C. Les éluats congelés ne doivent pas être décongelés plus de trois fois. Pour des informations actualisées sur la stabilité de l'ADNlc dans les éluats, voir la page produit sur www.qiagen.com ou www.PreAnalytiX.com.

Synthèse du protocole

Tableau 1. Synthèse du protocole

Échantillon	Traitement du PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)	Volume d'échantillon initial (dont volume mort) (ml)	Volume d'échantillon utilisé pour l'extraction de l'ADNlc (ml)	Volume d'éluion (µl)	Protocole de l'appareil QIASymphony SP
Plasma préparé à partir de sang total veineux humain dans des PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)	2 x centrifugation, transfert du plasma dans un tube secondaire	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	1 x centrifugation, traitement direct sur l'appareil QIASymphony SP	Conformément à l'outil de sélection	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Points importants avant de commencer

- Lors de la manipulation de produits chimiques, porter systématiquement une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les FDS appropriées.
- Veiller à vous familiariser avec l'utilisation du QIASymphony SP. Consulter les manuels d'utilisation fournis avec votre appareil pour les instructions d'utilisation.
- Avant de commencer la procédure, lire la section « Principe de la procédure ».
- Veiller à vous familiariser avec la fiche de protocole et avec la liste du matériel de laboratoire [elles sont disponibles dans l'onglet Product Resources (Ressources produit) de la page produit sur www.qiagen.com].
- Éviter d'agiter vigoureusement la RC afin d'éviter la formation de mousse, car cela peut causer des problèmes de détection du niveau de liquide.

- Le sang doit être prélevé dans des PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD ; PreAnalytiX, N° de réf. 768165). Pour les instructions de prélèvement du sang ainsi que de manipulation et de traitement du plasma, voir le mode d'emploi disponible dans les onglets Product Resources (Ressources produit) et Resources (Ressources) de la page produit sur www.qiagen.com et www.PreAnalytiX.com, respectivement.

Actions à effectuer avant de commencer

- Avant de commencer la procédure, veiller à la remise en suspension complète des particules magnétiques. Avant la première utilisation, vortexer vigoureusement le compartiment à particules magnétiques pendant au moins 3 min.
- Vérifier que le couvercle perforable se trouve sur la RC et que le couvercle du compartiment à particules magnétiques a été retiré ou, en cas d'utilisation d'une RC entamée, que les bandelettes d'étanchéité réutilisables ont été retirées.
- La Proteinase K n'est pas incluse dans la RC ; elle doit être fournie par l'utilisateur (tiroir à échantillons, emplacement A, position 1 et/ou 2). Vérifier que le bon volume de Proteinase K est disponible.

Le QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) contient une solution de Proteinase K prête à l'emploi. La Proteinase K peut être conservée à température ambiante (15–25 °C). Pour la conserver plus longtemps, nous suggérons de conserver les flacons enzymatiques de Proteinase K entre 2 et 8 °C.

Numéro d'échantillon	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1 980 µl	2 860 µl
24	3 740 µl	6 380 µl
48	6 380 µl	11 660 µl†
96	11 660 µl†	23 320 µl†

* Pour chaque échantillon, les volumes requis sont de 110 µl (pour 2 400 µl de plasma) ou 220 µl (pour 4 800/4 000 µl de plasma), plus un volume mort supplémentaire de 1 100 µl [(n x 110 ou 220 µl) + 1 100 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 1 100 µl est requis.

Remarque : Les tubes contenant la Proteinase K sont placés dans un porte-tubes. Le porte-tubes contenant la Proteinase K doit être placé en positions 1 et 2 dans l'emplacement A du tiroir « Sample » (Échantillon). Nous recommandons d'utiliser des 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom tubes (Corning, réf. no 352051) pour la Proteinase K.

- Si les échantillons sont munis de codes-barres, veiller à les orienter dans le porte-tubes de façon à ce que les codes-barres soient en face du lecteur de code-barres sur le côté gauche de l'appareil QIASymphony SP.
- Pour plus d'informations sur les tubes à échantillon et les volumes d'échantillon minimaux compatibles avec les protocoles, voir la liste du matériel de laboratoire correspondante disponible dans l'onglet Product Resources (Ressources produit) de la page produit sur www.qiagen.com.

Protocole : Purification automatisée de l'ADNlc sur l'appareil QIASymphony SP

Des informations détaillées sur chaque protocole, y compris les volumes et les tubes, figurent dans la fiche de protocole et la liste du matériel de laboratoire disponibles dans l'onglet Product Resources (Ressources produit) de la page produit sur www.qiagen.com. Pour la préparation du matériau d'échantillon [le plasma préparé à partir de sang total veineux humain prélevé dans un PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)], voir les sections « Prélèvement et préparation des échantillons » et « Préparation du matériau d'échantillon » dans ce manuel ainsi que le mode d'emploi des tubes disponible dans l'onglet Product Resources (Ressources produit) et dans l'onglet Resources (Ressources) de la page produit sur www.qiagen.com ou www.PreAnalytiX.com, respectivement.

1. Fermer tous les tiroirs et le capot.
2. Allumer l'appareil QIASymphony SP et attendre que l'écran Sample Preparation (Préparation des échantillons) s'affiche et que la procédure d'initialisation soit terminée.
3. L'interrupteur d'alimentation est situé dans le coin inférieur gauche de l'appareil QIASymphony SP.
4. Se connecter à l'appareil.

Charger le portoir d'éluotion requis dans le tiroir « Eluate » (Éluat).

Ne pas utiliser de plaque 96 puits dans l'« Elution slot 4 » (Emplacement d'éluotion 4). Seul doit être utilisé l'« Elution slot 1 » (Emplacement d'éluotion 1), avec l'adaptateur réfrigérant correspondant.

Lors de l'utilisation d'une plaque 96 puits, veiller à bien orienter la plaque pour éviter de confondre les échantillons lors des analyses en aval.

Lors de l'utilisation du portoir Elution Microtubes CL, retirer la base en faisant pivoter le portoir jusqu'à ce que la base se libère.

5. Veiller à préparer correctement le tiroir « Waste » (Déchets), puis lancer la réalisation de l'inventaire de ce tiroir, y compris la goulotte d'évacuation des cônes, la station d'attente des cônes, le flacon vide à déchets liquides et les boîtes vides. Remplacer le sachet pour cônes usagés si nécessaire.

6. Charger la ou les RC ainsi que les consommables nécessaires dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).
7. Lancer la réalisation de l'inventaire du tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).
8. Placer les échantillons sur le support à échantillons approprié avant de les charger dans le tiroir « Sample » (Échantillon).

Remarque : Outre le traitement usuel comprenant le transfert de plasma dans un support à échantillons approprié (14 ml Falcon® polystyrene round-bottom tube 17 x 100 mm), la méthode de manipulation de tube primaire PAXgene Blood ccfDNA Tube permet l'extraction d'ADNlc directement à partir du PAXgene Blood ccfDNA Tube (10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube [CE-IVD], 16 x 100 mm). Pour plus d'informations sur la manipulation des tubes primaires, voir la fiche de protocole, la liste du matériel de laboratoire et le mode d'emploi disponibles dans l'onglet Product Resources (Ressources produit) et dans l'onglet Resources (Ressources) de la page produit sur www.qiagen.com et www.PreAnalytiX.com, respectivement.

9. À l'aide de l'écran tactile, entrer les informations nécessaires pour chaque lot d'échantillons et pour la Proteinase K à traiter.

Entrer les informations suivantes :

- Informations d'échantillons (en fonction des portoirs à échantillons utilisés, sélectionner BD #352051 FalconPP 17 x 100 ou BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100)
- Protocole à effectuer (jeu de contrôles de dosage)
- Volume d'éluion et position de sortie

Une fois que les informations sur le lot ont été entrées, l'état passe de LOADED (CHARGÉ) à QUEUED (EN ATTENTE). Dès qu'un lot est mis en attente, le bouton Run (Analyse) apparaît.

10. Placer la Proteinase K sur le support à échantillons approprié en position 1 et 2 avant de les charger dans l'emplacement A du tiroir « Sample » (Échantillon).
11. Définir la Proteinase K en appuyant sur le bouton IC.
12. Appuyer sur le bouton Run (Exécuter) pour lancer la procédure de purification.

Toutes les étapes de traitement sont entièrement automatisées. À la fin du protocole, l'état du lot passe de RUNNING (Analyse en cours) à COMPLETED (Terminé).

13. Retirer le portoir d'élu­tion contenant l'ADNlc purifié du tiroir « Eluate » (Éluat). Confirmer que le portoir d'élu­tion a bien été retiré à l'aide du logiciel de l'appareil QIASymphony SP.

14. L'ADNlc est prêt à l'emploi et peut être stocké à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ou $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 6 mois au maximum.

QIAGEN recommande de retirer la plaque d'élu­tion du tiroir « Eluate » (Éluat) immédiatement après la fin du cycle. En fonction de la température et du taux d'humidité, les plaques d'élu­tion laissées dans l'appareil QIASymphony SP après un cycle peuvent subir une condensation ou évaporation.

Remarque : Il est possible d'utiliser la fonction de refroidissement de l'appareil QIASymphony SP pour les cycles exécutés pendant la nuit.

Les particules magnétiques ne sont généralement pas transférées dans les éluats. Si des particules magnétiques sont transférées dans les éluats, cela n'affecte pas la plupart des applications en aval.

S'il faut éliminer des particules magnétiques avant l'exécution des applications en aval, il faut d'abord placer les tubes ou les plaques d'élu­tion dans un aimant approprié et transférer les éluats dans un tube propre (voir « Annexe : Quantification de l'ADNlc »).

Les fichiers de résultats sont créés pour chaque plaque d'élu­tion.

15. Si une RC a été entamée, veiller à la sceller après la fin du protocole avec les bandelettes d'étanchéité réutilisables fournies pour éviter l'évaporation.

Remarque : Pour plus d'informations sur le stockage des RC entamées, voir « Stockage et manipulation des réactifs ».

16. Jeter les tubes à échantillons et autres déchets conformément aux réglementations de sécurité locales.

Voir « Avertissements et précautions » pour les informations de sécurité.

17. Nettoyer l'appareil QIASymphony SP.

Suivre les instructions de maintenance des manuels d'utilisation fournis avec votre appareil. S'assurer de nettoyer régulièrement les protège-cônes afin de minimiser le risque de contamination croisée.

18. Fermer les tiroirs et éteindre l'appareil QIASymphony SP.

Contrôle qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot du QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) est testé selon des spécifications prédéterminées afin d'assurer une qualité constante du produit.

Limitations

Les performances du système ont été déterminées dans des études d'évaluation des performances en purifiant l'ADNlc dans le plasma préparé à partir de sang total veineux humain prélevé en PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Les caractéristiques de performances du QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) ont été déterminées avec des fragments d'ADNlc ribosomique (18S) et du chromosome Y (DYS14) dans le plasma.

L'utilisateur a la responsabilité de vérifier des performances du système pour toutes les procédures utilisées dans son laboratoire qui ne sont pas couvertes par les études d'évaluation des performances menées par QIAGEN et PreAnalytiX.

Afin de limiter le risque d'impact négatif sur les résultats diagnostiques, des contrôles appropriés doivent être utilisés pour les applications en aval. Tous les résultats diagnostiques générés doivent être interprétés à la lumière des autres observations cliniques ou résultats biologiques disponibles.

Guide de dépannage

Ce guide de dépannage peut vous aider à résoudre les problèmes éventuels. Pour les coordonnées et une liste de réponses aux questions fréquentes, visiter la page produit correspondante sur www.PreAnalytiX.com ou www.qiagen.com.

Commentaires et suggestions

Manipulation générale

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Message d'erreur affiché sur l'écran tactile | En cas d'affichage d'un message d'erreur pendant un protocole, se reporter aux manuels d'utilisation fournis avec votre appareil. |
| b) | Variation du volume des éluats après les cycles de nuit | Pour optimiser la cadence, le QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) permet le traitement des échantillons pendant la nuit en refroidissant les éluats sur l'appareil QIASymphony SP. Pendant les longues périodes de refroidissement, le volume des éluats peut changer en fonction de la température et du taux d'humidité du laboratoire. Par exemple, si le volume choisi était de 60 µl à 15–25 °C et 30–60 % d'humidité, le volume peut être compris entre 50 et 85 µl après 12 heures de stockage sur l'appareil. |

Cryoprécipités après décongélation des échantillons de plasma

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Des cryoprécipités se forment dans le plasma | Pour éviter la formation de cryoprécipités, le plasma peut être décongelé à 30 °C pendant 30 minutes au lieu de le décongeler à température ambiante. Ne pas décongeler à plus basse température (p. ex. 4 °C). Vortexer le tube pendant 30 secondes après décongélation |
| b) | Faible rendement en ADNc dans le plasma après élimination des cryoprécipités | Ne pas centrifuger le plasma pour éliminer les cryoprécipités, car ils peuvent contenir de l'ADNc. |

Volume de plasma insuffisant à partir des PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Moins de 10 ml de sang ont été prélevés dans le PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) | Veiller à ce que 10 ml de sang soient prélevés dans le PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Voir le mode d'emploi du PAXgene Blood ccfDNA Tube. |
| b) | Fraction cellulaire élevée | Une fraction cellulaire élevée (hématocrite) dans le sang total humain (p. ex. au-dessus de 51 % pour les hommes ou 47 % pour les femmes) peut entraîner une diminution du volume de plasma. |
| c) | Faible rendement en plasma après centrifugation | Une plus grande durée de stockage et de transport du sang ou des conditions de centrifugation différentes des conditions spécifiées peuvent affecter le rendement en plasma. |

Précipité dans un compartiment de la cartouche de réactif (RC) ouverte dans le QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

- | | | |
|----|-----------------------|---|
| a) | Évaporation du tampon | Une évaporation excessive peut augmenter la concentration en sel dans les tampons. Jeter la RC. Veiller à ce que les compartiments à tampons d'une RC entamée soient scellés avec des bandelettes d'étanchéité réutilisables lorsqu'elle n'est pas utilisée pour la purification. |
| b) | Stockage de la RC | Le stockage de la RC en dessous de 15 °C peut entraîner la formation de précipités. |

Faible rendement en ADNlc

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Remise en suspension incomplète des particules magnétiques | Avant de commencer la procédure, veiller à ce que les particules magnétiques soient complètement remises en suspension. Vortexer pendant au moins 3 minutes avant utilisation. Une remise en suspension incomplète peut entraîner des erreurs de pipetage. |
| b) | Obstruction de la pointe de pipette par un matériel insoluble | Un matériel insoluble n'a pas été éliminé de l'échantillon avant le démarrage de la procédure de purification sur l'appareil QIAAsymphony SP. |
| c) | Le matériau d'échantillon contient une faible concentration en ADNlc | En raison des très faibles quantités d'ADNlc dans les échantillons de plasma, il peut s'avérer difficile de mesurer la concentration en ADNlc selon la méthode de quantification utilisée.
Il est recommandé d'utiliser une qPCR sensible pour vérifier la concentration en ADNlc dans les éluats. |
| d) | RC insuffisamment scellée | Les échanges avec l'air environnant peuvent provoquer une baisse de stabilité des tampons, conduisant à une baisse d'efficacité de l'extraction de l'ADNlc avec une RC entamée. Veiller à ce que les compartiments à tampons d'une RC entamée soient bien scellés avec des bandelettes d'étanchéité réutilisables lorsqu'elle n'est pas utilisée pour la purification. |

Faibles performances de l'ADNlc dans les applications en aval

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Éluat concentré par centrifugation sous vide | Ne pas concentrer l'éluat par centrifugation sous vide (p. ex. dans un SpeedVac® ou un appareil équivalent). Cela peut entraîner une dégradation due aux températures et concentrations en sels élevées dans l'éluat, pouvant interférer avec les applications en aval. |
| b) | Transfert de billes | Les particules magnétiques ne sont généralement pas transférées dans les éluats. Si des particules magnétiques sont transférées dans les éluats, cela n'affecte pas la plupart des applications en aval. Si des portions très élevées d'éluats sont nécessaires pour des tests spécifiques en aval, les éluats peuvent être centrifugés et transférés dans un tube propre. |

Transfert d'échantillon absent/incomplet

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Un volume d'échantillon incorrect est chargé pour les protocoles conventionnels | Si le volume d'échantillon chargé est plus faible que le volume spécifié, il existe un risque accru que l'échantillon soit marqué de façon équivoque ou que l'échantillon ne soit pas transféré (échantillon marqué non valide).
Charger le volume d'échantillon correct, comme indiqué dans la fiche de protocole et la liste du matériel de laboratoire correspondantes. |
| b) | Bulles et/ou mousse dans le tube à échantillon | La présence de bulles ou de mousse dans l'échantillon et/ou dans le tube à échantillon peut entraîner une détection erronée du niveau de liquide et conduire à un transfert d'échantillon incomplet. Éliminer les bulles du tube à échantillon. |

Symboles

Les symboles suivants peuvent figurer dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et les étiquettes :



<N>

Contient suffisamment de réactifs pour <N> tests
Indique le nombre total de tests IVD pouvant être effectués avec l'IVD.



À utiliser avant



Dispositif médical de diagnostic in vitro



Marquage CE. Ce produit satisfait aux exigences du règlement européen 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.



Numéro de référence



Numéro de lot



Numéro de matériel (c.-à-d. étiquette de composant)



Composants (c.-à-d. liste des éléments inclus)



Contient (contenu)

NUM

Quantité (c.-à-d. flacons, tubes)

GTIN

Code article international (Global Trade Item Number, GTIN)

Rn

R désigne une révision du mode d'emploi (manuel) et n représente le numéro de révision



Limite de température



Fabricant



Consulter le mode d'emploi



Attention

PROTK

Proteinase K

WELL

Numéro de puits (c.-à-d. puits de la RC)

REAG | **CART**

Cartouche de réactif

Sodium azide

Azoture de sodium

Annexe : Quantification de l'ADNlc

En raison des très faibles concentrations en ADNlc dans les matériaux d'échantillons, il est déconseillé de mesurer l'ADN avec un spectrophotomètre. Pour déterminer la concentration en ADNlc, un dosage de quantification par fluorescence sensible et exact ou un test de real-time PCR doit être utilisé.

Si il faut éliminer des particules magnétiques, placer le tube contenant l'ADN sur un séparateur magnétique approprié (p. ex. QIAGEN 12-Tube Magnet, N° de réf. 36912) jusqu'à ce que les particules magnétiques soient séparées du liquide.

Si l'ADN se trouve dans une microplaque, placer la microplaque sur un séparateur magnétique approprié (p. ex. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, N° de réf. 36915) jusqu'à ce que les particules magnétiques soient séparées du liquide. Si aucun séparateur magnétique approprié n'est disponible, centrifuger le tube contenant l'ADN pendant 1 minute à vitesse maximale dans une microcentrifugeuse afin de culotter toutes particules magnétiques restantes.

Informations pour commander

Produit	Contenu	N° de réf.
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Comprend 2 RC, tubes de Proteinase K et accessoires	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 tubes : 16 × 100 mm, 1,5 ml d'additif, volume de prélèvement sanguin de 10 ml	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	Module de préparation des échantillons QIASymphony, garantie 1 an pièces et main-d'œuvre	9001297
Produits QIAGEN associés		
Proteinase K (10 ml)	1 flacon de 10 ml	19133
Reagent Cartridge Holder (2)	Support de RC pour utilisation avec l'appareil QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Adaptateur réfrigérant pour tubes de 2 ml à bouchon à vis. Pour utilisation dans le tiroir « Eluate » (Éluat) de l'appareil QIASymphony SP	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Adaptateur réfrigérant pour portoirs EMT. Pour utilisation dans le tiroir « Eluate » (Éluat) de l'appareil QIASymphony SP	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Adaptateur réfrigérant pour tubes Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock de 1,5 ml. Pour utilisation dans le tiroir « Eluate » (Éluat) de l'appareil QIASymphony SP	9020731

Produit	Contenu	N° de réf.
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Cartouches de préparation d'échantillons à 8 puits pour utilisation avec l'appareil QIASymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	Manchons pour 8 barreaux pour utilisation avec l'appareil QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Cônes à filtre jetables, sur portoir ; (8 × 128). Pour utilisation avec le QIAcube® et les appareils QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl, Qsym SP (1024)	Cônes à filtre jetables, sur portoir ; (8 × 128). Pour utilisation avec les appareils QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Sachets pour cônes usagés pour utilisation avec l'appareil QIASymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Aimant pour la séparation des particules magnétiques dans 12 tubes de 1,5 ml ou 2 ml	36912
96-Well Magnet Type A	Aimant pour la séparation des particules magnétiques dans les puits de plaques 96 puits, 2 microplaques FB 96 puits	36915
Reuse Seal Set (20)	Jeu de bandelettes d'étanchéité pour sceller les RC QIASymphony entamées	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Tubes en polypropylène non stériles (capacité maximale de 0,85 ml, capacité de stockage de moins de 0,7 ml, capacité d'élution de 0,4 ml) ; 2 304 en portoirs de 96 ; barrettes de bouchons comprises	19588

Produit	Contenu	N° de réf.
Caps for Elution Microtubes (50 x 8)	Bouchons pour microtubes d'élution (50 x 8)	19591
14 ml Falcon Tube	Tube en polystyrène à fond rond, 17 x 100 mm, utilisé comme support d'échantillon pour l'appareil QIAasymphony SP	Corning, 352051

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

Historique des révisions du document

Révision	Description
R1, mai 2021	Première version

Pour commander, www.qiagen.com/shop | Assistance technique, support.qiagen.com | Site Web, www.qiagen.com ou PreAnalytiX.com