

Manuel du kit EZ1[®] DSP DNA Blood



Version 3



Pour utilisation en diagnostic in vitro.



62124



1054989FR



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMAGNE

R5

MAT

1054989FR



Technologies d'échantillons et d'analyses QIAGEN

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
- Analyses d'acides nucléiques et de protéines
- Recherche micro-ARN et interférence ARN
- Automatisation des technologies d'échantillons et d'analyses

Notre mission est de vous permettre de réussir et d'accomplir des progrès décisifs. Pour plus d'informations, visitez www.qiagen.com.

Table des matières

Contenu du kit	4
Symboles	4
Stockage	5
Utilisation prévue	6
Limitations de l'utilisation du produit	6
Assistance technique	6
Avertissements et précautions	7
Contrôle de la qualité	8
Introduction	9
Principe et procédure	9
Caractéristiques de performance du système EZ1 DSP DNA Blood	9
Équipement et réactifs devant être fournis par l'utilisateur	26
Remarques importantes	28
Stockage des échantillons de sang	28
Précipité dans une cartouche de réactif (RCB)	28
Travailler avec les appareils EZ1	28
Protocole : Purification de l'ADN génomique à partir de sang total à l'aide de l'EZ1 Advanced XL	35
Protocole : Purification de l'ADN génomique à partir de sang total à l'aide de l'EZ1 Advanced (avec carte V2.0)	38
Protocole : Purification de l'ADN génomique à partir de sang total à l'aide de l'EZ1 Advanced (avec carte V1.0)	42
Protocole : Purification de l'ADN génomique à partir de sang total à l'aide du BioRobot EZ1 DSP	45
Guide de dépannage	48
Annexe A : Messages affichés	50
Annexe B : Stockage, quantification et détermination de la pureté de l'ADN	76
Annexe C : Fiche d'échantillon à utiliser avec le système EZ1 DSP DNA Blood	78
Annexe D : Exemple d'un fichier d'état de l'EZ1 Advanced	79
Pour commander	82

Contenu du kit

EZ1 DSP DNA Blood Kit				(48)	
Référence				62124	
Nombre de préparations				48	
RCB	Cartouche de réactif, Sang 350 µl*	REAG	CART	BLOOD	48
DTH	Porte-pointes jetables	DISP	TIP	HOLD	50
DFT	Pointes de filtres jetables	DISP	FILT	TIP	50
ST	Tubes d'échantillons (2 ml)	SAMP	TUBE		50
ET	Tubes d'élution (1,5 ml)	ELU	TUBE		50
	Q-Card †				1
	Manuel	H	B		1

* Contient de l'acide de sodium comme conservateur. Contient du sel de guanidine. Incompatible avec des désinfectants contenant un javellisant. Pour plus d'informations, voir page **Fehler! Textmarke nicht definiert.**

† Les informations codées dans le code-barres de la Q-Card sont nécessaires pour suivre les données du réactif à l'aide de l'instrument EZ1 Advanced ou EZ1 Advanced XL.

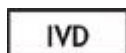
Symboles



Contient des réactifs pour 48 préparations d'échantillons



À utiliser par



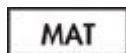
Dispositif médical de diagnostic in vitro



Référence



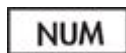
Numéro de lot



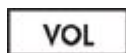
Référence du matériel



Composants



Nombre



Volume



Limitations de température



Fabricant légal



Remarque importante



À utiliser uniquement avec



Contient



Isothiocyanate de guanidine



Chlorhydrate de guanidine



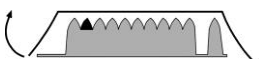
Éthanol



Code article international (GTIN)



Ouvrir à la livraison ; stocker les cartouches de réactif (RCB) à une température comprise entre 2 et 8°C



Ce côté orienté vers le bas lors de l'ouverture

Stockage

Stockez les cartouches de réactif (RCB) refroidies à une température comprise entre 2 et 8°C. Les particules magnétiques dans les cartouches de réactif (RCB) restent actives lorsqu'elles sont stockées à cette température. Ne congélez pas les cartouches de réactif (RCB). Lorsqu'elles sont stockées à une température comprise entre 2 et 8°C, les cartouches de réactif (RCB) sont stables jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette et sur la boîte du kit. Lorsqu'elles sont retirées du lieu de stockage refroidi, les cartouches de réactif (RCB) peuvent être stockées une fois entre 15 et 25°C, mais doivent être utilisées dans un délai de 4 semaines ou jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette, la Q-card et la boîte du kit, la première date prévalant.

Les tampons dans la cartouche de réactif (RCB) (réceptacle 1) peuvent former un précipité lors du stockage. Amener la cartouche de réactif (RCB) à température ambiante (15 à 25 °C) et vérifiez avant utilisation. Dissolvez à nouveau les précipités comme décrit dans « Précipité dans une cartouche de réactif (RCB) », page 28.

Utilisation prévue

Le kit EZ1 DSP DNA Blood utilise la technologie des particules magnétiques pour l'isolation et la purification automatisée de l'ADN humain à partir d'échantillons biologiques.

Le produit est destiné à des utilisateurs professionnels, tels que des techniciens et des médecins, formés aux techniques de la biologie moléculaire.

Le système EZ1 DSP DNA Blood est destiné à être utilisé dans le cadre de diagnostics in vitro.

Limitations de l'utilisation du produit

Il est de la responsabilité des utilisateurs de valider la performance du système pour toutes procédures utilisées dans leur laboratoire et non couvertes par les études d'évaluation de la performance QIAGEN.

La performance du système a été établie lors d'études d'évaluation de la performance à l'aide de sang total humain pour l'isolation de l'ADN génomique.

Afin de fausser le moins possible les résultats diagnostiques, on doit utiliser des solutions témoins adéquates pour les applications en aval. Pour une validation ultérieure, il est conseillé de suivre les directives de la Conférence internationale sur l'harmonisation des exigences techniques (ICH) exposées dans *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures : Text And Methodology*.

Tous les résultats diagnostiques générés doivent être interprétés conjointement à d'autres résultats cliniques ou de laboratoire.

Assistance technique

Chez QIAGEN, nous sommes fiers de la qualité et de la disponibilité de notre assistance technique. Nos départements du service technique sont composés de scientifiques expérimentés bénéficiant d'un vaste savoir-faire pratique et théorique en ce qui concerne les technologies d'échantillons et d'analyses et l'utilisation des produits QIAGEN. N'hésitez pas à nous contacter si vous avez des questions ou rencontrez des difficultés concernant le kit EZ1 DSP DNA Blood ou les produits QIAGEN® en général.

Les clients de QIAGEN constituent une source d'informations majeure relative aux utilisations avancées ou spécialisées de nos produits. Ces informations sont utiles à d'autres scientifiques ainsi qu'aux chercheurs de chez QIAGEN. Par conséquent, nous vous incitons à nous contacter si vous avez des suggestions concernant la performance des produits ou de nouvelles applications et techniques.

Pour une assistance technique et plus d'informations, consultez notre Centre d'assistance technique à www.qiagen.com/Support ou appelez l'un des Départements du service technique de QIAGEN ou des distributeurs locaux (voir quatrième de couverture ou le site www.qiagen.com).

Avertissements et précautions

Lorsque vous manipulez des produits chimiques, portez toujours 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 (pratique et compact) à l'adresse www.qiagen.com/safety où vous pouvez trouver, consulter et imprimer les SDS pour chaque kit et élément de kit QIAGEN®.



ATTENTION : NE versez PAS de javellisants ou de solutions acides directement sur les déchets de la préparation d'échantillon.

Certains tampons dans les cartouches de réactif (RCB) contiennent du chlorhydrate de guanidine/de l'isothiocyanate de guanidine, qui peuvent former des composés hautement réactifs lorsqu'ils sont associés à un javellisant.

Si le liquide contenant ces tampons est répandu, nettoyez avec un détergent de laboratoire approprié et de l'eau. Si du liquide contenant des agents potentiellement infectieux est renversé sur les appareils EZ1, désinfectez l'appareil en utilisant les réactifs décrits dans le manuel d'utilisation fourni avec votre appareil EZ1.

Les cartouches de réactif (RCB) brisées ou qui fuient doivent être manipulées et mises au rebut conformément aux règles de sécurité locales. N'utilisez pas de cartouches de réactif (RCB) ou d'autres éléments de kit défectueux, car leur utilisation peut entraîner une mauvaise performance du kit.

QIAGEN n'a pas testé les déchets liquides générés par la procédure de l'EZ1 DSP DNA Blood pour les matières infectieuses résiduelles. La contamination des déchets liquides avec des matières infectieuses résiduelles est très improbable mais ne peut pas être complètement exclue. Par conséquent, les déchets liquides résiduels doivent être considérés comme infectieux et doivent être manipulés et mis au rebut conformément aux règles de sécurité locales.

Les mentions de danger et conseils de prudence suivants s'appliquent aux composants du kit EZ1 DSP DNA Blood :

Reagent Cartridge Blood



Contient: ethanol; guanidine hydrochloride; guanidine thiocyanate. Danger! Peut être nocif par ingestion. Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Liquide et vapeurs très inflammables. Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique. Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination 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. Tenir à l'écart de la chaleur/des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. - Ne pas fumer. Stocker dans un endroit bien ventilé. Tenir au frais. Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage.

Contrôle de la qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot de kit EZ1 DSP DNA Blood est testé selon des spécifications prédéterminées afin de garantir une qualité constante du produit.

Introduction

Le kit EZ1 DSP DNA Blood est destiné à la purification d'ADN génomique provenant d'échantillons de sang total. La technologie des particules magnétiques fournit de l'ADN de haute qualité pouvant être utilisé directement dans des applications en aval telles que l'amplification ou d'autres réactions enzymatiques. L'appareil EZ1 exécute toutes les étapes de la procédure de préparation d'échantillon (jusqu'à 6 échantillons avec l'EZ1 Advanced ou le BioRobot® EZ1 DSP ou jusqu'à 14 échantillons avec l'EZ1 Advanced XL) en un seul cycle.

En utilisant le BioRobot EZ1 DSP ou l'EZ1 Advanced avec la carte de protocole V1.0, le volume de l'entrée d'échantillon est de 350 μ l et l'élution d'ADN a lieu dans un tampon d'élution de 200 μ l. En utilisant l'EZ1 Advanced XL ou l'EZ1 Advanced avec la carte de protocole V2.0, le volume de l'entrée d'échantillon peut être de 200 μ l ou 350 μ l au choix, et le volume d'élution d'ADN peut être de 50 μ l, 100 μ l, ou 200 μ l au choix.

Principe et procédure

La technologie des particules magnétiques associe la vitesse et l'efficacité de la purification d'ADN à base de silice à la manipulation pratique des particules magnétiques (voir protocole, page 10). L'ADN est isolé des lysats en une seule étape par le biais de sa liaison avec la surface de silice des particules en présence d'un sel chaotropique. Les particules sont séparées des lysats à l'aide d'un aimant. L'ADN est ensuite efficacement lavé et élué dans le tampon d'élution.

Caractéristiques de performance du système EZ1 DSP DNA Blood

Robustesse du système

Divers tubes principaux et anticoagulants peuvent être utilisés afin de prélever des échantillons de sang pour la procédure de l'EZ1 DSP DNA Blood. Tableau 1 (page 11) offre une vue d'ensemble des tubes de prélèvement d'échantillons qui ont été utilisés pour l'évaluation du système. Ces tubes ont été choisis afin de représenter différents anticoagulants et fabricants de tubes de prélèvement sanguin. Des tubes d'autres fabricants peuvent également être utilisés.

Les rendements relatifs moyens d'ADN provenant d'échantillons de sang avec différents tubes principaux sont illustrés dans Figure 1 (page 12).

Procédure du EZ1 DSP DNA Blood

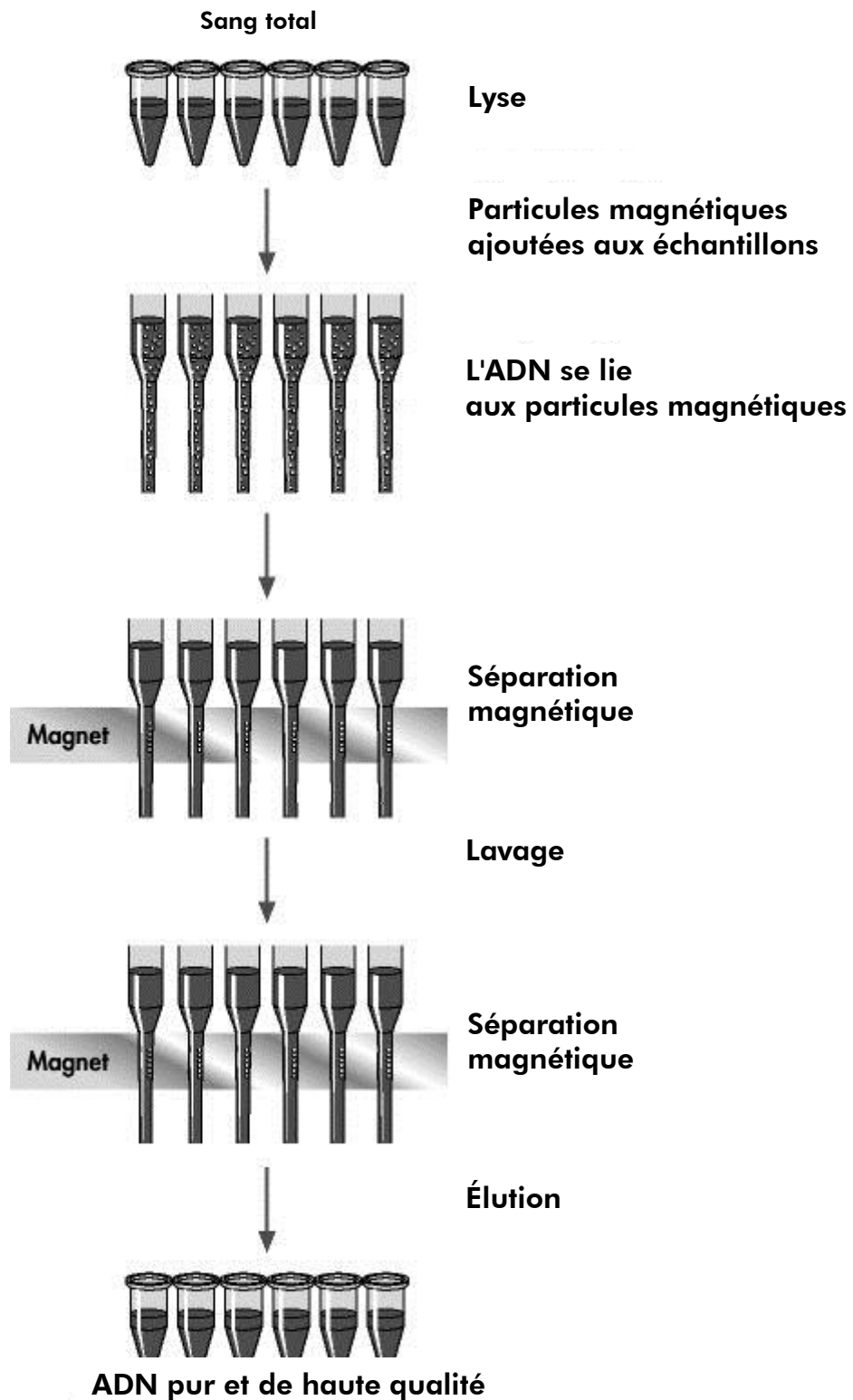


Tableau 1. Tubes de prélèvement sanguin testés avec le système EZ1 DSP DNA Blood

Tube	Abréviation	Fabricant	Référence*	Volume de prélèvement nominal (ml)
BD Vacutainer® 9NC	BD 9NC	Becton Dickinson	366007	9
BD Vacutainer K3E	BD K3E	Becton Dickinson	368457	10
BD Vacutainer K2E	BD K2E	Becton Dickinson	367864	6
Monovette® EDTA	EDTA	Sarstedt	21.066.001	9
Monovette LH	LH	Sarstedt	21.065.001	9
Monovette CDPA1	CPDA1	Sarstedt	11.610.001	85
Vacurette® K3E	K3E	Greiner Bio-One	455036	9
Vacurette 9NC	V 9NC	Greiner Bio-One	454382	9

* Les références sont susceptibles de changer ; veuillez vérifier auprès du fabricant ou du fournisseur.

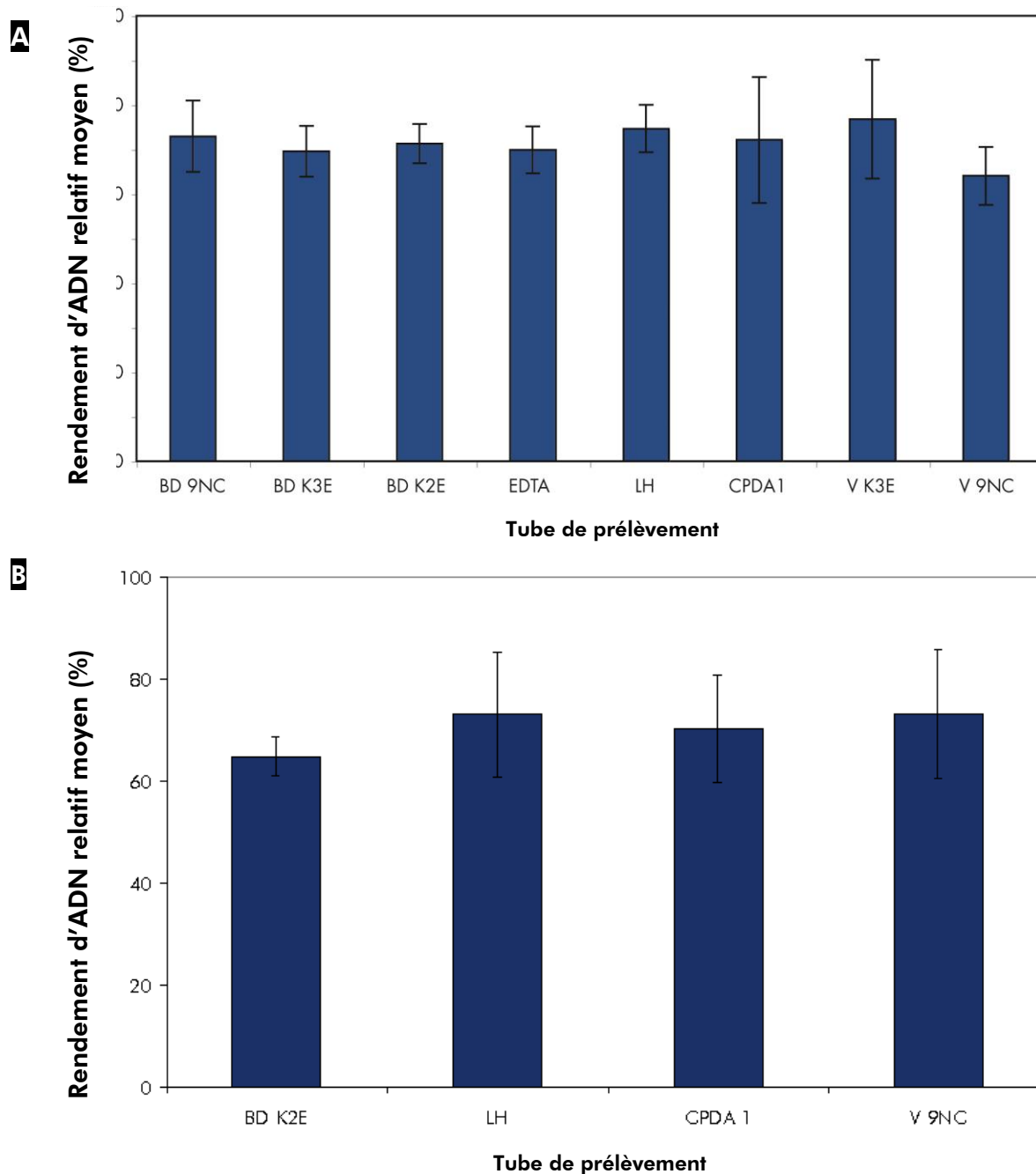


Figure 1. Robustesse du système avec différents tubes de prélèvement et anticoagulants.

Du sang total a été prélevé chez six donneurs sains dans différents types de tubes avec trois réplicats par donneur et par tube. Les tubes utilisés sont répertoriés dans Tableau 1 (page 11). **A** Le sang a été collecté sur six donneurs dans huit différents types de tubes. L'ADN génomique a été purifié à partir d'échantillons de 350 µl avec élution dans 200 µl. **B** Le sang a été prélevé chez quatre donneurs dans quatre différents types de tubes. L'ADN génomique a été purifié à partir d'échantillons de 200 µl à l'aide du système EZ1 DSP DNA Blood sur l'EZ1 Advanced XL, avec une élution de 200 µl. Les rendements d'ADN théoriques de chaque donneur et tube ont été déterminés par numération des globules blancs. Les barres montrent le rendement d'ADN relatif moyen (par rapport au rendement théorique) avec l'écart standard.

Congélation-décongélation des échantillons

Il est possible d'utiliser des échantillons de sang total humain frais ou congelé (voir « Stockage des échantillons de sang », page 28). On a déterminé les effets de la congélation et de la décongélation des échantillons de sang sur la purification de l'ADN à l'aide du système EZ1 DSP DNA Blood (Figure 2).

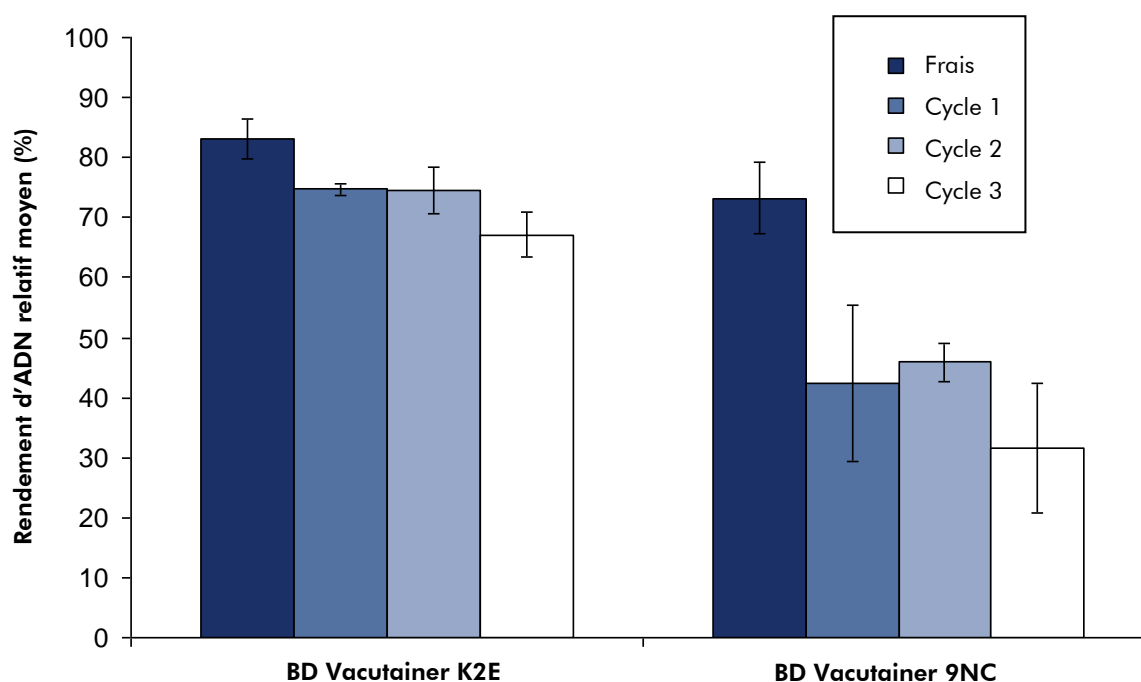


Figure 2. Influence des cycles de congélation-décongélation sur les rendements d'ADN.

Du sang total a été prélevé chez trois donneurs sains dans les tubes indiqués avec six réplicats chacun. Les tubes utilisés sont répertoriés dans Tableau 1. L'ADN génomique a été purifié à partir d'échantillons de 350 μ l chacun à l'aide du système EZ1 DSP DNA Blood, et la valeur moyenne du rendement d'ADN relatif (**Frais**) a été calculée pour chaque donneur et tube. Les tubes contenant le sang ont été congelés et décongelés trois fois. L'ADN génomique a été purifié après chaque cycle de congélation-décongélation (**Cycle 1 – Cycle 3**) à l'aide du système EZ1 DSP DNA Blood et le rendement d'ADN relatif a été déterminé. Les tubes contenant de l'EDTA comme anticoagulant sont conseillés pour la congélation-décongélation.

Rendement d'ADN purifié

L'ADN génomique a été purifié à partir d'échantillons de sang de 350 μ l issus de donneurs sains. La quantité d'ADN purifié à l'aide de la procédure de l'EZ1 DSP DNA Blood dépend de la teneur en globules blancs de chaque échantillon de sang, et les rendements peuvent varier d'un donneur à l'autre (Figure 3).

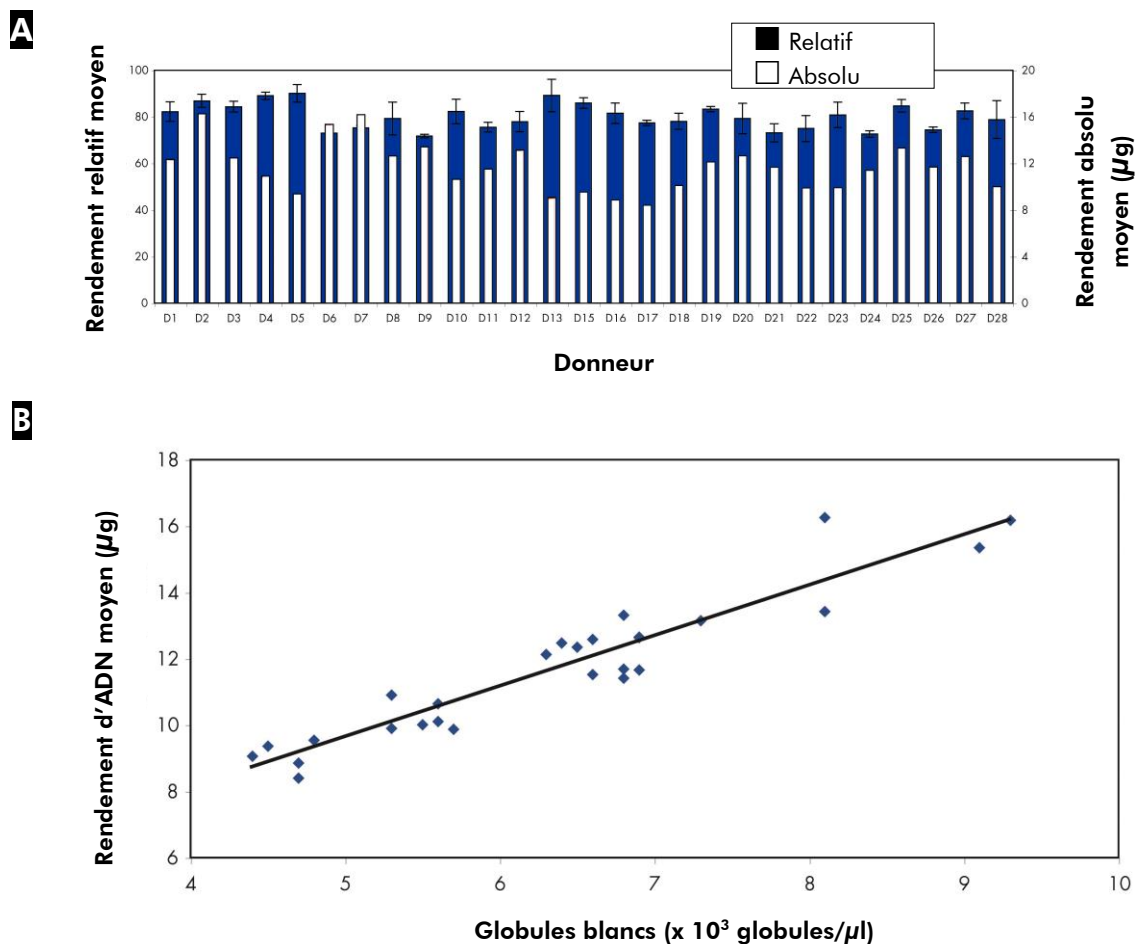


Figure 3. Rendements d'ADN absolus et relatifs moyens de différents donneurs. Du sang total a été prélevé chez 27 donneurs en trois répliquats. L'ADN génomique a été purifié à partir de 350 µl de chaque échantillon à l'aide du système EZ1 DSP DNA Blood. **A** Le rendement d'ADN théorique a été déterminé par numération des globules blancs. Les rendements d'ADN absolus (**Absolu**) et relatifs (**Relatif**) moyens (par rapport au rendement théorique calculé) moyens sont indiqués pour chaque donneur. **B** Les rendements absolus moyens sont représentés pour chaque donneur en fonction des numérations des globules blancs.

Concentration d'ADN purifié à l'aide de différents volumes d'élution

L'ADN génomique a été purifié à partir d'échantillons de sang de 250 µl et 350 µl prélevés sur des donneurs sains à l'aide de la procédure de l'EZ1 DSP DNA Blood sur l'EZ1 Advanced XL avec trois différents volumes d'élution (Figure 4).

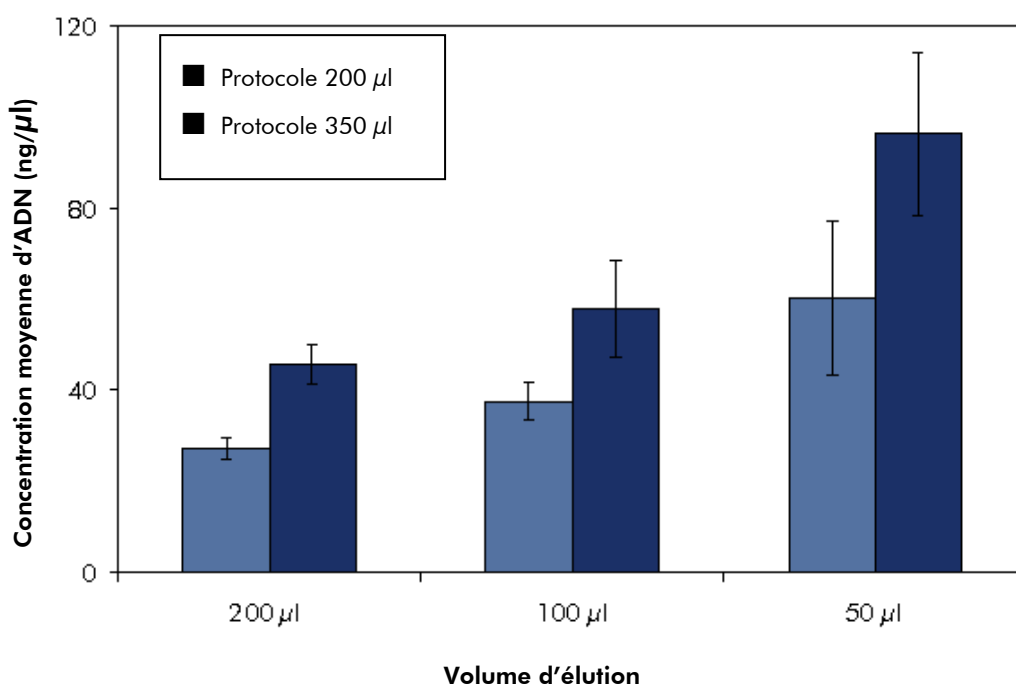


Figure 4. Concentration moyenne d'ADN obtenue avec différents volumes d'éluat.

Du sang total a été prélevé chez 3 donneurs. L'ADN génomique a été purifié à partir de 200 μl et 350 μl de chaque échantillon et élué à 200 μl, 100 μl, et 50 μl chacun en trois réplicats avec le système EZ1 DSP DNA Blood sur l'EZ1 Advanced XL. La concentration moyenne d'ADN est indiquée pour chaque protocole et chaque volume d'éluat.

i Du fait du faible volume d'éluat du tampon et du chauffage du tampon d'éluat au cours du processus, l'éluat avec 50 μl peut conduire à des volumes d'éluat inférieurs à 50 μl.

Éluat d'ADN génomique pur

L'ADN génomique est élué dans un tampon d'éluat faiblement salin. L'ADN élué est prêt à être utilisé dans des analyses de diagnostic *in vitro* en aval, telles que les kits PCR *artus*[®] portant la mention CE-IVD.

Du sang total a été prélevé chez 30 donneurs de sang choisis au hasard et l'ADN a été purifié à l'aide du système EZ1 DSP DNA Blood avec le système EZ1 DSP DNA Blood. On a utilisé le kit *artus* MTHFR LC PCR et le kit *artus* TPMT LC PCR pour déterminer des variantes génétiques cliniquement pertinentes dans les gènes méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR) et thiopurine S-méthyltransférase (TPMT). Les échantillons ont été analysés sur un appareil LightCycler[®]. Les données sont présentées dans les Tableaux 2 et 3 (commençant aux pages 16 et 19), avec l'analyse de la courbe de fusion et la répartition en pourcentage pour les variantes du gène MTHFR illustrées aux Figures 5 et 6 (pages 18 et 19).

Tableau 2. Polymorphismes au nucléotide 667 et au nucléotide 1298 du gène MTHFR détectés à l'aide du kit *artus* MTHFR LC PCR

Numéro d'échantillon	Nucléotide 677	Nucléotide 1298	Génotype
1	variant hétérozygote	sauvage homozygote	wt677/var677 wt1298/wt1298
2	sauvage homozygote	sauvage homozygote	wt677/wt677 wt1298/wt1298
3	sauvage homozygote	variant hétérozygote	wt677/wt677 wt1298/var1298
4	variant homozygote	sauvage homozygote	var677/var677 wt1298/wt1298
5	sauvage homozygote	variant hétérozygote	wt677/wt677 wt1298/var1298
6	sauvage homozygote	variant hétérozygote	wt677/wt677 wt1298/var1298
7	variant hétérozygote	sauvage homozygote	wt677/var677 wt1298/wt1298
8	sauvage homozygote	sauvage homozygote	wt677/wt677 wt1298/wt1298
9	sauvage homozygote	variant hétérozygote	wt677/wt677 wt1298/var1298
10	variant hétérozygote	variant hétérozygote	wt677/var677 wt1298/var1298
11	sauvage homozygote	variant hétérozygote	wt677/wt677 wt1298/var1298
12	sauvage homozygote	sauvage homozygote	wt677/wt677 wt1298/wt1298
13	sauvage homozygote	sauvage homozygote	wt677/wt677 wt1298/wt1298

variant (var) : Allèle variant à la position indiquée du gène MTHFR.

sauvage (wt) : Allèle sauvage à la position indiquée du gène MTHFR.

Suite du tableau page suivante.

Tableau 2. Suite

Numéro d'échantillon	Nucléotide 677	Nucléotide 1298	Génotype
14	variant hétérozygote	sauvage homozygote	wt677/var677 wt1298/wt1298
15	variant hétérozygote	sauvage homozygote	wt677/var677 wt1298/wt1298
16	sauvage homozygote	variant hétérozygote	wt677/wt677 wt1298/var1298
17	variant homozygote	sauvage homozygote	var677/var677 wt1298/wt1298
18	variant hétérozygote	sauvage homozygote	wt677/var677 wt1298/wt1298
19	sauvage homozygote	variant hétérozygote	wt677/wt677 wt1298/var1298
20	sauvage homozygote	variant hétérozygote	wt677/wt677 wt1298/var1298
21	sauvage homozygote	variant homozygote	wt677/wt677 var1298/var1298
22	variant hétérozygote	sauvage homozygote	wt677/var677 wt1298/wt1298
23	variant hétérozygote	variant hétérozygote	wt677/var677 wt1298/var1298
24	variant hétérozygote	sauvage homozygote	wt677/var677 wt1298/wt1298
25	sauvage homozygote	variant hétérozygote	wt677/wt677 wt1298/var1298
26	sauvage homozygote	variant homozygote	wt677/wt677 var1298/var1298
27	sauvage homozygote	variant hétérozygote	wt677/wt677 wt1298/var1298

variant (var) : Allèle variant à la position indiquée du gène MTHFR.

sauvage (wt) : Allèle sauvage à la position indiquée du gène MTHFR.

Suite du tableau page suivante.

Tableau 2. Suite

Numéro d'échantillon	Nucléotide 677	Nucléotide 1298	Génotype
28	variant hétérozygote	variant hétérozygote	wt677/var677 wt1298/var1298
29	variant hétérozygote	sauvage homozygote	wt677/var677 wt1298/wt1298
30	variant homozygote	sauvage homozygote	var677/var677 wt1298/wt1298

variant (var) : Allèle variant à la position indiquée du gène MTHFR.

sauvage (wt) : Allèle sauvage à la position indiquée du gène MTHFR.

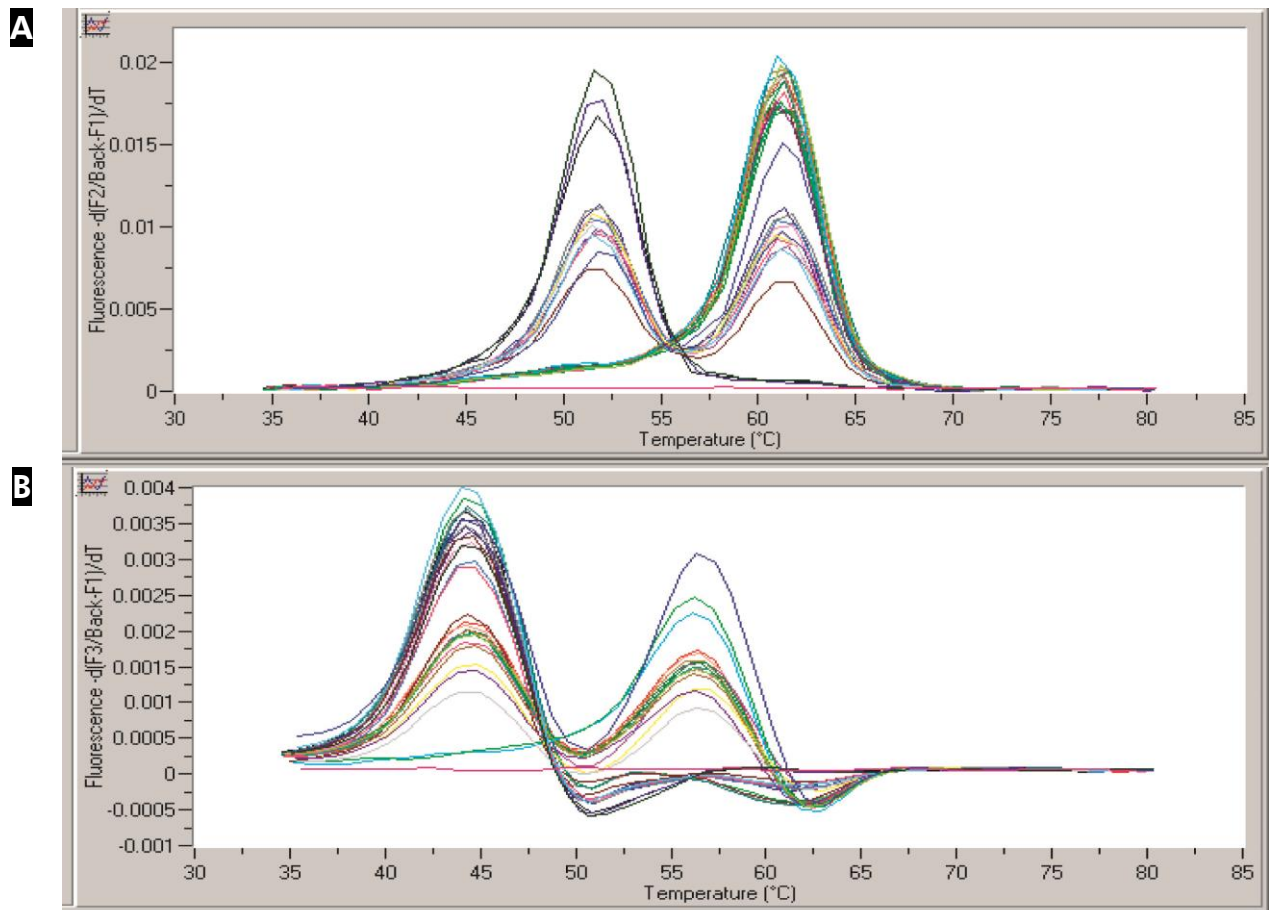


Figure 5. Analyse de la courbe de fusion des produits d'amplification aux nucléotides 677 et 1298 du gène MTHFR. L'ADN a été purifié à partir du sang total de 30 donneurs à l'aide du système EZ1 DSP DNA Blood. Des éluats ont été analysés à l'aide du kit *artus* MTHFR LC PCR portant la mention CE-IVD, avec analyse de la courbe de fusion sur l'appareil LightCycler. **A** Analyse au nucléotide 677. **B** Analyse au nucléotide 1298.

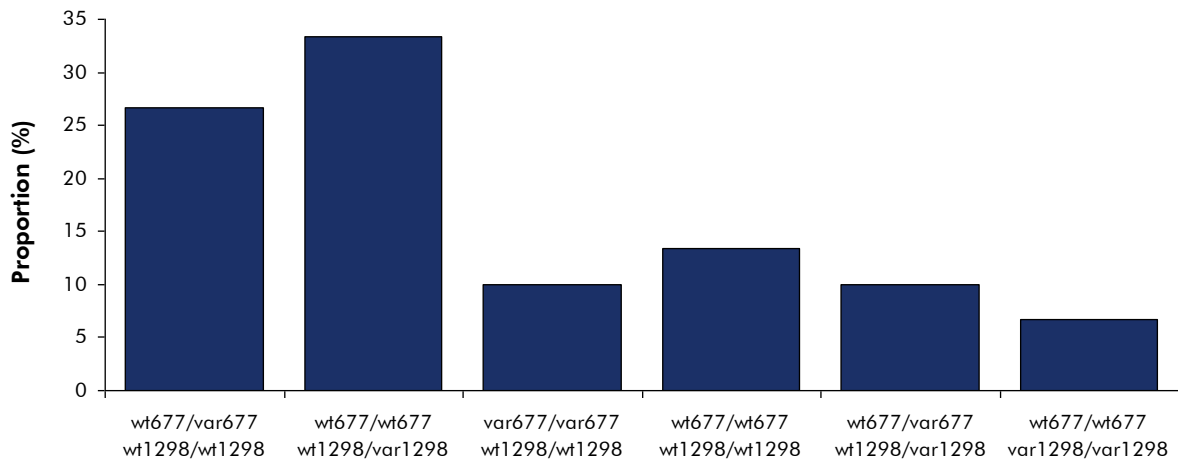


Figure 6. Répartition des génotypes détectés pour le gène MTHFR. Les données de Tableau 2 et Figure 5 sont résumées sous forme graphique selon la proportion de chaque génotype détecté.

Tableau 3. Polymorphismes du gène TPMT détectés à l'aide du kit artus TPMT LC PCR

Numéro d'échantillon	Génotype TPMT
1	TPMT*1/*1
2	TPMT*1/*1
3	TPMT*1/*1
4	TPMT*1/*1
5	TPMT*1/*1
6	TPMT*1/*3A ou TPMT*3C/*3B
7	TPMT*1/*1
8	TPMT*1/*3A ou TPMT*3C/*3B
9	TPMT*1/*1
10	TPMT*1/*3A ou TPMT*3C/*3B
11	TPMT*1/*1
12	TPMT*1/*1

Suite du tableau page suivante.

Tableau 3. Suite

Numéro d'échantillon	Génotype TPMT
13	TPMT*1/*1
14	TPMT*1/*1
15	TPMT*1/*1
16	TPMT*1/*1
17	TPMT*1/*3A ou TPMT*3C/*3B
18	TPMT*1/*1
19	TPMT*1/*1
20	TPMT*1/*1
21	TPMT*1/*1
22	TPMT*1/*1
23	TPMT*1/*1
24	TPMT*1/*1
25	TPMT*1/*1
26	TPMT*1/*1
27	TPMT*1/*1
28	TPMT*1/*1
29	TPMT*1/*1
30	TPMT*1/*1

Test d'inhibition

On a déterminé les effets d'une augmentation de la quantité d'éluat utilisée dans l'amplification en chaîne par polymérase sur la performance de cette dernière (Figure 7).

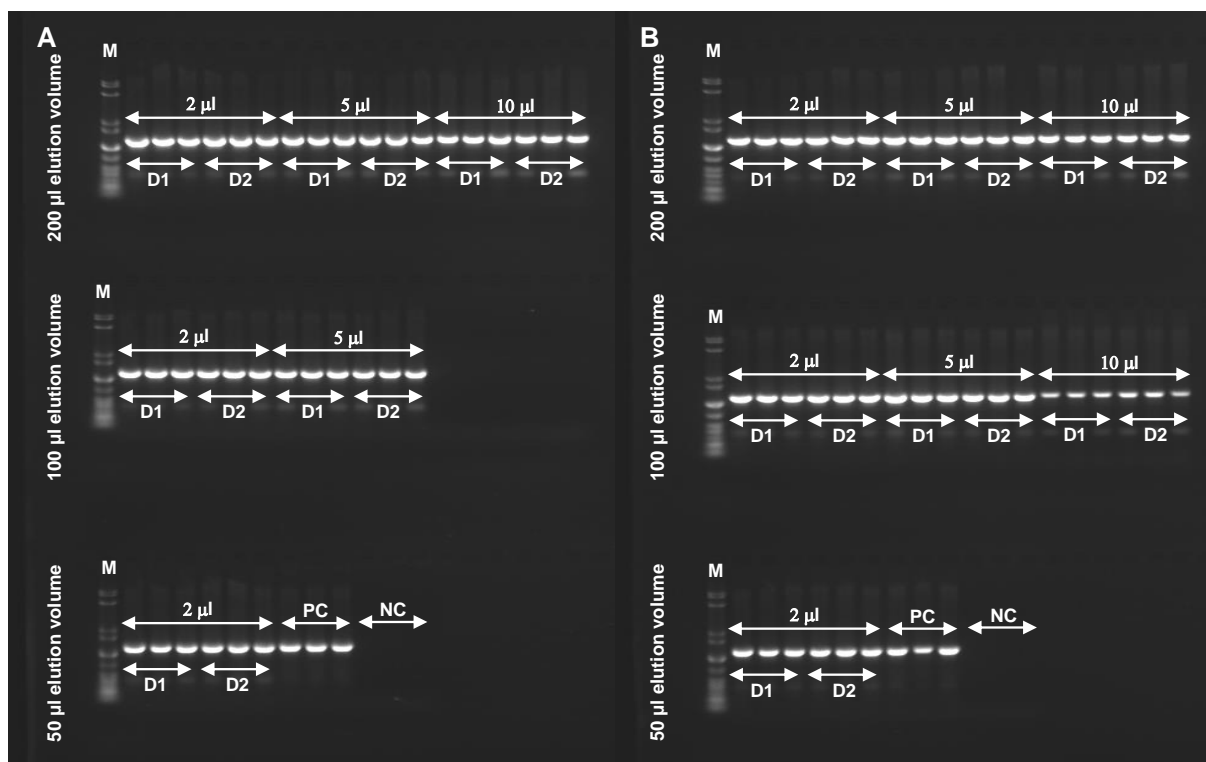


Figure 7. Effets du volume d'éluat utilisé dans l'amplification en chaîne par polymérase sur la performance de cette dernière. Le sang a été prélevé sur deux donneurs sains (**D1**, **D2**) dans des tubes BD K2E. L'ADN génomique a été purifié à partir d'aliquotes de 350 µl (**A**) et 200 µl (**B**) en trois réplicats à l'aide du système EZ1 DSP DNA Blood. L'ADN a été élué dans 200 µl, 100 µl, ou 50 µl (**volume d'éluat**). La quantité d'éluat indiquée a été utilisée dans une amplification en chaîne par polymérase de 50 µl avec des amorces pour un fragment de gène humain de 1100 bp en un seul exemplaire. **PC** : contrôle positif. **NC** : contrôle négatif. **M** : marqueur de taille ADN. (Notez que l'utilisation de grandes quantités d'ADN en fortes concentrations peut provoquer la surcharge de l'amplification en chaîne par polymérase, comme indiqué, par exemple, à cause de bandes trop faibles lors de l'utilisation de 10 µl d'une élution de 100 µl dans l'amplification en chaîne par polymérase.)

Analyse de précision

Les rendements d'ADN de 350 μ l de sang total humain ont été comparés pour différents cycles à l'aide du système EZ1 DSP DNA Blood sur l'EZ1 Advanced et l'EZ1 Advanced XL. Les données de précision inter-cycles sont indiquées en tant qu'écart standards des rendements d'ADN (Figure 8).

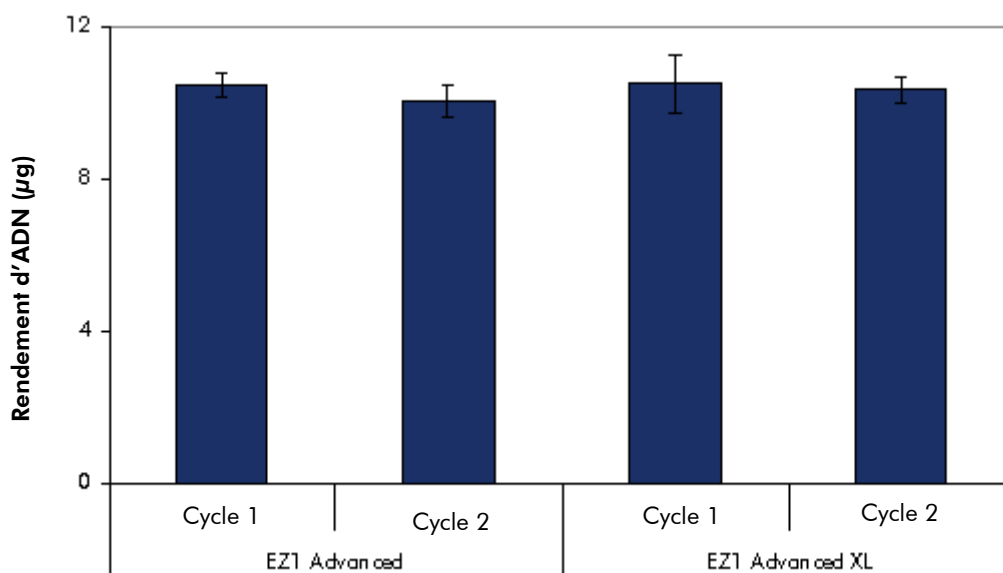


Figure 8. Précision intra et inter-cycles avec le système EZ1 DSP DNA Blood. Du sang a été prélevé chez un donneur sain dans des tubes BD K2E et mis en commun avant utilisation. L'ADN génomique a été purifié à partir de 12 aliquotes de 350 μ l en deux cycles (**Cycle 1**, **Cycle 2**) de six réplicats chacun sur l'EZ1 Advanced, et à partir de 28 aliquotes de 350 μ l aliquots en deux cycles (**Cycle 1**, **Cycle 2**) de 14 réplicats chacun sur l'EZ1 Advanced XL avec le système EZ1 DSP DNA Blood. Le rendement d'ADN total moyen et l'écart standard sont représentés pour chaque cycle. Les valeurs de précision intra-cycles étaient de 2,90% (cycle 1, EZ1 Advanced), 3,80% (cycle 2, EZ1 Advanced), 7,17% (cycle 1, EZ1 Advanced XL) et 3,45% (cycle 2, EZ1 Advanced XL) et la précision totale était de 5,17%.

Stabilité de l'éluat

La stabilité de l'ADN génomique dans les éluats EZ1 a été démontrée pour 24 mois pour un stockage à 5°C et pour 36 mois pour un stockage à -20°C ou -80°C.

Exclusion des résidus d'échantillons

Douze cycles avec l'EZ1 Advanced (avec carte de protocole V2.0, entrée 350 μ l, élution 200 μ l) et neuf cycles avec l'EZ1 Advanced XL (entrée 200 μ l, élution 200 μ l) ont été exécutés avec le système EZ1 DSP DNA Blood afin d'évaluer le risque de contaminations croisées pendant et entre les procédures EZ1 DSP DNA Blood. Pour détecter les résidus d'un échantillon à l'autre, les cycles ont été exécutés avec des échantillons de sang mâles (positifs) et femelles (négatifs) dans des positions alternatives, comme indiqué dans le Tableau 4 et le Tableau 5. Tous les trois cycles, on a utilisé des échantillons de sang femelle uniquement. L'amplification d'un fragment de gène unique de 78 bp du SRY spécifique au chromosome Y de tous les éluats a été testée avec le kit QIAGEN QuantiTect® Probe PCR.

Tableau 4. Configuration du test de contamination croisée de l'EZ1 Advanced et valeurs C_T pour les échantillons positifs (mâles)

Cycle	Position					
	1	2	3	4	5	6
1	23,37	F	23,14	F	23,22	F
2	F	23,41	F	23,15	F	23,44
3	F	F	F	F	F	F
4	23,53	F	23,27	F	23,39	F
5	F	23,28	F	23,39	F	23,46
6	F	F	F	F	F	F
7	23,14	F	23,50	F	23,17	F
8	F	23,21	F	23,46	F	23,44
9	F	F	F	F	F	F
10	23,29	F	23,45	F	23,47	F
11	F	23,53	F	23,39	F	23,42
12	F	F	F	F	F	F

F : Échantillons femelles (négatifs).

Nombres : Valeurs C_T pour les échantillons mâles (positifs).

Tableau 5. Configuration du test de contamination croisée de l'EZ1 Advanced et valeurs C_T pour les échantillons positifs (mâles)

Cycle	Position						
	1	2	3	4	5	6	7
1	24,27	F	24,13	F	24,12	F	24,22
2	F	23,92	F	24,12	F	23,85	F
3	F	F	F	F	F	F	F
4	24,02	F	23,98	F	24,31	F	24,35
5	F	24,74	F	24,56	F	24,62	F
6	F	F	F	F	F	F	F
7	24,48	F	24,64	F	24,49	F	24,52
8	F	24,55	F	24,40	F	24,52	F
9	F	24,80	F	24,70	F	24,68	F
Cycle	Position						
	8	9	10	11	12	13	14
1	F	23,99	F	24,16	F	24,18	F
2	24,06	F	24,11	F	23,94	F	24,02
3	F	F	F	F	F	F	F
4	F	24,22	F	24,30	F	24,10	F
5	24,64	F	24,28	F	24,59	F	24,53
6	F	F	F	F	F	F	F
7	F	24,62	F	24,41	F	24,66	F
8	24,37	F	24,46	F	24,58	F	24,46
9	24,74	F	24,52	F	24,80	F	24,67

F : Échantillons femelles (négatifs).

Nombres : Valeurs C_T pour les échantillons mâles (positifs).

La totalité des échantillons de sang mâles se sont révélés positifs dans l'amplification en chaîne par polymérase (les valeurs C_T sont énumérées dans le Tableau 4 et le Tableau 5), et tous les échantillons de sang femelles se sont

révélés négatifs. Ces expériences démontrent que la procédure du EZ1 DSP DNA Blood ne fournit aucun résidu d'échantillon dans ces conditions.

Équipement et réactifs devant être fournis par l'utilisateur

Lorsque vous manipulez des produits chimiques, portez toujours 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.

Tous les protocoles

- Pipettes* et pointes de pipettes sans ribonucléases et stériles
- Mouchoir en papier doux
- Eau
- Éthanol à 70%
- Facultatif : incubateur-agitateur* (si les cartouches de réactif [RCB] contiennent des précipités au fond des réceptacles)
- Facultatif : microcentrifugeuse* (s'il faut enlever des particules magnétiques des éluats)

Pour les utilisateurs du BioRobot EZ1

- Appareil BioRobot EZ1 DSP* (discontinué)
- Carte EZ1 DSP DNA Blood (référence 9017713)

Pour les utilisateurs de l'EZ1 Advanced

- Appareil EZ1 Advanced* (discontinué)
- Carte EZ1 Advanced DSP DNA Blood (référence 9018305)

Pour les utilisateurs de l'EZ1 Advanced XL

- Appareil EZ1 Advanced XL* (référence 9001492)
- Carte EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood (référence 9018702)

Pour les utilisateurs de l'EZ1 Advanced et de l'EZ1 Advanced XL

- Pour le suivi des échantillons, l'un des éléments suivants est requis :
 - PC (écran compris ; QIAGEN PC, référence 9016310, et écran, référence 9016308, ou votre propre PC et votre propre écran) avec

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

- logiciel EZ1 Advanced Communicator (fourni avec les appareils EZ1 Advanced et EZ1 Advanced XL)
- Imprimante (référence 9018464) et pack d'accessoires pour imprimante (référence 9018465)
 - Facultatif : Éthanol à 80%* et tubes à bouchon fileté de 2 ml (en cas d'exécution des étapes de lavage à l'éthanol à 80% sur l'EZ1 Advanced avec la carte de protocole V2.0 ou sur l'EZ1 Advanced XL, voir « Les choses à faire avant de commencer », pages 35 et 38)

* N'utilisez pas d'alcool dénaturé contenant d'autres substances telles que le méthanol ou le méthyléthylcétone.

Remarques importantes

Stockage des échantillons de sang

On peut utiliser des échantillons de sang total traités avec de l'EDTA, de l'ACD ou de l'héparine*, frais ou congelés. Il faut décongeler les échantillons congelés à température ambiante (entre 15 et 25°C) en les agitant doucement avant de commencer la procédure. Le rendement et la qualité de l'ADN purifié dépendent des conditions de stockage du sang. Les échantillons de sang frais peuvent donner de meilleurs résultats.

- Pour un stockage à court terme (jusqu'à 10 jours), prélevez du sang dans des tubes contenant de l'EDTA comme anticoagulant, et stockez les tubes à une température comprise entre 2 et 8°C. Néanmoins, pour des applications nécessitant une taille de fragment maximum, comme le transfert de Southern, nous conseillons un stockage à une température comprise entre 2 et 8°C pendant une durée maximale de 3 jours seulement, car l'ADN se dégradera légèrement après cette période.
- Pour un stockage à long terme, prélevez du sang dans des tubes contenant un anticoagulant standard (de préférence de l'EDTA, si de l'ADN à masse moléculaire élevée est nécessaire), puis stockez les tubes à -70°C.
- N'utilisez pas du sang montrant des signes de coagulation.

Précipité dans une cartouche de réactif (RCB)

Le tampon dans le réceptacle 1 de la cartouche de réactif (RCB) (le réceptacle qui est le plus proche de la partie avant de l'appareil EZ1 lorsque la cartouche de réactif (RCB) est chargée) peut former un précipité lors du stockage. Amener la cartouche de réactif (RCB) à température ambiante (15 à 25 °C) avant utilisation. Si nécessaire, dissolvez à nouveau en agitant doucement à une température comprise entre 30 et 40°C.

Travailler avec les appareils EZ1

Les principales caractéristiques des appareils EZ1 incluent :

- La purification d'acides nucléiques de haute qualité de 1 à 6 ou de 1 à 14 échantillons par cycle
- Un encombrement minimum pour gagner de la place dans le laboratoire
- Des cartes EZ1 DSP préprogrammées contenant des protocoles prêts à utiliser

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

- Des cartouches de réactif scellées préremplies pour une configuration facile, sans risques et rapide
- Une automatisation complète de la purification de l'acide nucléique

Les caractéristiques supplémentaires de l'EZ1 Advanced et de l'EZ1 Advanced XL incluent :

- La lecture du code-barres et le suivi des échantillons
- Le suivi des données du kit avec la Q-Card fournie dans le kit
- Une lampe UV pour aider à éliminer les résidus d'échantillons et permettre la décontamination

i La décontamination par UV aide à réduire la contamination pathogène potentielle des surfaces de la table de travail de l'EZ1 Advanced et de l'EZ1 Advanced XL. L'efficacité de l'inactivation doit être déterminée pour chaque organisme spécifique et dépend, par exemple, de l'épaisseur de la paroi et du type d'échantillon. QIAGEN ne peut pas garantir l'éradication totale de pathogènes spécifiques.

Cartes EZ1

Le protocole EZ1 DSP DNA Blood est stocké sur des cartes EZ1 préprogrammées (cartes à puce). Il suffit à l'utilisateur d'insérer la carte EZ1 dans le bon appareil EZ1 et l'appareil est alors prêt à exécuter un protocole (Figures 9 et 10).



Figure 9. Configuration facile des protocoles avec les cartes EZ1 DSP. Insertion d'une carte EZ1, contenant le protocole, dans l'appareil EZ1.

i N'allumez l'appareil qu'après y avoir inséré une carte EZ1. Assurez-vous que la carte EZ1 est entièrement insérée ! Sinon des données essentielles

pourraient être perdues, provoquant ainsi une erreur de mémoire. Les cartes EZ1 ne doivent pas être échangées lorsque l'appareil est allumé.



Figure 10. Carte EZ1 entièrement insérée dans la fente de la carte EZ1.

Cartouches de réactif (RCB)

Les réactifs pour la purification d'acides nucléiques provenant d'un seul échantillon sont contenus dans une seule cartouche de réactif (RCB) (Figure 11, page 31). Chaque réceptacle de la cartouche (RCB) contient un réactif particulier, tel que des particules magnétiques, un tampon de lyse, un tampon de lavage ou un tampon d'élution (AVE). Étant donné que chaque réceptacle ne contient que la quantité nécessaire de réactif, on évite de générer des déchets supplémentaires dus au reste de réactif à la fin de la procédure de purification.

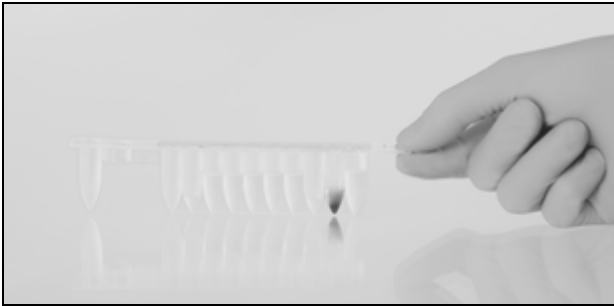
A**B**

Figure 11. Facilité de configuration de l'appareil avec les cartouches de réactif (RCB).

A Une cartouche de réactif (RCB) scellée et préremplie. **B** Chargement des cartouches de réactif (RCB) dans le support de cartouches. La flèche figurant sur le support de cartouches indique dans quel sens les cartouches de réactif (RCB) doivent être chargées

Table de travail

La table de travail de l'appareil EZ1 est l'endroit où l'utilisateur charge les échantillons et les éléments du kit EZ1 DSP DNA Blood (Figure 12, page 32).

Les détails de la configuration de la table de travail apparaissent sur l'affichage électroluminescent (VFD) de l'EZ1 Advanced ou de l'EZ1 Advanced XL ou sur l'affichage à cristaux liquides (LCD) du panneau de commande du BioRobot EZ1 DSP lorsque l'utilisateur commence à configurer la table de travail.

L'écran de l'appareil affiche également l'état du protocole durant la procédure de purification automatisée.



Figure 12. Table de travail d'un appareil EZ1.

1. Tubes d'éluion (ET) (1,5 ml) chargés dans la première rangée.
2. Porte-pointes jetables (DTH) contenant des pointes de filtres jetables (DFT) chargés dans la deuxième rangée.
3. La troisième rangée est vide pour le protocole EZ1 DSP DNA Blood. (Facultatif : en cas d'exécution des étapes de lavage facultatives à l'éthanol à 80%, les tubes de 2 ml contenant chacun 1 800 μ l d'éthanol à 80% sont chargés dans cette rangée.)
4. Tubes d'échantillon (ST) (2 ml) chargés dans la quatrième rangée.
5. Cartouches de réactif (RCB) chargées dans le support de cartouches.
6. L'unité de chauffage est vide pour le protocole EZ1 DSP DNA Blood.


Suivi des données avec l'EZ1 Advanced et l'EZ1 Advanced XL

L'EZ1 Advanced et l'EZ1 Advanced XL permettent le suivi complet de diverses données pour un meilleur contrôle de processus et une plus grande fiabilité. Le numéro de lot et les dates de péremption du kit EZ1 sont entrés au début du protocole à l'aide du code-barres de la Q-Card. Il est possible d'entrer

manuellement un ID d'utilisateur et le code-barres de la Q-Card en utilisant le clavier ou en lisant les codes-barres à l'aide du lecteur de code-barres portable. Les informations d'échantillons et d'analyses peuvent elles aussi être entrées au début du protocole. À la fin de l'exécution de chaque cycle de protocole, un fichier d'état est automatiquement généré. L'EZ1 Advanced et l'EZ1 Advanced XL peuvent stocker jusqu'à 10 fichiers de résultat et les données peuvent être transférées vers un PC ou directement imprimées sur une imprimante (pour commander, voir « Équipement et réactifs devant être fournis par l'utilisateur », page 26).

Pour recevoir les fichiers d'état sur un PC, il faut installer le logiciel EZ1 Advanced Communicator. Le logiciel reçoit les fichiers d'état et les stocke dans un dossier que vous définissez. Une fois que le PC a reçu le fichier d'état, vous pouvez utiliser et traiter ce fichier avec un SGIL (Système de gestion de l'information des laboratoires) ou d'autres programmes. Vous trouverez un exemple de fichier d'état dans l'Annexe D (page 79). Dans les fichiers d'état, les six canaux de pipetage de l'EZ1 Advanced sont nommés, de gauche à droite, Canaux A à F, ou les 14 canaux de pipetage de l'EZ1 Advanced XL sont nommés, de gauche à droite, Canaux 1 à 14.

Lorsque vous lisez un ID d'utilisateur ou le code-barres de la Q-Card avec le lecteur de code-barres, un bip confirme la saisie des données. Après s'être affichées pendant deux secondes, les informations sont automatiquement stockées et le message suivant apparaît. Lorsque vous lisez un ID d'échantillon, un ID de kit d'analyse ou des notes, un bip confirme la saisie des données, les informations s'affichent et un message vous invite à entrer l'élément d'information suivant. Après avoir lu un ID d'échantillon, un ID de kit d'analyse ou des notes, appuyez une fois sur « ENT » (Entrée) pour confirmer que les informations entrées sont correctes. Si, par exemple, un mauvais code-barres a été lu pour l'un des échantillons, appuyez sur « ESC » (Échap) puis relisez les codes-barres de tous les échantillons en suivant les instructions à l'écran. Pour l'ID de l'utilisateur et les notes, vous pouvez entrer les numéros à l'aide du clavier ou générer facilement vos propres codes-barres pour encoder ces numéros.

 Pour le suivi des données, commencez toujours par charger les échantillons en position A sur l'EZ1 Advanced et en position 1 sur l'EZ1 Advanced XL. Placez les échantillons restants de façon consécutive dans les positions ouvertes suivantes de la table de travail.

Pour en savoir plus sur le suivi des données et sur l'utilisation du logiciel EZ1 Advanced Communicator, voir le *Manuel d'utilisation de l'EZ1 Advanced* ou le *Manuel d'utilisation de l'EZ1 Advanced XL*.

Flux de fonctionnement de l'EZ1 DSP DNA Blood

Insérez la carte EZ1 DSP DNA Blood dans la fente de la carte EZ1



Allumez l'appareil EZ1



Suivez les messages à l'écran pour le suivi des données *



Suivez les messages à l'écran pour la configuration de la table de travail



Lancez le protocole



Prélevez l'ADN purifié



Décontamination par UV *

* EZ1 Advanced et EZ1 Advanced XL seulement.

Protocole : Purification de l'ADN génomique à partir de sang total à l'aide de l'EZ1 Advanced XL

Remarques importantes avant de commencer

- Si vous utilisez le kit EZ1 DSP DNA Blood pour la première fois, lisez « Remarques importantes » page 28.
- Les cartouches de réactif (RCB) contiennent des sels de guanidine et ne sont donc pas compatibles avec des réactifs désinfectants contenant un javellisant. Respectez les mesures de sécurité appropriées et portez des gants lors des manipulations. Voir page 7 pour les Avertissements et précautions.
- Exécutez toutes les étapes du protocole à température ambiante (15-25°C). Durant la procédure de configuration, travaillez rapidement.
- Après réception du kit, vérifiez que les éléments du kit ne sont pas endommagés. Si les cartouches de réactif (RCB) ou d'autres éléments du kit sont endommagés, contactez les Services techniques de QIAGEN ou votre distributeur local. Si du liquide a été renversé, reportez-vous aux « Avertissements et précautions » (page 7). N'utilisez pas de cartouches de réactif (RCB) ou d'autres éléments de kit défectueux, car leur utilisation peut entraîner une mauvaise performance du kit.
- Le rendement d'ADN génomique dépend du nombre de globules blancs dans l'échantillon.


Les choses à faire avant de commencer

- Le tampon de lyse dans la cartouche de réactif (RCB) peut former un précipité lors du stockage. Amener la cartouche de réactif (RCB) à température ambiante (15 à 25 °C) avant utilisation. Si nécessaire, dissolvez à nouveau en réchauffant à une température comprise entre 30 et 40°C puis placez-le à température ambiante.
- Le protocole inclut la possibilité facultative d'exécuter des lavages à l'éthanol à 80% et non avec le tampon fourni dans la cartouche de réactif. Cela peut s'avérer avantageux pour certaines applications en aval. Si cette option est sélectionnée, des tubes de 2 ml contenant 1 800 µl d'éthanol à 80% chacun doivent être placés dans la rangée 3 de la table de travail (voir Figure 12, page 32). Pour préparer suffisamment d'éthanol à 80% pour 14 échantillons, ajoutez 6 ml d'eau sans nucléases à 24 ml d'éthanol à 100%.* Suivez les instructions données dans les messages à l'écran.

* N'utilisez pas d'alcool dénaturé contenant d'autres substances telles que le méthanol ou le méthyléthylcétone.

Procédure

1. Amenez jusqu'à 14 échantillons de sang total à température ambiante.

 Assurez-vous que les échantillons qui ont été congelés sont entièrement décongelés et laissés à température ambiante suffisamment longtemps. Si les échantillons ont été stockés à une température comprise entre 2 et 8°C, ils doivent également être amenés à température ambiante. La température de tous les échantillons doit être comprise entre 15 et 25°C avant de lancer la procédure afin de garantir un rendement et une pureté de l'ADN optimaux.

2. Insérez complètement la carte DSP DNA Blood de l'EZ1 Advanced XL dans la fente de la carte EZ1 de l'EZ1 Advanced XL.

3. Allumez l'appareil EZ1.

L'interrupteur d'alimentation est situé à l'arrière de l'appareil.

4. Appuyez sur « START » (Lancement) pour lancer le protocole et la configuration de la table de travail du protocole EZ1 DSP DNA Blood.

5. Suivez les instructions à l'écran pour la configuration de la table de travail, la sélection des variables du protocole et le suivi des données.

6. Appuyez sur « 1 » pour lancer la configuration de la table de travail pour le protocole 200 µl DSP ou sur « 2 » pour le protocole 350 µl.

7. Choisissez le volume d'élution : appuyez sur « 1 » pour une élution dans 50 µl, sur « 2 » pour une élution dans 100 µl et sur « 3 » pour une élution dans 200 µl.


8. Indiquez si vous souhaitez exécuter les lavages facultatifs à l'éthanol à 80%.

Le texte récapitule les étapes suivantes concernant le chargement de la table de travail.

9. Ouvrez la porte de l'appareil.

10. Inversez les cartouches de réactif (RCB) 1 à 14 à quatre reprises afin de mélanger les particules magnétiques. Puis tapotez sur les cartouches (RCB) afin de déposer les réactifs au fond de leurs réceptacles.

11. Chargez les cartouches de réactif dans le support de cartouches.

 Après avoir inséré une cartouche de réactif (RCB) dans le support de cartouches, appuyez sur la cartouche jusqu'à ce qu'elle se mette en place avec un déclic.

i Pour le suivi des données, commencez toujours par charger les échantillons dans la position 1 de l'EZ1 Advanced XL. Placez les échantillons restants de façon consécutive dans les positions ouvertes suivantes de la table de travail.

Lorsque vous utilisez l'option de suivi des données, veillez à ce que l'ID de l'échantillon suive le même ordre que les échantillons sur la table de travail pour éviter de mélanger les données.

12. Suivez les instructions à l'écran pour continuer à configurer la table de travail.

13. Fermez la porte de l'appareil.

14. Appuyez sur « START » afin de lancer le protocole.

15. Lorsque le protocole se termine, l'écran affiche « Protocol finished ». Appuyez sur « ENT » pour générer le fichier d'état.

L'EZ1 Advanced XL peut stocker jusqu'à dix fichiers d'état. Les fichiers d'état peuvent être imprimés directement sur une imprimante connectée ou transférés vers un ordinateur.

16. Ouvrez la porte de l'appareil.

17. Retirez les tubes d'éluion contenant l'ADN purifié de la première rangée. Jetez les déchets de la préparation d'échantillon.*

18. Facultatif : Suivez les instructions à l'écran pour effectuer la décontamination par UV des surfaces de la table de travail.

19. Effectuez la maintenance régulière décrite dans le manuel d'utilisation fourni avec votre appareil EZ1.

La maintenance régulière doit être effectuée après chaque cycle de protocole. Cela consiste à nettoyer l'unité de perforation et les surfaces de la table de travail.

i L'unité de perforation est coupante ! L'utilisation d'une double paire de gants est conseillée.

20. Pour exécuter un autre protocole, appuyez sur « START », exécutez les étapes 1 et 2 du protocole, puis suivez le protocole à partir de l'étape 5. Sinon appuyez deux fois sur « STOP » pour revenir au premier écran, fermez la porte de l'appareil, puis éteignez l'appareil EZ1.

Les étapes 3 et 4 ne sont pas nécessaires lors de l'exécution d'un autre protocole. Sautez ces étapes.

* Les déchets d'échantillons contiennent des sels de guanidine et, de ce fait, sont incompatibles avec les javellisants. Voir les avertissements et précautions à la page 8.

Protocole : Purification de l'ADN génomique à partir de sang total à l'aide de l'EZ1 Advanced (avec carte V2.0)

Ce protocole doit être utilisé avec la carte DSP DNA Blood V2.0 de l'EZ1 Advanced, qui est une version mise à jour de la carte originale V1.0. Pour l'utilisation de la carte V1.0, suivez « Protocole : Purification de l'ADN génomique à partir de sang total à l'aide de l'EZ1 Advanced (avec carte V1.0) », page 42.

Le protocole de la carte V2.0 inclut des options de protocole supplémentaires permettant l'utilisation de différentes entrées d'échantillons et différents volumes d'élution ainsi que les lavages facultatifs à l'éthanol à 80%. Le protocole de la carte V2.0 équivaut à celui de la carte V1.0 d'origine si les entrées, les volumes d'élution et les tampons de lavage d'origine sont utilisés.

Remarques importantes avant de commencer

- Si vous utilisez le kit EZ1 DSP DNA Blood pour la première fois, lisez « Remarques importantes » page 28.
- Les cartouches de réactif (RCB) contiennent des sels de guanidine et ne sont donc pas compatibles avec des réactifs désinfectants contenant un javellisant. Respectez les mesures de sécurité appropriées et portez des gants lors des manipulations. Voir page 7 pour les Avertissements et précautions.
- Exécutez toutes les étapes du protocole à température ambiante (15–25°C). Durant la procédure de configuration, travaillez rapidement.
- Après réception du kit, vérifiez que les éléments du kit ne sont pas endommagés. Si les cartouches de réactif (RCB) ou d'autres éléments du kit sont endommagés, contactez les Services techniques de QIAGEN ou votre distributeur local. Si du liquide a été renversé, reportez-vous aux « Avertissements et précautions » (page 7). N'utilisez pas de cartouches de réactif (RCB) ou d'autres éléments de kit défectueux, car leur utilisation peut entraîner une mauvaise performance du kit.
- Le rendement d'ADN génomique dépend du nombre de globules blancs dans l'échantillon.

Les choses à faire avant de commencer


- Le tampon de lyse dans la cartouche de réactif (RCB) peut former un précipité lors du stockage. Amener la cartouche de réactif (RCB) à température ambiante (15 à 25 °C) avant utilisation. Si nécessaire,

dissolvez à nouveau en réchauffant à une température comprise entre 30 et 40°C puis placez-le à température ambiante.

- Le protocole inclut la possibilité facultative d'exécuter des lavages à l'éthanol à 80% et non avec le tampon fourni dans la cartouche de réactif. Cela peut s'avérer avantageux pour certaines applications en aval. Si cette option est sélectionnée, des tubes de 2 ml contenant 1 800 µl d'éthanol à 80% chacun doivent être placés dans la rangée 3 de la table de travail (voir Figure 12, page 32). Pour préparer suffisamment d'éthanol à 80% pour 6 échantillons, ajoutez 3 ml d'eau sans nucléases à 12 ml d'éthanol à 100%.* Suivez les instructions données dans les messages à l'écran.

Procédure

1. Incubez jusqu'à 6 échantillons de sang total à température ambiante.

 Assurez-vous que les échantillons qui ont été congelés sont entièrement décongelés et laissés à température ambiante suffisamment longtemps. Si les échantillons ont été stockés à une température comprise entre 2 et 8°C, ils doivent également être amenés à température ambiante. La température de tous les échantillons doit être comprise entre 15 et 25°C avant de lancer la procédure afin de garantir un rendement et une pureté de l'ADN optimaux.

2. Insérez complètement la carte DSP DNA Blood de l'EZ1 Advanced (V2.0) dans la fente de la carte EZ1 de l'EZ1 Advanced.

3. Allumez l'appareil EZ1.


L'interrupteur d'alimentation est situé à l'arrière de l'appareil.


* N'utilisez pas d'alcool dénaturé contenant d'autres substances telles que le méthanol ou le méthyléthylcétone

4. Appuyez sur « **START** » pour lancer le protocole et la configuration de la table de travail du protocole EZ1 DSP DNA Blood.
5. Suivez les instructions à l'écran pour la configuration de la table de travail, la sélection des variables du protocole et le suivi des données.
6. Appuyez sur « **1** » pour lancer la configuration de la table de travail pour le protocole 200 µl DSP ou sur « **2** » pour le protocole 350 µl.
7. Choisissez le volume d'élution : appuyez sur « **1** » pour une élution dans 50 µl, sur « **2** » pour une élution dans 100 µl et sur « **3** » pour une élution dans 200 µl.
8. Indiquez si vous souhaitez exécuter les lavages facultatifs à l'éthanol à 80%.

Le texte récapitule les étapes suivantes concernant le chargement de la table de travail.

9. Ouvrez la porte de l'appareil.
10. Inversez les cartouches de réactif (RCB) 1 à 6 à quatre reprises afin de mélanger les particules magnétiques. Puis tapotez sur les cartouches (RCB) afin de déposer les réactifs au fond de leurs réceptacles.
11. Chargez les cartouches de réactif dans le support de cartouches.

 Après avoir inséré une cartouche de réactif (RCB) dans le support de cartouches, appuyez sur la cartouche jusqu'à ce qu'elle se mette en place avec un déclic.

 Pour le suivi des données, commencez toujours par charger les échantillons dans la position A de l'EZ1 Advanced. Placez les échantillons restants de façon consécutive dans les positions ouvertes suivantes de la table de travail.


Lorsque vous utilisez l'option de suivi des données, veillez à ce que l'ID de l'échantillon suive le même ordre que les échantillons sur la table de travail pour éviter de mélanger les données.

12. Suivez les instructions à l'écran pour continuer à configurer la table de travail.
13. Fermez la porte de l'appareil.
14. Appuyez sur « **START** » afin de lancer le protocole.
15. Lorsque le protocole se termine, l'écran affiche « **Protocol finished** ». Appuyez sur « **ENT** » pour générer le fichier d'état.

L'EZ1 Advanced peut stocker jusqu'à dix fichiers d'état. Les fichiers d'état peuvent être imprimés directement sur une imprimante connectée ou transférés vers un ordinateur.

- 16. Ouvrir la porte de l'appareil.**
- 17. Retirez les tubes d'élution contenant l'ADN purifié de la première rangée. Jetez les déchets de la préparation d'échantillon.***
- 18. Facultatif : Suivez les instructions à l'écran pour effectuer la décontamination par UV des surfaces de la table de travail.**
- 19. Effectuez la maintenance régulière décrite dans le manuel d'utilisation fourni avec votre appareil EZ1.**

La maintenance régulière doit être effectuée après chaque cycle de protocole. Cela consiste à nettoyer l'unité de perforation et les surfaces de la table de travail.

 L'unité de perforation est coupante ! L'utilisation d'une double paire de gants est conseillée.

- 20. Pour exécuter un autre protocole, appuyez sur « START », exécutez les étapes 1 et 2 du protocole, puis suivez le protocole à partir de l'étape 5. Sinon appuyez deux fois sur « STOP » pour revenir au premier écran, fermez la porte de l'appareil, puis éteignez l'appareil EZ1.**

Les étapes 3 et 4 ne sont pas nécessaires lors de l'exécution d'un autre protocole. Sautez ces étapes.

* Les déchets d'échantillons contiennent des sels de guanidine et, de ce fait, sont incompatibles avec les javellisants. Voir les avertissements et précautions à la page 8.

Protocole : Purification de l'ADN génomique à partir de sang total à l'aide de l'EZ1 Advanced (avec carte V1.0)

Ce protocole doit être utilisé avec la carte DSP DNA Blood V1.0 de l'EZ1 Advanced. Pour l'utilisation de la carte V2.0, suivez « Protocole : Purification de l'ADN génomique à partir de sang total à l'aide de l'EZ1 Advanced (avec carte V2.0) », page 38.

Le protocole de la carte V2.0 inclut des options de protocole supplémentaires permettant l'utilisation de différentes entrées d'échantillons et différents volumes d'élution ainsi que les lavages facultatifs à l'éthanol à 80%. Le protocole de la carte V2.0 équivaut à celui de la carte V1.0 d'origine si les entrées, les volumes d'élution et les tampons de lavage d'origine sont utilisés.

Remarques importantes avant de commencer


- Si vous utilisez le kit EZ1 DSP DNA Blood pour la première fois, lisez « Remarques importantes » page 28.
- Les cartouches de réactif (RCB) contiennent des sels de guanidine et ne sont donc pas compatibles avec des réactifs désinfectants contenant un javellisant. Respectez les mesures de sécurité appropriées et portez des gants lors des manipulations. Voir page 7 pour les Avertissements et précautions.
- Exécutez toutes les étapes du protocole à température ambiante (15–25°C). Durant la procédure de configuration, travaillez rapidement.
- Après réception du kit, vérifiez que les éléments du kit ne sont pas endommagés. Si les cartouches de réactif (RCB) ou d'autres éléments du kit sont endommagés, contactez les Services techniques de QIAGEN ou votre distributeur local. Si du liquide a été renversé, reportez-vous aux Avertissements et précautions » (page 7). N'utilisez pas de cartouches de réactif (RCB) ou d'autres éléments de kit défectueux, car leur utilisation peut entraîner une mauvaise performance du kit.
- Le rendement d'ADN génomique dépend du nombre de globules blancs dans l'échantillon.

Les choses à faire avant de commencer

- Le tampon de lyse dans la cartouche de réactif (RCB) peut former un précipité lors du stockage. Amener la cartouche de réactif (RCB) à température ambiante (15 à 25 °C) avant utilisation. Si nécessaire, dissolvez à nouveau en réchauffant à une température comprise entre 30 et 40°C puis placez-le à température ambiante.

Procédure

1. Amenez jusqu'à 6 échantillons de sang total à température ambiante.

 Assurez-vous que les échantillons qui ont été congelés sont entièrement décongelés et laissés à température ambiante suffisamment longtemps. Si les échantillons ont été stockés à une température comprise entre 2 et 8°C, ils doivent également être amenés à température ambiante. La température de tous les échantillons doit être comprise entre 15 et 25°C avant de lancer la procédure afin de garantir un rendement et une pureté de l'ADN optimaux.

2. Insérez complètement la carte DSP DNA Blood (V1.0) de l'EZ1 Advanced dans la fente de la carte EZ1 de l'EZ1 Advanced.

3. Allumez l'appareil EZ1.


L'interrupteur d'alimentation est situé à l'arrière de l'appareil.


4. Appuyez sur « START » pour démarrer la configuration de la table de travail du protocole EZ1 DSP DNA Blood.

5. Ouvrez la porte de l'appareil.

6. Inversez les cartouches de réactif (RCB) 1 à 6 à quatre reprises afin de mélanger les particules magnétiques. Puis tapotez sur les cartouches (RCB) afin de déposer les réactifs au fond de leurs réceptacles.

7. Suivez les instructions à l'écran pour la configuration de la table de travail, la sélection des variables du protocole et le suivi des données.

 Après avoir inséré une cartouche de réactif (RCB) dans le support de cartouches, appuyez sur la cartouche jusqu'à ce qu'elle se mette en place avec un déclic.

 Pour le suivi des données, commencez toujours par charger les échantillons dans la position A de l'EZ1 Advanced. Placez les échantillons restants de façon consécutive dans les positions ouvertes suivantes de la table de travail.


Lorsque vous utilisez l'option de suivi des données, veillez à ce que l'ID de l'échantillon suive le même ordre que les échantillons sur la table de travail pour éviter de mélanger les données.

- 8. Fermez la porte de l'appareil.**
- 9. Appuyez sur « START » afin de lancer le protocole.**
- 10. Lorsque le protocole se termine, l'écran affiche « Protocol finished ». Appuyez sur « ENT » pour générer le fichier d'état.**

L'EZ1 Advanced peut stocker jusqu'à dix fichiers d'état. Les fichiers d'état peuvent être imprimés directement sur une imprimante connectée ou transférés vers un ordinateur.

- 11. Ouvrez la porte de l'appareil.**
- 12. Retirez les tubes d'éluion contenant l'ADN purifié de la première rangée. Mettez au rebut les déchets de la préparation d'échantillon.***
- 13. Facultatif : Suivez les instructions à l'écran pour effectuer la décontamination par UV des surfaces de la table de travail.**
- 14. Effectuez la maintenance régulière décrite dans le manuel d'utilisation fourni avec votre appareil EZ1.**

La maintenance régulière doit être effectuée après chaque cycle de protocole. Cela consiste à nettoyer l'unité de perforation et les surfaces de la table de travail.

 L'unité de perforation est coupante ! L'utilisation d'une double paire de gants est conseillée.

Les étapes 3 et 4 ne sont pas nécessaires lors de l'exécution d'un autre protocole. Sautez ces étapes.

- 15. Pour exécuter un autre protocole, appuyez sur « START », exécutez les étapes 1 et 2 du protocole, puis suivez le protocole à partir de l'étape 5. Sinon appuyez deux fois sur « STOP » pour revenir au premier écran, fermez la porte de l'appareil, puis éteignez l'appareil EZ1.**

* Les déchets d'échantillons contiennent des sels de guanidine et, de ce fait, sont incompatibles avec les javellisants. Voir les informations de sécurité à la page 8.

Protocole : Purification de l'ADN génomique à partir de sang total à l'aide du BioRobot EZ1 DSP

Remarques importantes avant de commencer


- Si vous utilisez le kit EZ1 DSP DNA Blood pour la première fois, lisez « Remarques importantes » page 28.
- Les cartouches de réactif (RCB) contiennent des sels de guanidine et ne sont donc pas compatibles avec des réactifs désinfectants contenant un javellisant. Respectez les mesures de sécurité appropriées et portez des gants lors des manipulations. Voir page 7 pour les Avertissements et précautions.
- Exécutez toutes les étapes du protocole à température ambiante (15–25°C). Durant la procédure de configuration, travaillez rapidement.
- Après réception du kit, vérifiez que les éléments du kit ne sont pas endommagés. Si les cartouches de réactif (RCB) ou d'autres éléments du kit sont endommagés, contactez les Services techniques de QIAGEN ou votre distributeur local. Si du liquide a été renversé, reportez-vous aux « Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden. » (page Fehler! Textmarke nicht definiert.). N'utilisez pas de cartouches de réactif (RCB) ou d'autres éléments de kit défectueux, car leur utilisation peut entraîner une mauvaise performance du kit.
- Le rendement d'ADN génomique dépend du nombre de globules blancs dans l'échantillon.

Les choses à faire avant de commencer

- Le tampon de lyse dans la cartouche de réactif (RCB) peut former un précipité lors du stockage. Amener la cartouche de réactif (RCB) à température ambiante (15 à 25 °C) avant utilisation. Si nécessaire, dissolvez à nouveau en réchauffant à une température comprise entre 30 et 40°C puis placez-le à température ambiante.

Procédure

1. Incubez jusqu'à 6 échantillons de sang total à température ambiante.

 Assurez-vous que les échantillons qui ont été congelés sont entièrement décongelés et laissés à température ambiante suffisamment longtemps. Si les échantillons ont été stockés à une température comprise entre 2 et 8°C, ils doivent également être amenés à température ambiante. La température de tous les échantillons doit être comprise entre 15 et 25°C avant de lancer

la procédure afin de garantir un rendement et une pureté de l'ADN optimaux.

2. Insérez complètement la carte DSP DNA Blood de l'EZ1 dans la fente de la carte EZ1 du BioRobot EZ1 DSP.

3. Allumez l'appareil EZ1.


L'interrupteur d'alimentation est situé à l'arrière de l'appareil.


4. Appuyez sur « START » pour démarrer la configuration de la table de travail du protocole EZ1 DSP DNA Blood.

5. Ouvrez la porte de l'appareil.

6. Inversez les cartouches de réactif (RCB) 1 à 6 à quatre reprises afin de mélanger les particules magnétiques. Puis tapotez sur les cartouches (RCB) afin de déposer les réactifs au fond de leurs réceptacles.

7. Suivez les instructions à l'écran pour configurer la table de travail et sélectionner les variables du protocole.

 Après avoir inséré une cartouche de réactif (RCB) dans le support de cartouches, appuyez sur la cartouche jusqu'à ce qu'elle se mette en place avec un déclic.

 S'il y a moins de six cartouches de réactif (RCB), elles peuvent être chargées dans n'importe quel ordre sur le support. Cependant, lorsque vous chargez les autres accessoires de laboratoire, assurez-vous de suivre le même ordre.

8. Fermez la porte de l'appareil.

9. Appuyez sur « START » afin de lancer le protocole.


Lorsque le protocole se termine, l'écran affiche « Protocol finished ».

10. Ouvrez la porte de l'appareil.

11. Retirez les tubes d'élution contenant l'ADN purifié de la première rangée. Mettez au rebut les déchets de la préparation d'échantillon.*

12. Effectuez la maintenance régulière décrite dans le manuel d'utilisation fourni avec votre appareil EZ1.

La maintenance régulière doit être effectuée après chaque cycle de protocole. Cela consiste à nettoyer l'unité de perforation et les surfaces de la table de travail.

 L'unité de perforation est coupante ! L'utilisation d'une double paire de gants est conseillée.

13. Pour exécuter un autre protocole, appuyez sur « START », exécutez les étapes 1 et 2 du protocole, puis suivez le protocole à partir de l'étape 5. Sinon appuyez deux fois sur « STOP » pour revenir au premier écran, fermez la porte de l'appareil, puis éteignez l'appareil EZ1.

Les étapes 3 et 4 ne sont pas nécessaires lors de l'exécution d'un autre protocole. Sautez ces étapes.

* Les déchets d'échantillons contiennent des sels de guanidine et, de ce fait, sont incompatibles avec les javellisants. Voir les informations de sécurité à la page 8.


Guide de dépannage

Ce guide de dépannage peut vous aider à résoudre tous les problèmes qui peuvent survenir. Pour plus d'informations, voir aussi la page Foire aux Questions de notre Centre d'assistance technique : www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Les scientifiques des Services techniques de QIAGEN seront ravis de répondre à toutes les questions que vous pouvez vous poser 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).

Commentaires et suggestions


Manipulation générale

Message d'erreur sur l'écran de l'appareil


 Reportez-vous au manuel d'utilisation fourni avec votre appareil EZ1.

Faible rendement d'ADN


a) Particules magnétiques pas totalement remises en suspension

 Assurez-vous de remettre entièrement en suspension les particules magnétiques avant de charger les cartouches de réactif (RCB) dans le support.

b) Réactif aspiré insuffisant

 Après avoir inversé les cartouches de réactif (RCB) pour remettre en suspension les particules magnétiques, pensez à tapoter sur les cartouches (RCB) afin de déposer les réactifs au fond de leurs réceptacles.

c) Échantillons de sang congelés mal mélangés après décongélation

 Faites décongeler les échantillons de sang congelés dans un incubateur* ou au bain-marie* à une température comprise entre 30 et 40°C en les agitant doucement pour garantir un mélange homogène.

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

Commentaires et suggestions

- d) Précipités visibles au fond des réceptacles des cartouches de réactif (RCB)
- ⓘ Placez les cartouches de réactif (RCB) dans un agitateur-incubateur et incubez-les à une température comprise entre 30 et 40°C en les agitant doucement pendant deux heures maximum. N'utilisez pas les cartouches de réactif (RCB) si les précipités ne se dissolvent pas à nouveau.

L'ADN ne réagit pas bien dans des applications en aval

- a) Quantité insuffisante d'ADN utilisé dans l'application en aval
- ⓘ Quantifiez l'ADN purifié par la mesure spectrophotométrique de l'absorbance à 260 nm (voir « Quantification de l'ADN », page 76).
- b) Trop d'ADN utilisé dans l'application en aval
- ⓘ Un excès d'ADN peut inhiber certaines réactions enzymatiques. Quantifiez l'ADN purifié par la mesure spectrophotométrique de l'absorbance à 260 nm (voir « Quantification de l'ADN », page 76).
- c) Inhibition de l'application en aval
- ⓘ Certaines applications en aval peuvent montrer une performance supérieure si des lavages à l'éthanol à 80 % sont effectués à la place des lavages avec les tampons fournis dans les cartouches de réactif. Cette option est disponible lors de l'utilisation de la carte DSP DNA Blood V2.0 de l'EZ1 Advanced (voir page 38) ou de la carte DSP DNA Blood de l'EZ1 Advanced XL (voir page 35).

Faible rapport A_{260}/A_{280} pour les acides nucléiques purifiés

- Lecture d'absorbance à 320 nm non soustraite des lectures d'absorbance obtenues à 260 nm et 280 nm
- ⓘ Afin de corriger la présence de particules magnétiques dans l'éluat, une lecture d'absorbance à 320 nm doit être relevée et soustraite des lectures d'absorbance obtenues à 260 nm et 280 nm

Annexe A : Messages affichés

Les messages affichés par le protocole du logiciel durant la configuration de la table de travail, pendant l'exécution du protocole et après l'exécution du protocole sont énumérés dans les Tableaux 6 à 9. Le nombre de messages énumérés dans les tableaux correspond au nombre de messages affichés par le logiciel.

Pour les messages d'erreur généraux affichés sur l'écran de l'appareil EZ1, reportez-vous au manuel d'utilisation fourni avec votre appareil EZ1.

Tableau 6. Messages affichés pour le protocole EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood

Numéro du message	Type de message	Texte du message de l'EZ1 Advanced XL	Traduction
Aucun	Instruction	Date/time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup	Date/Heure LANCEMENT : Cycle 1 : UV 2: Man 3 : Test 4: Config.
1	Instruction	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Version 1.0	EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Version 1.0
2	Suivi des données	Enter user ID ENT: Next	Entrer l'ID de l'utilisateur Entrée : Suivant
3	Suivi des données	Enter Q-Card bar code ENT: Next	Entrez le code-barres de la Q-Card Entrée : Suivant
4	Instruction	Wrong kit! Please load DSP DNA Blood kit ENT: Back	Mauvais kit ! Veuillez charger le kit DSP DNA Blood Entrée : Retour
5	Instruction	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: stop protocol	Kit expiré ! MMAA : Entrée : Utilisez un nouveau kit Échap : Arrêter le protocole

Suite du tableau page suivante.

Tableau 6. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message de l'EZ1 Advanced XL	Traduction
6	Suivi des données	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 14 ENT: Next	Utilisez les données Q-Card avec l'échantillon n° 1 à [X] Entrez 1 à 14 Entrée : Suivant
7	Suivi des données	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No	Voulez-vous traiter des échantillons supplémentaires avec un autre lot du kit ? Entrée : Oui, Échap : Non
8	Suivi des données	Do you want to add sample IDs? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous ajouter l'ID des échantillons ? Entrée : Oui Échap: Non
9	Suivi des données	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next	Entrez l'ID d'échantillon pour l'échantillon n° [x] Entrée : Suivant
10	Suivi des données	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous vérifier les ID des échantillons ? Entrée : Oui Échap : Non
11	Suivi des données	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next	ID 1 : ID 2 : ID 3 : BAS : Suivant
12	Suivi des données	ID 4: ID 5: ID 6: DOWN: Next, UP: Back	ID 4 : ID 5 : ID 6 : BAS : Suivant, HAUT : Retour

Suite du tableau page suivante.

Tableau 6. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message de l'EZ1 Advanced XL	Traduction
13	Suivi des données	ID 7: ID 8: ID 9: DOWN: Next, UP: Back	ID 7 : ID 8 : ID 9 : BAS : Suivant, HAUT : Retour
14	Suivi des données	ID 10: ID 11: ID 12: DOWN: Next, UP: Back	ID 10 : ID 11 : ID 12 : BAS : Suivant, HAUT : Retour
15	Suivi des données	ID 13: ID 14: ESC: Rescan ENT: Next, UP: Back	ID 13 : ID 14 : Échap : Relecture Entrée : Suivant, HAUT : Retour
16	Suivi des données	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	Voulez-vous ajouter des informations d'analyse ? Entrée : Oui, Échap : Non
17	Suivi des données	Enter assay ID for sample no.[X] ENT: Next	Entrez l'ID d'analyse pour l'échantillon n° [X] Entrée : Suivant
18	Suivi des données	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous vérifier les ID des analyses ? Entrée : Oui Échap : Non
19	Suivi des données	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous ajouter des notes ? Entrée : Oui Échap : Non
20	Suivi des données	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next	Entrez les notes pour l'échantillon n° [x] Entrée : Suivant

Suite du tableau page suivante.

Tableau 6. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message de l'EZ1 Advanced XL	Traduction
21	Suivi des données	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous vérifier des notes ? Entrée : Oui Échap : Non
22	Instruction	Select protocol 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2	Sélectionnez le protocole 1 : 200 µl DSP Blood 2 : 350 µl DSP Blood Choisissez 1 ou 2
23	Instruction	Select elution volume: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul	Sélectionnez un volume d'éluion : 1 : 50 µl 2 : 100 µl 3 : 200 µl
24	Instruction	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2	Lavage à l'éthanol pur ? 1 : Non 2: Oui Choisissez 1 ou 2
25	Instruction	You have chosen: [xxx]ul blood, EtOH [xxx]ul elution ENT: Next, ESC: Back	Vous avez choisi : [xxx] µl de sang, EtOH [xxx] µl d'éluion Entrée : Suivant, Échap : Retour
26	Instruction	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back	Chargez les cartouches dans la même position que les échantillons Entrée : Suivant, Échap : Retour
27	Instruction	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ENT: Next, ESC: Back	Chargez les tubes d'éluion (1,5ml) dans la première rangée Entrée : Suivant, Échap : Retour

Suite du tableau page suivante.

Tableau 6. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message de l'EZ1 Advanced XL	Traduction
28	Instruction	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back	Chargez les porte-pointes (DTH) et les pointes (DFT) dans la deuxième rangée Entrée : Suivant, Échap : Retour
29	Instruction	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back	Chargez les tubes de 2 ml avec 1 800 µl d'éthanol à 80% dans la troisième rangée Entrée: Suivant, Échap : Retour
30	Instruction	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back	Chargez des tubes de 2 ml avec échantillon dans la quatrième rangée Entrée : Suivant, Échap : Retour
31	Instruction	Loading finished Close door and press START ESC: Back	Chargement terminé Fermez la porte et appuyez sur LANCEMENT Échap : Retour
32	Instruction	Please close door! ENT: Next	Veuillez fermer la porte ! Entrée : Suivant
33	État	Protocol started	Protocole lancé
34	État	Piercing foil [x] of [x] min left	Feuille de perforation [x] sur [x] min restantes
35	État	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left	Prélèvement du tampon d'éluion [x] sur [x] min restantes

Suite du tableau page suivante.

Tableau 6. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message de l'EZ1 Advanced XL	Traduction
36	État	Deliver at heat block [x] of [x] min left	Livraison au tampon isolant [x] sur [x] min restantes
37	État	Collecting Beads [x] of [x] min left	Prélèvement des billes [x] sur [x] min restantes
38	État	Resuspension of Beads [x] of [x] min left	Remise en suspension des billes [x] sur [x] min restantes
39	État	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left	Prélèvement du tampon de lyse [x] sur [x] min restantes
40	État	Mixing Lysate [x] of [x] min left	Mélange du lysat [x] sur [x] min restantes
41	État	Collecting Beads [x] of [x] min left	Prélèvement des billes [x] sur [x] min restantes
42	État	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left	Liaison de l'ADN aux billes Séparation magnétique [x] de [x] min restantes
43	État	Wash 1 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavage 1 Séparation magnétique [x] sur [x] min restantes
44	État	Wash 2 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavage 2 Séparation magnétique [x] sur [x] min restantes

Suite du tableau page suivante.

Tableau 6. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message de l'EZ1 Advanced XL	Traduction
45	État	Wash 3 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavage 3 Séparation magnétique [x] sur [x] min restantes
46	État	Wash 4 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavage 4 Séparation magnétique [x] sur [x] min restantes
47	État	Rinse [x] of [x] min left	Rinçage [x] sur [x] min restantes
48	État	Check Temp. Set: Cur: [x] of [x] min left	Contrôle de la température Fixée : Actuelle : [x] sur [x] min restantes
49	État	Elution [x] of [x] min left	Élution [x] sur [x] min restantes
50	Instruction	Protocol finished! ENT: Next	Protocole terminé ! Entrée : Suivant
51	État	Transferring report file Attempt no.	Transfert du fichier d'état Tentative n°
52	Aucun		
Aucun	Instruction	SEND REPORT Print out o.k.? 1: o.k. 2: not o.k. ESC:Back	ENVOYER FICHER Impression o.k. ? 1 : o.k. 2 : pas o.k. Échap : Retour
53	État	Report file sent ENT: Next	Fichier d'état envoyé Entrée : Suivant

Suite du tableau page suivante.

Tableau 6. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message de l'EZ1 Advanced XL	Traduction
54	État	Report file could not be sent ENT: Resend	Échec de l'envoi du fichier d'état Entrée : Renvoyer
55	Instruction	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No	Exécuter un cycle UV ? Entrée : Oui Échap : Non
56	Instruction	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next	Retirez les éluats et les consommables de la table de travail Entrée : Suivant
57	Instruction	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next	Les lampes UV expirent bientôt Cycles UV restants : Entrée : Suivant
58	Instruction	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort	Les lampes UV ont expiré Entrée : Suivant Échap : Abandonner
59	Instruction	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next	Décontamination UV : Entrez 20 à 60 Entrée : Suivant
60	Instruction	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back	Le temps de décontamination UV doit être compris entre 20 et 60 min Échap : Retour
61	Instruction	UV lamp did not ignite! ESC: Back	La lampe UV ne s'est pas allumée ! Échap : Retour
62	Instruction	UV decontamination Total time: min Time left: min	Décontamination UV Temps total : min Temps restant : min

Suite du tableau page suivante.

Tableau 6. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message de l'EZ1 Advanced XL	Traduction
63	État	Decontamination UV lamps cooling Please stand by	Refroidissement des lampes de décontamination UV Veuillez patienter
64	Instruction	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu	Effectuez la maintenance régulière après chaque cycle Échap : Menu principal

Tableau 7. Messages affichés pour le protocole EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V2.0)

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V2.0)	Traduction
Aucun	Instruction	Date/time START:Run 1:UV 2:Man 3:Test 4:Setup Key: START,1,2,3,4	Date/Heure LANCEMENT : Cycle 1 : UV 2 : Man 3 : Test 4 : Configuration Touche : LANCEMENT,1,2,3,4
1	Instruction	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 2.0	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 2.0
2	Suivi des données	Enter user ID ENT: Next	Entrer l'ID de l'utilisateur Entrée : Suivant
3	Suivi des données	Enter Q-Card bar code ENT: Next	Entrez le code-barres de la Q-Card Entrée : Suivant
4	Instruction	Wrong kit! Please load DSP DNA Blood kit ENT: Back	Mauvais kit ! Veuillez charger le kit DSP DNA Blood Entrée : Retour
5	Instruction	Kit expired! MMYY: ENT: Use new kit ESC: Stop protocol	Kit expiré ! MMAA : Entrée : Utilisez un nouveau kit Échapp : Arrêtez le protocole
6	Suivi des données	Use Q-Card data with sample 1 to [X] Enter 1 to 6 ENT: Next	Utilisez les données Q-Card avec l'échantillon n° 1 à [X] Entrez 1 à 6 Entrée : Suivant

Suite du tableau page suivante.

Tableau 7. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V2.0)	Traduction
7	Suivi des données	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No	Voulez-vous traiter des échantillons supplémentaires avec un autre lot du kit ? Entrée : Oui, Échap : Non
8	Suivi des données	Do you want to add sample IDs? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous ajouter l'ID des échantillons ? Entrée : Oui Échap : Non
9	Suivi des données	Enter sample ID for sample no. [x] ENT: Next	Entrez l'ID d'échantillon pour l'échantillon n° [x] Entrée : Suivant
10	Suivi des données	Do you want to check sample IDs? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous vérifier les ID des échantillons ? Entrée : Oui Échap : Non
11	Suivi des données	ID 1: ID 2: ID 3: DOWN: Next	ID 1 : ID 2 : ID 3 : BAS : Suivant
12	Suivi des données	ID 4: ID 5: ID 6: ENT:Next; Esc:Rescan	ID 4 : ID 5 : ID 6 : Entrée : Suivant ; Échap : Relecture
13	Aucun		
14	Aucun		
15	Aucun		
16	Suivi des données	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	Voulez-vous ajouter des informations d'analyse ? Entrée : Oui, Échap : Non

Suite du tableau page suivante.

Tableau 7. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V2.0)	Traduction
17	Suivi des données	Enter assay ID for sample no.[X] ENT: Next	Entrez l'ID d'analyse pour l'échantillon n° [X] Entrée : Suivant
18	Suivi des données	Do you want to check assay IDs? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous vérifier les ID des analyses ? Entrée : Oui Échap : Non
19	Suivi des données	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous ajouter des notes ? Entrée : Oui Échap : Non
20	Suivi des données	Enter notes for sample no. [x] ENT: Next	Entrez les notes pour l'échantillon n° [x] Entrée : Suivant
21	Suivi des données	Do you want to check notes? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous vérifier des notes ? Entrée : Oui Échap : Non
22	Instruction	Select protocol 1: 200ul DSP Blood 2: 350ul DSP Blood Choose 1 or 2	Sélectionnez le protocole 1 : 200 µl DSP Blood 2 : 350 µl DSP Blood Choisissez 1 ou 2
23	Instruction	Select elution volume: 1: 50ul 2: 100ul 3: 200ul	Sélectionnez un volume d'éluion : 1 : 50 µl 2: 100 µl 3 : 200 µl
24	Instruction	Pure ethanol wash? 1: No 2: Yes Choose 1 or 2	Lavage à l'éthanol pur ? 1 : Non 2: Oui Choisissez 1 ou 2

Suite du tableau page suivante.

Tableau 7. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V2.0)	Traduction
25	Instruction	You have chosen: [xxx]ul blood, EtOH [xxx]ul elution ENT: Next, ESC: Back	Vous avez choisi : [xxx] µl de sang, EtOH [xxx] µl d'élu­tion Entrée : Suivant, Échap : Retour
26	Instruction	Load cartridges at same positions as samples ENT: Next, ESC: Back	Chargez les cartouches dans la même position que les échantillons Entrée : Suivant, Échap : Retour
27	Instruction	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row ENT: Next, ESC: Back	Chargez les tubes d'élu­tion (1,5ml) dans la première rangée Entrée : Suivant, Échap : Retour
28	Instruction	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row ENT: Next, ESC: Back	Chargez les porte-pointes et les pointes dans la deuxième rangée Entrée : Suivant, Échap : Retour
29	Instruction	Load 2ml tubes with 1800ul 80% EtOH into third row ENT: Next, ESC: Back	Chargez les tubes de 2 ml avec 1 800 µl d'éthanol à 80% dans la troisième rangée Entrée : Suivant, Échap : Retour
30	Instruction	Load 2ml tubes (ST) with sample into fourth row ENT: Next, ESC: Back	Chargez des tubes de 2 ml avec échantillon dans la quatrième rangée Entrée : Suivant, Échap : Retour

Suite du tableau page suivante.

Tableau 7. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V2.0)	Traduction
31	Instruction	Loading finished Close door and press START ESC: Back	Chargement terminé Fermez la porte et appuyez sur LANCEMENT Échap : Retour
32	Instruction	Please close door! ENT: Next	Veuillez fermer la porte ! Entrée : Suivant
33	État	Protocol started	Protocole lancé
34	État	Piercing foil [x] of [x] min left	Feuille de perforation [x] sur [x] min restantes
35	État	Collecting Elution Buffer [x] of [x] min left	Prélèvement du tampon d'élution [x] sur [x] min restantes
36	État	Deliver at heat block [x] of [x] min left	Livraison au tampon isolant [x] sur [x] min restantes
37	État	Collecting Beads [x] of [x] min left	Prélèvement des billes [x] sur [x] min restantes
38	État	Resuspension of Beads [x] of [x] min left	Remise en suspension des billes [x] sur [x] min restantes
39	État	Collecting Lysis Buffer [x] of [x] min left	Prélèvement du tampon de lyse [x] sur [x] min restantes
40	État	Mixing Lysate [x] of [x] min left	Mélange du lysat [x] sur [x] min restantes

Suite du tableau page suivante.

Tableau 7. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V2.0)	Traduction
41	État	Collecting Beads [x] of [x] min left	Prélèvement des billes [x] sur [x] min restantes
42	État	DNA binding to Beads Magnetic separation [x] of [x] min left	Liaison de l'ADN aux billes Séparation magnétique [x] de [x] min restantes
43	État	Wash 1 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavage 1 Séparation magnétique [x] sur [x] min restantes
44	État	Wash 2 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavage 2 Séparation magnétique [x] sur [x] min restantes
45	État	Wash 3 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavage 3 Séparation magnétique [x] sur [x] min restantes
46	État	Wash 4 Magnetic separation [x] of [x] min left	Lavage 4 Séparation magnétique [x] sur [x] min restantes
47	État	Rinse [x] of [x] min left	Rinçage [x] sur [x] min restantes
48	État	Check Temp. Set: Cur: [x] of [x] min left	Contrôle de la température Fixée : Actuelle : [x] sur [x] min restantes
49	État	Elution [x] of [x] min left	Élution [x] sur [x] min restantes

Suite du tableau page suivante.

Tableau 7. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V2.0)	Traduction
50	Instruction	Protocol finished! ENT: Next	Protocol finished! Entrée : Suivant
51	État	Transferring report file Attempt no.	Transfert du fichier d'état Tentative n°
52	Aucun		
Aucun	Instruction	SEND REPORT Print out o.k? 1=o.k 2=not o.k Key: 1, 2, ESC	ENVOYER PROTOCOLE Impression o.k. ? 1 : o.k. 2=pas o.k Touche : 1, 2, Échap
53	État	Report file sent ENT: Next	Fichier d'état envoyé Entrée : Suivant
54	État	Report file could not be sent ENT: Resend	Échec de l'envoi du fichier d'état Entrée : Renvoyer
55	Instruction	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No	Exécuter un cycle UV ? Entrée : Oui Échap : Non
56	Instruction	Remove eluates and consumables from the worktable ENT: Next	Retirez les éluats et les consommables de la table de travail Entrée : Suivant
57	Instruction	UV lamps expire soon UV runs left: ENT: Next	Les lampes UV expirent bientôt Cycles UV restants : Entrée : Suivant

Suite du tableau page suivante.

Tableau 7. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V2.0)	Traduction
58	Instruction	UV lamps are expired ENT: Next ESC: Abort	Les lampes UV ont expiré Entrée : Suivant Échap : Abandonner
59	Instruction	UV decontamination. Enter 20 to 60 ENT: Next	Décontamination UV : Entrez 20 à 60 Entrée : Suivant
60	Instruction	UV decontamination time must be between 20-60 min ESC: Back	Le temps de décontamination UV doit être compris entre 20 et 60 min Échap : Retour
61	Instruction	UV lamp did not ignite! ESC: Back	La lampe UV ne s'est pas allumée ! Échap : Retour
62	Instruction	UV decontamination Total time: min Time left: min	Décontamination UV Temps total : min Temps restant : min
63	État	Decontamination UV lamps cooling Please stand by	Refroidissement des lampes de décontamination UV Veuillez patienter
64	Instruction	Perform regular maintenance after each run ESC: Main menu	Effectuez la maintenance régulière après chaque cycle Échap : Menu principal

Tableau 8. Messages affichés pour le protocole EZ1 Advanced DSP DNA Blood (V1.0)

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V1.0)	Traduction
Aucun	Instruction	Date/Time START: Run 1: UV 2: Man 3: Test 4: Setup Key: START, 1, 2, 3, 4	Date/Heure LANCEMENT : Cycle 1 : UV 2 : Man 3 : Test 4 : Configuration Touche : LANCEMENT, 1, 2, 3, 4
1	Instruction	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 1.0	EZ1 Advanced DSP DNA Blood Version 1.0
2	Suivi des données	Scan/enter user ID	Lisez/entrez l'ID de l'utilisateur
3	Suivi des données	Scan/enter Q-Card bar code	Lisez/entrez le code-barres de la Q-Card
4	Instruction	Wrong kit! Please load EZ1 DSP DNA Blood ENT: back	Mauvais kit ! Veuillez charger l'EZ1 DSP DNA Blood Entrée : Retour
5	Instruction	Kit expired ENT: Use new kit ESC: Stop protocol	Kit expiré Entrée : Utilisez un nouveau kit Échappement : Arrêtez le protocole
6	Suivi des données	Use Q-Card data with sample no. 1 to Enter 1 to 6	Utilisez les données Q-Card avec L'échantillon n° 1 à Entrez 1 à 6
7	Instruction	Do you want to process more samples with another kit lot ENT: Yes, ESC: No	Voulez-vous traiter des échantillons supplémentaires avec un autre lot du kit ? Entrée : Oui, Échappement : Non

Suite du tableau page suivante.

Tableau 8. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V1.0)	Traduction
8	Suivi des données	Do you want to add sample ID? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous ajouter l'ID de l'échantillon ? Entrée : Oui Échap : Non
9	Suivi des données	Scan/enter sample ID sample no. [x]	Lisez/entrez l'ID de l'échantillon n° [x]
10	Suivi des données	ID1: ID2: ID3: Next=ENT	ID1 : ID2 : ID3 : Suivant=Entrée
11	Suivi des données	ID1: ID2: ID3: Next=ENT, ID1-3=Up	ID1 : ID2 : ID3 : Suivant=Entrée, ID-3=Haut
12	Suivi des données	Do you want to add assay information? ENT: Yes, ESC: No	Voulez-vous ajouter des informations d'analyse ? Entrée : Oui, Échap : Non
13	Suivi des données	Scan/enter assay ID sample no. [x]	Lisez/entrez l'ID de l'analyse de l'échantillon n° [x]
14	Suivi des données	Do you want to add notes? ENT: Yes ESC: No	Voulez-vous ajouter des notes ? Entrée : Oui Échap : Non
15	Suivi des données	Scan/enter notes sample no. [x]	Lisez/entrez les notes de l'échantillon n° [x]
16	Instruction	The protocol use Sample Volume: 350ul Elution Volume: 200ul Next=Any	Le protocole utilise Volume d'échantillon : 350 µl Volume d'éluion : 200 µl Suivant=N'importe lequel

Suite du tableau page suivante.

Tableau 8. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V1.0)	Traduction
17	Instruction	Load cartridges at same positions as samples Next=Any, Prev=Esc	Chargez les cartouches dans la même position que les échantillons Suivant=N'importe lequel, Précédent=Échap
18	Instruction	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=Esc	Chargez les tubes d'élu­tion (ET) (1,5 ml) dans la première rangée Suivant=N'importe lequel, Précédent=Échap
19	Instruction	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=Esc	Chargez les porte-pointes (DTH) et les pointes (DFT) dans la deuxième rangée Suivant=N'importe lequel, Précédent=Échap
20	Instruction	Leave third row empty Next=Any, Prev=Esc	Laissez la troisième rangée vide Suivant=N'importe lequel, Précédent=Échap
21	Instruction	Load 2.0 ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=Esc	Chargez les tubes (ST) de 2,0 ml avec les échantillons dans la quatrième rangée Suivant=N'importe lequel, Précédent=Échap
22	Instruction	Loading finished. Close door and press START Prev=Esc	Chargement terminé. Fermez la porte et appuyez sur LANCEMENT Précédent=Échap
23	Instruction	Please close door!	Veuillez fermer la porte !
24	État	Protocol started	Protocole lancé
25	État	Piercing Foil [x] of 23 min left	Feuille de perforation [x] sur 23 min restantes

Suite du tableau page suivante.

Tableau 8. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V1.0)	Traduction
26	État	Collecting Elution Buffer [x] of 23 min left	Prélèvement du tampon d'élu­tion [x] sur 23 min restantes
27	État	Deliver at Heat Block [x] of 23 min left	Livraison au tampon isolant [x] sur 23 min restantes
28	État	Collecting Magnetic Beads [x] of 23 min left	Prélèvement des billes magnétiques [x] sur 23 min restantes
29	État	Resuspension of Magnetic Beads [x] of 23 min left	Remise en suspension des billes magnétiques [x] sur 23 min restantes
30	État	Adding Lysis Buffer [x] of 23 min left	Ajout du tampon de lyse [x] sur 23 min restantes
31	État	Mixing Lysate [x] of 23 min left	Mélange du lysat [x] sur 23 min restantes
32	État	Adding Magnetic Beads [x] of 23 min left	Ajout des billes magnétiques [x] sur 23 min restantes
33	État	DNA binding to Magnetic Beads Magnetic separation [x] of 23 min left	Liaison de l'ADN aux billes magnétiques Séparation magnétique [x] sur 23 min restantes
34	État	Wash 1 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavage 1 Séparation magnétique [x] sur 23 min restantes
35	État	Wash 2 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavage 2 Séparation magnétique [x] sur 23 min restantes

Suite du tableau page suivante.

Tableau 8. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V1.0)	Traduction
36	État	Wash 3 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavage 3 Séparation magnétique [x] sur 23 min restantes
37	État	Wash 4 Magnetic separation [x] of 23 min left	Lavage 4 Séparation magnétique [x] sur 23 min restantes
38	État	Rinse [x] of 23 min left	Rinçage [x] sur 23 min restantes
39	État	Checking Temperature Set: Cur:	Vérification de la température Réglé : Actuelle :
40	État	Elution [x] of 23 min left	Élution [x] sur 23 min restantes
41	Instruction	Protocol finished	Protocole terminé
42	Suivi des données	Transfer Report file, attempt no.	Transfert du fichier d'état, tentative n°
43	Instruction	Report file sent Next=ENT	Fichier d'état envoyé Suivant=Entrée
44	Instruction	Report file could not be sent Resend=ENT	Échec de l'envoi du fichier d'état Renvoyer=Entrée
45	Instruction	Perform UV run? ENT: Yes ESC: No	Exécuter un cycle UV ? Entrée : Oui Échap : Non

Suite du tableau page suivante.

Tableau 8. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message EZ1 Advanced (protocole V1.0)	Traduction
46	Instruction	UV DECONTAMINATION Set time min Key:0-9, ENT	DÉCONTAMINATION PAR UV Fixez la durée min Touche : 0–9, Entrée
47	Instruction	UV lamp expires soon UV runs left ENT= continue	La lampe UV expire bientôt Cycles UV restants Entrée= continuer
48	Instruction	UV lamp is expired ENT=continue ESC=abort	La lampe UV a expiré Entrée=continuer Échap=abandonner
49	Instruction	UV DECONTAMINATION Time must be between 20-60 min Key:ESC	DÉCONTAMINATION PAR UV La durée doit être comprise entre 20 et 60 min Touche : Échap
50	Instruction	UV DECONTAMINATION Total Time: min Time left: min	DÉCONTAMINATION PAR UV Temps total : min Temps restant : min
51	Instruction	Decontamination UV lamp cooling Please stand by	Refroidissement de la lampe UV de décontamination Veuillez patienter
52	Instruction	Perform regular maintenance before next run! ESC=Main menu	Effectuez la maintenance régulière avant le cycle suivant ! Échap=Menu principal

Tableau 9. Messages affichés pour le protocole BioRobot EZ1 DSP DNA Blood

Numéro du message	Type de message	Texte du message du BioRobot EZ1 DSP	Traduction
Aucun	Instruction	Choose button: START: Protocols 1 : Tools 2 : Tests	Choisir un bouton : LANCEMENT : Protocoles 1 : Outils 2 : Tests
1	Instruction	EZ1 DSP DNA Blood Version 1.0.0	EZ1 DSP DNA Blood Version 1.0.0
2	Instruction	The protocol uses Sample Volume: [SampleVolume]ul Elution Volume: [ElutionVolume]ul Next=Any	Le protocole utilise Volume d'échantillon : [Volume d'échantillon] µl Volume d'éluion : [Volume d'éluion] µl Suivant=N'importe lequel
3	Instruction	Load sufficient cartridges (RCB) for samples Next=Any, Prev=ESC	Chargez suffisamment de cartouches (RCB) pour les échantillons Suivant=N'importe lequel, Précédent=Échap
4	Instruction	Load elution tubes (ET) (1.5ml) into first row Next=Any, Prev=ESC	Chargez les tubes d'éluion (ET) (1,5 ml) dans la première rangée Suivant=N'importe lequel, Précédent=Échap
5	Instruction	Load tip holders (DTH) and tips (DFT) into second row Next=Any, Prev=ESC	Chargez les porte-pointes (DTH) et les pointes (DFT) dans la deuxième rangée Suivant=N'importe lequel, Précédent=Échap
6	Instruction	Leave third row Empty Next=Any, Prev=ESC	Laisser la troisième rangée vide Suivant=N'importe lequel, Précédent=Échap

Suite du tableau page suivante.

Tableau 9. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message du BioRobot EZ1 DSP	Traduction
7	Instruction	Load 2.0ml tubes (ST) with sample in fourth row Next=Any, Prev=ESC	Chargez les tubes (ST) de 2,0 ml avec les échantillons dans la quatrième rangée Suivant=N'importe lequel, Précédent=Échap
8	Instruction	Start protocol Press START Prev=ESC	Lancez le protocole Appuyez sur LANCEMENT Précédent=Échap
9	État	Protocol started	Protocole lancé
10	État	Piercing Foil	Feuille de perforation
11	État	Collecting Elution Buffer	Prélèvement du tampon d'éluion
12	État	Deliver at Heat Block	Livraison au tampon isolant
13	État	Collecting Magnetic Beads	Prélèvement des billes magnétiques
14	État	Resuspension of Magnetic Beads	Remise en suspension des billes magnétiques
15	État	Adding Lysis Buffer	Ajout du tampon de lyse
16	État	Mixing Lysate	Mélange du lysat
17	État	Adding Magnetic Beads	Ajout des billes magnétiques
18	État	DNA binding to Magnetic Beads Magnetic Separation	Liaison de l'ADN aux billes magnétiques Séparation magnétique
19	État	Wash 1 Magnetic Separation	Lavage 1 Séparation magnétique
20	État	Wash 2 Magnetic Separation	Lavage 2 Séparation magnétique
21	État	Wash 3 Magnetic Separation	Lavage 3 Séparation magnétique

Suite du tableau page suivante.

Tableau 9. Suite

Numéro du message	Type de message	Texte du message du BioRobot EZ1 DSP	Traduction
22	État	Wash 4 Magnetic Separation	Lavage 4 Séparation magnétique
23	État	Rinse	Rinçage
24	État	Checking Temperature Set: 65 [deg] Cur: [deg]	Contrôle de la température Fixée : 65 [deg] Actuelle : [deg]
25	État	Elution	Élution
26	Instruction	Protocol finished! Press ESC to return to menu	Protocole terminé ! Appuyez sur Échap pour revenir au menu

Annexe B : Stockage, quantification et détermination de la pureté de l'ADN

Stockage de l'ADN

L'ADN purifié peut être stocké à 2–8°C ou à –20°C jusqu'à 24 mois. Pour un stockage plus long, les éluats doivent être stockés à –70°C.

Quantification de l'ADN

La concentration d'ADN doit être déterminée en mesurant l'absorbance à 260 nm (A_{260}) dans un spectrophotomètre. Les lectures d'absorbance à 260 nm doivent être comprises entre 0,1 et 1,0 pour être précises. Une absorbance de 1 unité à 260 nm correspond à 50 μg d'ADN par millilitre ($A_{260}=1 \rightarrow 50 \mu\text{g/ml}$). Utilisez un tampon de pH neutre (par ex., 10 mM Tris·Cl, * pH 7,0) pour diluer les échantillons et étalonner le spectrophotomètre.† Les résidus de particules magnétiques dans l'éluat peuvent affecter la lecture A_{260} , mais ne devraient pas affecter la performance de l'ADN dans les applications en aval. Si l'ADN purifié doit être analysé par séquençage capillaire fluorescent, le tube contenant l'éluat doit d'abord être appliqué à un séparateur magnétique approprié et l'éluat doit être transféré vers un tube propre (voir ci-dessous).

Pour quantifier l'ADN isolé à l'aide du système EZ1 :

- Appliquez le tube contenant l'ADN à un séparateur magnétique approprié (par exemple, l'aimant de tube de calibre 12 de QIAGEN, référence 36912) pendant une minute. Si vous ne disposez pas d'un séparateur magnétique approprié, centrifugez le tube contenant l'ADN pendant une minute à vitesse maximum dans une microcentrifugeuse afin de culoter toute particule magnétique restante.
- Une fois la séparation terminée, retirez avec soin de 10 à 50 μl d'ADN isolé et diluez un volume final de 100 μl dans le tampon de pH neutre.
- Mesurez l'absorbance à 320 nm et 260 nm. Soustrayez la lecture d'absorbance obtenue à 320 nm de la lecture obtenue à 260 nm afin de corriger la présence de particules magnétiques.

* Lorsque vous manipulez des produits chimiques, portez toujours une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats

† Si les échantillons ne sont pas dilués, utilisez de l'eau pour calibrer le spectrophotomètre. Pour plus d'informations, veuillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées.

Concentration de l'échantillon d'ADN = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{facteur de dilution}$

Quantité totale d'ADN isolé = concentration x volume d'échantillon en millilitres

Pureté de l'ADN

La pureté est déterminée en calculant le rapport entre l'absorbance corrigée à 260 nm et l'absorbance corrigée à 280 nm, c'est-à-dire

$(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. L'ADN pur a un rapport $A_{260} - A_{280}$ de 1,7 à 1,9.

Utilisez un tampon de pH légèrement alcalin (par ex., 10 mM Tris·Cl, pH 7,5) pour diluer les échantillons et étalonner le spectrophotomètre.* Si les échantillons ne sont pas dilués, utilisez de l'eau pour calibrer le spectrophotomètre.

* Si les échantillons ne sont pas dilués, utilisez de l'eau pour calibrer le spectrophotomètre. Pour plus d'informations, veuillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées.

Annexe C : Fiche d'échantillon à utiliser avec le système EZ1 DSP DNA Blood

Ce modèle de fiche d'échantillon peut servir de registre lorsque l'on utilise la procédure de l' EZ1 DSP DNA Blood. Cette fiche peut être photocopiée et comporter des descriptions des échantillons et des détails du cycle.

Système EZ1 DSP DNA Blood

Date/heure : _____ N° de lot du kit : _____

Opérateur : _____ ID du cycle : _____

N° de série de l'appareil : _____

Position sur la table de travail	ID de l'échantillon	Support de l'échantillon	Cartouches de réactif (RCB) disponibles ?	Tubes ST disponibles ?	Tubes ET disponibles ?	Porte-pointe (DTH) avec pointes (DFT) disponibles ?
1 (à gauche)						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14 (à droite)						

Annexe D : Exemple d'un fichier d'état de l'EZ1 Advanced

Cette annexe montre un fichier d'état type généré sur l'EZ1 Advanced. Les valeurs de chaque paramètre différeront de celles du fichier d'état généré sur votre EZ1 Advanced. Les fichiers d'état générés sur l'EZ1 Advanced XL montrent des informations équivalentes. Seul le nombre de canaux diffère.

Report File EZ1 Advanced:

Serial No. EZ1 Advanced:,"6987"

User ID:,"555"

Firmware version:,"V 1.0.0"

Installation date of instrument:,"Oct 05, 2007"

Weekly maintenance done on:,"Jly 29, 2009"

Yearly maintenance done on:,"Mar 24, 2009"

Date of last UV-run:,"Mar 31, 2009"

Start of last UV-run:,"10:59"

End of last UV-run:,"10:59"

Status of last UV-run:,"o.k."

Protocol name:,"DSP DNA Blood Version 2.0"
,"DSP DNA Blood 350"

Date of run:,"Aug 05, 2009"

Start of run:,"07:58"

End of run:,"08:28"

Status run:,"o.k"

Error Code:,"---"

Sample input Volume [ul]:," 350"

Elution volume [ul]:," 200"

Channel A:

Sample ID:,"1"

Reagent Kit number:,"9900801"

Reagent Lot number:,"0133203571"

Reagent Expiry date:,"1209"

Assay Kit ID:,"1"

Note:,"1"

Channel B:

Sample ID:,"2"

Reagent Kit number:,"9900801"

Reagent Lot number:,"0133203571"

Reagent Expiry date:,"1209"

Assay Kit ID:,"2"

Note:,"2"

Channel C:

Sample ID:,"3"

Reagent Kit number:,"9900801"

Reagent Lot number:,"0133203571"

Reagent Expiry date:,"1209"

Assay Kit ID:,"3"

Note:,"3"

Channel D:
Sample ID:,"4"
Reagent Kit number:,"9900801"
Reagent Lot number:,"0133203571"
Reagent Expiry date:,"1209"
Assay Kit ID:,"4"
Note:,"4"

Channel E:
Sample ID:,"5"
Reagent Kit number:,"9900801"
Reagent Lot number:,"0133203571"
Reagent Expiry date:,"1209"
Assay Kit ID:,"5"
Note:,"5"

Channel F:
Sample ID:,"6"
Reagent Kit number:,"9900801"
Reagent Lot number:,"0133203571"
Reagent Expiry date:,"1209"
Assay Kit ID:,"6"
Note:,"6"

[Checksum A0C47444]

Pour commander

Produit	Table des matières	Référence
EZ1 DSP DNA Blood Kit (48)	Pour 48 préparations d'ADN : Cartouches de réactif préremplies, porte-pointes jetables, pointes de filtres jetables, tubes d'échantillon, tubes d'élution	62124
EZ1 Advanced XL DSP DNA Blood Card	Carte préprogrammée pour le protocole EZ1 DSP DNA Blood ; à utiliser avec l'appareil EZ1 Advanced XL	9018702
EZ1 Advanced DSP DNA Blood Card	Carte préprogrammée pour le protocole EZ1 DSP DNA Blood ; à utiliser avec l'appareil EZ1 Advanced	9018305
EZ1 DSP DNA Blood Card	Carte préprogrammée pour le protocole EZ1 DSP DNA Blood ; à utiliser avec l'appareil BioRobot EZ1 DSP	9017713
EZ1 Advanced XL	Appareil robotisé pour la purification automatisée des acides nucléiques de un à 14 échantillons à l'aide des kits EZ1, garantie 1 an pièces et main d'œuvre*	9001492

Visitez www.qiagen.com/products/assays pour en savoir plus sur les technologies d'analyses QIAGEN !

Pour obtenir des informations à jour et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN respectifs. 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 de votre distributeur local.

Page laissée volontairement vierge

Page laissée volontairement vierge

Marques déposées : QIAGEN®, artus®, BioRobot®, EZ1®, QuantiTect® (QIAGEN Group); BD Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); LightCycler® (Roche Group); Monovette® (Sarstedt AG & Co.); Vacuette® (C.A. Greiner & Söhne GmbH).

Accord de licence limitée

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur du kit EZ1 DSP DNA Blood accepte les conditions suivantes :

1. Le kit EZ1 DSP DNA Blood ne doit être utilisé que conformément au *Manuel du kit EZ1 DSP DNA Blood* 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 le *Manuel du kit EZ1 DSP DNA Blood* et autres protocoles disponibles sur le site www.qiagen.com.
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.

Kit QuantiTect Probe PCR : AVIS À L'ACHETEUR : LICENCE LIMITÉE

Une licence permettant d'exécuter le processus 5' Nucléase pour la recherche nécessite l'utilisation d'un kit Licensed 5' Nuclease (contenant une sonde sous licence) ou la combinaison d'un kit Authorized 5' Nuclease Core avec sonde sous licence, ou des droits de licence qu'il est possible d'acquérir auprès d'Applied Biosystems. Ce produit est un kit Authorized 5' Nuclease Core sans sonde sous licence. Son prix d'achat inclut une immunité limitée et non transmissible contre les poursuites en vertu des brevets américains n° 5,210,015, 5,487,972, 5,476,774, et 5,219,727, et les demandes de brevets correspondants en-dehors des États-Unis, dont le propriétaire est Roche Molecular Systems, Inc. ou F. Hoffmann-La Roche Ltd (Roche), pour une utilisation de cette quantité de produit seulement dans la pratique du processus 5' Nuclease, uniquement destiné à la propre recherche interne de l'acheteur lorsqu'utilisé en conjonction avec la sonde sous licence. Ce produit est également un kit Authorized 5' Nuclease Core pour une utilisation avec les sous-licences de service disponibles auprès d'Applied Biosystems. Ce produit ne transmet aucun droit en vertu des brevets américains n° 5,804,375, 6,214,979, 5,538,848, 5,723,591, 5,876,930, 6,030,787, ou 6,258,569, ou des brevets correspondants en-dehors des États-Unis, expressément, par implication ou par effet d'estoppel. Aucun droit sous aucune autre revendication de brevet (tels que réclamations d'appareil ou de système dans le brevet américain n° 6,814,934) et aucun droit d'exécuter des services commerciaux d'aucune sorte, y compris et sans limitation le droit à rapporter les résultats des activités de l'acheteur gratuitement ou pour d'autres considérations commerciales, n'est accordé par la présente expressément, par implication ou par effet d'estoppel. Ce produit est uniquement destiné à la recherche. Les usages diagnostiques nécessitent une licence distincte de la part de Roche. D'autres informations sur les licences d'achat peuvent être obtenues en contactant le Directeur des octrois de licences, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, Californie 94404, États-Unis.

HB-0252-003 © 2009-2015 QIAGEN, tous droits réservés.

www.qiagen.com

Australia ■ Orders 03-9840-9800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technical 1-800-243-066

Austria ■ Orders 0800/28-10-10 ■ Fax 0800/28-10-19 ■ Technical 0800/28-10-11

Belgium ■ Orders 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technical 0800-79556

Brazil ■ Orders 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

Canada ■ Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

China ■ Orders 021-3865-3865 ■ Fax 021-3865-3965 ■ Technical 800-988-0325

Denmark ■ Orders 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technical 80-885942

Finland ■ Orders 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technical 0800-914413

France ■ Orders 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930 ■ Offers 01-60-920-928

Germany ■ Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

Hong Kong ■ Orders 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technical 800 930 425

Ireland ■ Orders 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technical 1800 555 061

Italy ■ Orders 02-33430-420 ■ Fax 02-33430-426 ■ Technical 800-787980

Japan ■ Telephone 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

Korea (South) ■ Orders 1544 7145 ■ Fax 1544 7146 ■ Technical 1544 7145

Luxembourg ■ Orders 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technical 8002-2067

Mexico ■ Orders 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technical 01-800-7742-639

The Netherlands ■ Orders 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technical 0800-0229602

Norway ■ Orders 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technical 800-18712

Singapore ■ Orders 65-67775366 ■ Fax 65-67785177 ■ Technical 65-67775366

Spain ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

Sweden ■ Orders 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technical 020-798328

Switzerland ■ Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

UK ■ Orders 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technical 01293-422-999

USA ■ Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

1054989FR 151016863

