

Janvier 2021

# Mode d'emploi (manuel) du QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA Blood Mini Kit



Version 2



Pour utilisation diagnostique in vitro



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden  
Tél. : +49-2103-29-0



1122788FR



# Sommaire

Utilisation prévue .....	5
Description et principe .....	6
Lyse des cellules sanguines .....	6
Fixation de l'ADN génomique sur la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini .....	6
Purification automatisée sur le QIAcube/QIAcube Connect MDx .....	7
Résumé et explications .....	10
Matériel fourni.....	11
Contenu du kit .....	11
Matériel nécessaire, mais non fourni.....	12
Avertissements et précautions .....	14
Informations de sécurité.....	14
Stockage et manipulation des réactifs.....	16
Stockage et manipulation des échantillons .....	16
Élimination des contaminants résiduels.....	18
Élution de l'ADN génomique purifié .....	18
Remarques importantes .....	18
Points importants avant de démarrer un protocole .....	18
Préparation des réactifs et tampons .....	19
Manipulation des colonnes de centrifugation QIAamp Mini.....	20
Élution de l'ADN génomique .....	21
Rendement et qualité de l'ADN génomique .....	21

---

Configuration du système de vide QIAvac 24 Plus .....	22
Procédure .....	24
Protocole : Extraction et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang à l'aide d'un système de vide .....	24
Protocole : Extraction et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang à l'aide d'une microcentrifugeuse ou du QIAcube/QIAcube Connect MDx. ....	29
Contrôle qualité.....	33
Limitations.....	33
Caractéristiques de performances.....	34
Symboles.....	39
Informations pour commander .....	41
Historique des révisions du document.....	43

---

# Utilisation prévue

Le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit est un système utilisant une technologie à base de membranes de silice (la technologie QIAamp) pour extraire et purifier l'ADN génomique à partir d'échantillons biologiques.

Ce produit est destiné à l'usage des professionnels, tels que les techniciens et les médecins formés aux techniques de la biologie moléculaire.

Le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit est conçu pour une utilisation diagnostique in vitro.

# Description et principe

Chaque procédure QIAamp DSP DNA Blood Mini comprend 4 étapes :

- Lyse des cellules dans l'échantillon de sang
- Fixation de l'ADN génomique du lysat cellulaire sur la membrane d'une colonne de centrifugation QIAamp Mini
- Lavage de la membrane
- Éluion de l'ADN génomique fixé sur la membrane

Ce manuel présente les protocoles pour 2 procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini différentes : une procédure avec centrifugation, qui nécessite une centrifugeuse, et une procédure avec aspiration sous vide, qui nécessite une centrifugeuse et un système de vide (voir schéma page 9). La procédure avec centrifugation peut être automatisée sur le QIAcube et le QIAcube Connect MDx.

## Lyse des cellules sanguines

Les échantillons sont lysés dans des conditions dénaturantes à température élevée. La lyse est réalisée en présence de QIAGEN Protease (QP) et de tampon de lyse (AL).

## Fixation de l'ADN génomique sur la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini

Afin d'optimiser la fixation de l'ADN génomique sur la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, de l'éthanol est d'abord ajouté aux lysats. Chaque lysat est ensuite transféré dans une colonne de centrifugation QIAamp Mini. L'ADN génomique est adsorbé sur la membrane de silice alors que le lysat passe à travers la membrane sous l'effet de la pression du vide ou de la force centrifuge.

## Purification automatisée sur le QIAcube/QIAcube Connect MDx

Le QIAcube et le QIAcube Connect MDx effectuent de façon automatisée l'extraction et la purification des acides nucléiques. Ils peuvent traiter jusqu'à 12 échantillons par cycle.

La préparation d'échantillons avec le QIAcube et le QIAcube Connect MDx s'effectue avec les mêmes étapes que la procédure manuelle (à savoir lyse, fixation, lavage et élution), vous permettant de continuer d'utiliser le QIAamp DSP DNA Mini Kit pour la purification d'ADN de haute qualité.

En cas d'automatisation du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sur un instrument QIAcube ou QIAcube Connect MDx, il est possible que l'instrument traite moins de 50 échantillons à cause des volumes morts, de l'évaporation et de la consommation supplémentaire de réactifs par pipetage automatisé. QIAGEN ne garantit 50 préparations d'échantillons qu'en cas d'utilisation manuelle du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



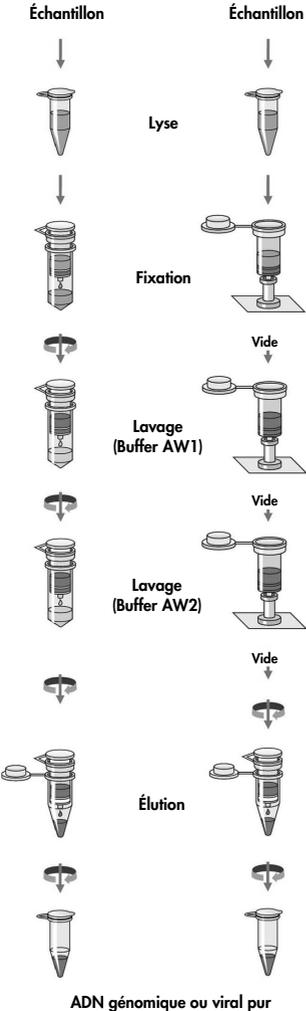
Figure 1. Le QIAcube



**Figure 2. Le QIAcube Connect MDx.**

## Procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini avec centrifugation et aspiration sous vide

### Procédure QIAamp avec centrifugation



### Procédure QIAamp avec aspiration sous vide

Lire attentivement les protocoles (pages 24 et 29) avant de commencer.

Dans un tube LT, ajouter 20 µl de QP, 200 µl d'échantillon et 200 µl d'AL.  
Vortexer pendant 15 s.  
Incuber pendant 10 min ( $\pm 1$  min) à 56 °C ( $\pm 1$  °C).  
Ajouter 200 µl d'éthanol.  
Vortexer pendant 15 s.

Transférer le lysat dans une colonne de centrifugation QIAamp Mini.

Procédure avec centrifugation : Centrifuger pendant 1 min à 6 000  $\times g$ .

Procédure avec aspiration sous vide : Appliquer le vide.

Procédure avec centrifugation : Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube WT, ajouter 500 µl d'AW1 et centrifuger pendant 1 min à 6 000  $\times g$ .

Procédure avec aspiration sous vide : Ajouter 750 µl d'AW1 et appliquer le vide.

Procédure avec centrifugation : Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube WT, ajouter 500 µl d'AW2 et centrifuger pendant 1 min à vitesse maximale (environ 20 000  $\times g$ , ou 14 000 tr/min).

Procédure avec aspiration sous vide : Ajouter 750 µl d'AW2 et appliquer le vide.

Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube WT.

Centrifuger pendant 3 min à vitesse maximale (environ 20 000  $\times g$ , ou 14 000 tr/min).

Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube ET.

Ajouter 50 à 200 µl d'AE et incuber pendant 1 min.

Centrifuger pendant 1 min à 6 000  $\times g$ .

---

## Résumé et explications

Le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit exploite une technologie éprouvée qui permet d'extraire et de purifier rapidement et facilement l'ADN génomique à partir de 200 µl de sang total.

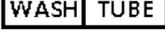
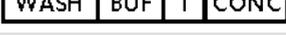
Les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini, qui ont été développées pour le traitement simultané de plusieurs échantillons de sang, permettent d'obtenir de l'ADN purifié prêt à l'emploi. Ces procédures peuvent être utilisées avec des échantillons de sang total, frais ou congelé, et de sang traité à l'EDTA ou au citrate.

Faciles à mettre en œuvre, les procédures QIAamp DSP avec centrifugation et aspiration sous vide permettent le traitement simultané de plusieurs échantillons. Certaines procédures de centrifugation QIAamp peuvent être entièrement automatisées sur le QIAcube ou le QIAcube Connect MDx pour favoriser la normalisation et simplifier l'utilisation (page 7).

Il n'est pas nécessaire de séparer les leucocytes au préalable. Ces procédures ne nécessitent ni extraction au phénol/chloroforme ni précipitation à l'alcool, et elles ne demandent qu'un nombre restreint d'interventions de l'utilisateur, permettant la manipulation en toute sécurité des échantillons potentiellement infectieux. Ces procédures sont conçues pour limiter la contamination croisée entre les échantillons. L'ADN purifié est prêt à l'emploi en PCR ou dans d'autres applications, ou il peut être conservé entre -25 °C et -15 °C pour une utilisation ultérieure.

# Matériel fourni

## Contenu du kit

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
N° de référence			61104
Nombre de préparations			50*
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (QIAamp Mini Spin Columns avec tubes de lavage) (WT) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (tubes d'éluion) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysis Tubes (tubes de lyse) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (tubes de lavage) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer† (tampon de lyse)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1† (tampon de lavage 1) (concentré)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2† (tampon de lavage 2) (concentré)		13 ml
AE	Elution Buffer† (tampon d'éluion)		25 ml
PS	Protease Solvent† (solvant pour protéase)		2 ml
QP	QIAGEN Protease§		1 flacon
-	Mode d'emploi (manuel)		1

\* En cas d'automatisation du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sur un instrument QIAcube ou QIAcube Connect MDx, il est possible que l'instrument traite moins de 50 échantillons à cause des volumes morts, de l'évaporation et de la consommation supplémentaire de réactifs par pipetage automatisé. QIAGEN ne garantit 50 préparations d'échantillons qu'en cas d'utilisation manuelle du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

† Contient du chlorhydrate de guanidine. Non compatible avec les désinfectants contenant de l'eau de Javel. Pour plus d'informations, consulter la section Informations de sécurité page 14.

‡ Contient de l'azote de sodium comme conservateur.

§ Le volume de resuspension est de 1,2 ml. Consulter la section « Préparation des réactifs et tampons » page 19.

## Matériel nécessaire, mais non fourni

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

### Pour les procédures avec centrifugation et aspiration sous vide

- Éthanol (96–100 %)
- Pipettes\* et pointes de pipette (pour éviter toute contamination croisée, il est fortement recommandé d'utiliser des pointes de pipette avec dispositif anti-aérosols)
- Gants jetables
- Bloc chauffant\* pour la lyse des échantillons à 56 °C (il est recommandé d'utiliser le Thermomixer® comfort Eppendorf® avec bloc chauffant pour les microtubes de 1,5 ml<sup>†</sup>)
- Microcentrifugeuse\*
- Éprouvette graduée (50 ml)
- Vortex

### Pour la procédure avec aspiration sous vide uniquement

- Système de vide QIAvac 24 Plus (n° de réf. 19413) ou équivalent
- VacConnectors (n° de réf. 19407)
- VacValves (n° de réf. 19408)
- QIAvac Connecting System (n° de réf. 19419)
- Vacuum Pump (n° de réf. 84020)
- Vacuum Regulator (n° de réf. 19530)

\* Afin de s'assurer du bon traitement des échantillons lors des procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini, il est fortement recommandé que tous les instruments (p. ex. pipettes et blocs chauffants) soient étalonnés conformément aux consignes des fabricants.

<sup>†</sup> Cette liste de fournisseurs n'est pas exhaustive et il manque plusieurs fournisseurs importants de matériel d'analyse biologique.

---

Pour la procédure automatisée uniquement

- Rotor Adapters, n° de réf. 990394
- Rotor Adapter Holder, n° de réf. 990392
- Sample Tubes CB, n° de réf. 990382 (tubes d'introduction d'échantillons)
- Shaker Rack Plugs, n° de réf. 9017854
- Reagent Bottles, 30 ml, n° de réf. 990393
- Filter Tips, 1000  $\mu$ l, n° de réf. 990352
- Filter Tips, 200  $\mu$ l, n° de réf. 990332
- SafeSeal Tube, 1.5 mL, Sarstedt® (n° de réf. 72.706)

# Avertissements et précautions

Noter qu'il peut être nécessaire de rapporter tout incident grave survenant en lien avec le produit au fabricant et à l'autorité réglementaire du pays de l'utilisateur et/ou du patient.

## Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, porter systématiquement une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Elles sont disponibles en ligne au format PDF à l'adresse [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), où il est possible de trouver, de consulter et d'imprimer les FDS de chaque kit et composant de kit QIAGEN.



**ATTENTION** : NE PAS ajouter d'eau de Javel ou de solutions acides directement aux déchets de préparation des échantillons.

Le tampon de lyse (AL) et le tampon de lavage 1 (AW1) contiennent du chlorhydrate de guanidine, qui peut former des composés hautement réactifs au contact de l'eau de Javel. En cas de déversement de liquide contenant ces tampons, nettoyer avec un détergent de laboratoire adapté et de l'eau. Si le liquide renversé contient des agents potentiellement infectieux, nettoyer l'endroit contaminé d'abord avec un détergent de laboratoire et de l'eau, puis avec de l'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v). Si les flacons de tampons fuient ou sont abîmés, porter des gants et des lunettes de protection au moment de les jeter afin d'éviter tout risque de blessure.

QIAGEN n'a réalisé aucun test sur les déchets liquides générés par les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini pour évaluer la présence de matières infectieuses résiduelles. La contamination des déchets liquides par des matières infectieuses résiduelles est très improbable, mais ne peut être complètement exclue. Par conséquent, les déchets liquides doivent être considérés comme infectieux et seront manipulés et éliminés conformément aux réglementations de sécurité locales.

Les mentions de risque et de sécurité suivantes s'appliquent aux composants du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

### Tampon de lyse (AL) et tampon de lavage 1 (AW1)



Contient : chlorhydrate de guanidine. Avertissement ! Nocif par ingestion ou par inhalation. Provoque une irritation cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

### QIAGEN Protease (QP)



Contient de la subtilisine. Danger ! Nocif en cas d'ingestion. Provoque une irritation cutanée. Provoque des lésions oculaires graves. Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. Peut irriter les voies respiratoires. Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Porter un équipement de protection respiratoire. EN CAS 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 d'exposition prouvée ou suspectée : Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer.



---

## Stockage et manipulation des réactifs

Les colonnes de centrifugation QIAamp Mini doivent être conservées entre 2 et 8 °C dès réception et peuvent être utilisées jusqu'à la date de péremption indiquée sur la boîte du kit.

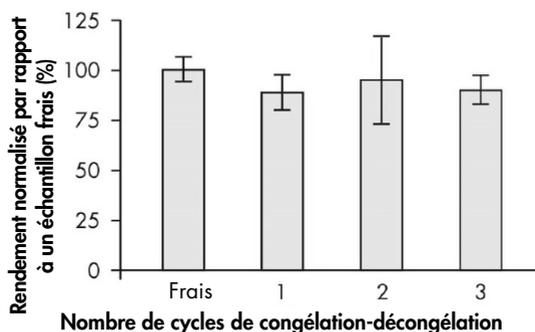
Tous les tampons peuvent être conservés à température ambiante (15–25 °C) jusqu'à la date de péremption indiquée sur la boîte du kit.

QIAGEN Protease (QP) lyophilisé peut être conservé à température ambiante (15–25 °C) jusqu'à la date de péremption du kit sans altération des performances. QIAGEN Protease reconstitué est stable pendant une durée maximale de 1 an lorsqu'il est conservé entre 2 et 8 °C, mais uniquement jusqu'à la date de péremption du kit.

Le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué et le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué sont stables pendant une durée maximale de 1 an s'ils sont conservés à température ambiante (15–25 °C), mais uniquement jusqu'à la date de péremption du kit.

## Stockage et manipulation des échantillons

Les cryoprécipités formés au cours de la décongélation des échantillons congelés risquent d'obstruer la membrane des colonnes de centrifugation QIAamp Mini. Si des cryoprécipités sont visibles, éviter de les aspirer au cours de l'aspiration de l'échantillon. Les effets des cycles de congélation-décongélation des échantillons de sang sur la purification de l'ADN à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ont été établis (voir figure 3).



**Figure 3. Effets des cycles de congélation-décongélation des échantillons de sang.** Du sang traité à l'EDTA a été congelé et décongelé jusqu'à 3 fois, puis soumis à une purification d'ADN à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Les rendements d'ADN calculés ont été normalisés par rapport au rendement d'un échantillon frais (100 %). Chaque colonne du graphique représente les résultats de 32 réplicats (moyenne  $\pm$  écart-type).

La quantité d'ADN purifié dans les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini dépend de la teneur en globules blancs de chaque échantillon de sang. À l'aide de la procédure avec centrifugation ou aspiration sous vide, l'ADN génomique est purifié à partir d'échantillons de 200  $\mu$ l de sang prélevé sur des donneurs sains. Divers tubes primaires et anticoagulants peuvent être utilisés pour prélever les échantillons de sang destinés aux procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini (tableau 1).

**Tableau 1. Rendements relatifs moyens d'ADN extrait des échantillons de sang prélevés à l'aide de divers tubes primaires et anticoagulants**

Tube primaire	Fabricant	N° de réf.	Volume nominal	Rendement moyen*
BD® Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6,4 $\mu$ g
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6,6 $\mu$ g
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6,4 $\mu$ g
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6,5 $\mu$ g
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8,5 ml	6,3 $\mu$ g
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6,5 $\mu$ g
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6,3 $\mu$ g

L'ADN génomique a été purifié à partir d'échantillons de 200  $\mu$ l de sang prélevés sur des donneurs sains (4,0–9,0  $\times$  10<sup>6</sup> cellules par ml).

\* Pour chaque tube primaire, le rendement moyen a été déterminé à partir de 11 échantillons en triple.

---

## Élimination des contaminants résiduels

Tandis que l'ADN génomique reste fixé sur la membrane de la QIAamp Mini Spin Column, les contaminants sont éliminés de manière efficace par lavage, d'abord avec le tampon de lavage 1 (AW1), puis avec le tampon de lavage 2 (AW2).

## Élution de l'ADN génomique purifié

L'ADN génomique est élué de la membrane de la QIAamp Mini Spin Column à l'aide de 50 à 200 µl de tampon d'élution (AE). L'ADN élué est prêt à l'emploi pour différents dosages en aval, dont divers dosages diagnostiques *in vitro* effectués en aval.

## Remarques importantes

### Points importants avant de démarrer un protocole

- Après réception du kit, vérifier que les composants du kit ne sont pas endommagés. Si les emballages blister ou les flacons de tampon sont endommagés, contacter les services techniques QIAGEN ou le distributeur local. En cas de déversement de liquide, consulter la section « Informations de sécurité » (page 14). Ne pas utiliser de composants de kit endommagés. Leur utilisation risque de nuire aux performances du kit.
- Changer systématiquement les pointes de pipette entre chaque transfert de liquide. Afin de limiter la contamination croisée, il est recommandé d'utiliser des pointes de pipette équipées d'un dispositif anti-aérosols.
- Toutes les étapes de centrifugation sont effectuées à température ambiante (15–25 °C).
- Toujours utiliser des gants jetables et s'assurer régulièrement qu'ils ne sont pas contaminés par l'échantillon. Jeter les gants s'ils sont contaminés.
- Pour limiter les risques de contamination croisée, ouvrir un seul tube à la fois.

- Ne pas utiliser de composants provenant d'autres kits avec le kit en cours d'utilisation, à moins que les numéros de lots ne soient identiques.
- Éviter toute contamination microbienne des réactifs du kit.
- Afin de limiter les risques d'infection par des matières potentiellement infectieuses, il est recommandé de travailler sous un flux d'air laminaire jusqu'à ce que les échantillons soient lysés.
- Ce kit doit être utilisé uniquement par du personnel formé aux pratiques d'un laboratoire de diagnostic in vitro.

## Préparation des réactifs et tampons

- Préparation de QIAGEN Protease

Ajouter 1,2 ml de solvant pour protéase (PS) au flacon de QIAGEN Protease (QP) lyophilisé et mélanger soigneusement. Afin d'éviter la formation de mousse, mélanger en retournant le flacon plusieurs fois. Vérifier que QIAGEN Protease (QP) est entièrement dissoute.

**Important** : Ne pas ajouter QIAGEN Protease (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).

- Préparation du tampon de lavage 1

À l'aide d'une éprouvette graduée, ajouter 25 ml d'éthanol (96–100 %) au flacon contenant 19 ml de concentré de tampon de lavage 1 (AW1). Conserver le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué à température ambiante (15–25 °C).

**Important** : Toujours mélanger le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué en retournant le flacon plusieurs fois avant de démarrer la procédure.

- Préparation du tampon de lavage 2

À l'aide d'une éprouvette graduée, ajouter 30 ml d'éthanol (96–100 %) au flacon contenant 13 ml de concentré de tampon de lavage 2 (AW2). Conserver le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué à température ambiante (15–25 °C).

**Important** : Toujours mélanger le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué en retournant le flacon plusieurs fois avant de démarrer la procédure.

- Préparation du tampon d'élu­tion

Un flacon de tampon d'élu­tion (AE) est fourni dans le kit. Afin d'éviter toute contamination du tampon d'élu­tion (AE), il est vivement recommandé d'utiliser des pointes de pipette avec dispositif anti-aérosols lors du pipetage du tampon d'élu­tion (AE) depuis le flacon et de remettre le bouchon sur le flacon tout de suite après.

**Important** : Le tampon d'élu­tion (AE) contient de l'azoture de sodium comme conservateur, qui présente une absorbance à 260 nm. Par conséquent, vérifier que le blanc contient la même concentration d'azoture de sodium que l'éluat lors de la quantification de l'ADN dans l'éluat par mesure de l'absorbance à 260 nm, lors de la détermination de la pureté de l'ADN dans l'éluat par mesure de l'absorbance à 260 nm et 280 nm ou lors du balayage de l'absorbance dans une gamme de 220 nm à 350 nm. Par exemple, en cas de préparation de l'éluat par dilution de 50 µl d'éluat dans 100 µl d'eau pour des mesures d'absorbance, il faut préparer le blanc en diluant 50 µl de tampon d'élu­tion (AE) dans 100 µl d'eau. Pour les dilutions, utiliser de l'eau fraîche et distillée.

## Manipulation des colonnes de centrifugation QIAamp Mini

En raison de la sensibilité des technologies d'amplification des acides nucléiques, il est nécessaire de prendre les précautions suivantes lors de la manipulation des colonnes de centrifugation QIAamp Mini afin d'éviter toute contamination croisée entre les préparations d'échantillons :

- Transférer avec précaution l'échantillon ou la solution dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini. Déposer l'échantillon à l'aide d'une pipette dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans mouiller le bord de la colonne.
- Changer systématiquement les pointes de pipette entre chaque transfert de liquide. Il est recommandé d'utiliser des pointes de pipette avec dispositif anti-aérosols.
- Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec la pointe de la pipette.

- Après toutes les étapes d'impulsions au vortex, centrifuger brièvement les tubes de microcentrifugation afin d'éliminer les gouttes présentes dans les bouchons.
- Ouvrir une seule colonne de centrifugation QIAamp Mini à la fois, et prendre garde à ne pas générer d'aérosols.
- Porter des gants pendant toute la procédure. En cas de contact des gants avec l'échantillon, les changer immédiatement.

## Élution de l'ADN génomique

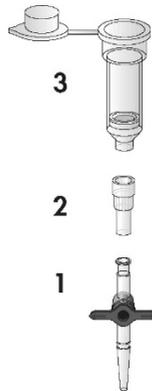
Le volume d'ADN élué d'une colonne de centrifugation QIAamp Mini peut être inférieur de jusqu'à 20 µl au volume de tampon d'élution (AE) déposé dans la colonne. Le volume d'éluat obtenu dépend de la nature de l'échantillon. Le tampon d'élution (AE) doit être amené à température ambiante (15–25 °C) avant d'être déposé dans la colonne. L'ADN élué est collecté dans des tubes d'élution (ET). Pour une conservation de l'ADN d'une durée maximale de 4 semaines, il est recommandé de le stocker entre 2 et 8 °C. Pour une conservation à long terme, il est recommandé de le stocker entre –30 et –15 °C.

## Rendement et qualité de l'ADN génomique

Le rendement et la qualité de l'ADN génomique extrait sont adaptés à de nombreux types de procédures de détection en aval utilisées dans les diagnostics moléculaires. Les dosages diagnostiques doivent être réalisés conformément aux consignes des fabricants.

## Configuration du système de vide QIAvac 24 Plus

Veiller à bien assembler la colonne de centrifugation QIAamp Mini, le VacConnector (VC) et la VacValve (voir figure 4).



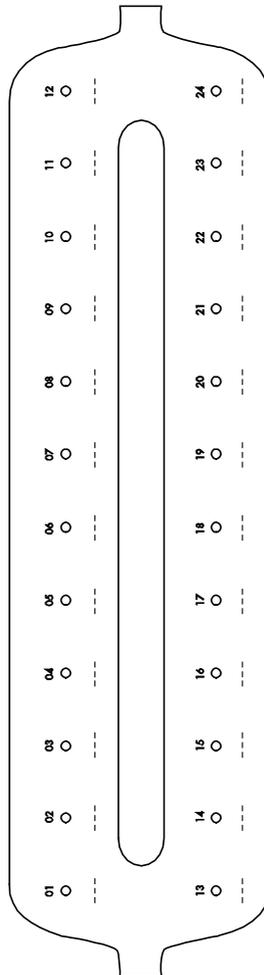
**Figure 4. Assemblage des composants du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit pour le traitement des échantillons sous vide.** (1) VacValve (2) VacConnector (VC) (3) Colonne de centrifugation QIAamp Mini

En cas d'application de la procédure avec aspiration sous vide à l'aide du système de vide QIAvac 24 Plus, il est recommandé de marquer les tubes de lyse (LT), les tubes d'élution (ET) et les colonnes de centrifugation QIAamp Mini conformément au schéma de la figure 5 (voir page suivante) afin d'éviter de confondre les échantillons. Cette figure peut être photocopiée afin d'y noter le nom des échantillons. Il est recommandé d'utiliser un schéma semblable en cas d'utilisation d'autres systèmes de vide ou de la procédure avec centrifugation.

Date : \_\_\_\_\_

Opérateur : \_\_\_\_\_

ID cycle : \_\_\_\_\_



**Figure 5. Schéma de marquage des tubes de lyse (LT), des tubes d'éluion (ET) et des colonnes de centrifugation QIAamp Mini utilisés sur le système de vide QIAvac 24 Plus.**

---

# Procédure

## Protocole : Extraction et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang à l'aide d'un système de vide

Pour l'extraction et la purification de l'ADN génomique des échantillons de 200 µl de sang total traités à l'EDTA ou au citrate à l'aide d'un système de vide tel que le système de vide QIAvac 24 Plus.

### Points importants avant de commencer

La procédure ci-dessous indique les consignes pour le traitement d'un seul échantillon de sang. Néanmoins, il est possible de traiter simultanément jusqu'à 24 échantillons sur le système de vide QIAvac 24 Plus.

### À faire avant de commencer

- Amener les échantillons de sang à température ambiante, et vérifier qu'ils sont bien mélangés.
- Si un précipité s'est formé dans le tampon de lyse (AL), le dissoudre par incubation à 56 °C.
- Vérifier que le tampon de lavage 1 (AW1), le tampon de lavage 2 (AW2) et QIAGEN Protease (QP) ont bien été préparés suivant les consignes dans la section « Préparation des réactifs et tampons » page 19.
- Amener le tampon d'éluion (AE) à température ambiante pour utilisation à l'étape 14.
- Régler un bloc chauffant à 56 °C pour l'utiliser à l'étape 4.
- Pour limiter la contamination croisée, insérer un VacConnector (VC) dans chaque adaptateur Luer du système de vide.

- Chez QIAGEN, les procédures de contrôle qualité intègrent des tests fonctionnels de validation des kits pour chaque lot de kit donné. Il convient donc de ne pas mélanger des réactifs provenant de lots de kits différents et de ne pas combiner des réactifs provenant de lots de réactifs différents.
- Vérifier que le flacon à déchets du système de vide est vide et que tous les raccords sont bien connectés.
- Pour plus d'informations sur l'utilisation du système de vide, notamment sur sa maintenance, consulter le manuel fourni avec le système.

## Procédure

1. À l'aide d'une pipette, transférer 20 µl de QIAGEN Protease (QP) dans un tube de lyse (LT).

**Remarque** : Vérifier la date de péremption de la protéase reconstituée avant utilisation.

2. Ajouter 200 µl d'échantillon de sang dans le tube de lyse (LT).
3. Ajouter 200 µl de tampon de lyse (AL) au tube de lyse (LT), fermer le bouchon et vortexer par impulsions pendant 15 s.

Afin de garantir l'efficacité de la lyse, il est essentiel que l'échantillon et le tampon de lyse (AL) soient bien mélangés pour former une solution homogène.

**Remarque** : Le tampon de lyse (AL) présentant une viscosité élevée, s'assurer d'ajouter le volume adéquat de tampon de lyse (AL) en pipetant avec le plus grand soin à l'aide d'une pipette appropriée.

**Remarque** : Ne pas ajouter QIAGEN Protease (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).

4. Incuber à 56 °C ( $\pm 1$  °C) pendant 10 min ( $\pm 1$  min).
5. Centrifuger le tube de lyse (LT) pendant  $\geq 5$  s à vitesse maximale afin d'éliminer les gouttes présentes dans le bouchon.
6. Ajouter 200 µl d'éthanol (96–100 %) au tube de lyse (LT), fermer le bouchon et bien mélanger pendant  $\geq 15$  s en vortexant par impulsions.
7. Centrifuger le tube de lyse (LT) pendant  $\geq 5$  s à vitesse maximale afin d'éliminer les gouttes présentes dans le bouchon.

8. Insérer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans le VacConnector (VC) du système de vide. S'assurer que la vanne de dépression principale (entre le système de vide et le collecteur de vide) et la vanne du bouchon à vis (sur le collecteur de vide) sont fermées. Allumer la pompe à vide.

Jeter le tube de lavage (WT) (2 ml) dans lequel la colonne de centrifugation QIAamp Mini est placée dans le blister.

Le vide est appliqué uniquement au système de connexion (le cas échéant), et non au collecteur de vide.

9. Déposer avec précaution la totalité du lysat de l'étape 7 dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec la pointe de la pipette.

**Remarque** : En cas de traitement de plusieurs échantillons, n'ouvrir qu'un tube de lyse (LT) à la fois.

10. Ouvrir la vanne de dépression principale. Une fois le lysat passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la vanne de dépression principale et ouvrir la vanne du bouchon à vis du collecteur de vide pour la remise à pression atmosphérique du collecteur. Fermer la vanne du bouchon à vis après l'évacuation du vide du collecteur.

Une fois la vanne de dépression principale fermée, le vide est appliqué uniquement au système de connexion (le cas échéant), et non au collecteur de vide.

**Remarque** : Utiliser la vanne du bouchon à vis du collecteur de vide pour évacuer rapidement le vide.

**Remarque** : Pour traiter plusieurs colonnes de centrifugation QIAamp Mini à la fois, il est recommandé de fermer la VacValve de chaque colonne une fois le lysat passé, afin de réduire la durée de cette étape.

**Remarque** : Si le lysat n'est pas entièrement passé à travers la membrane au bout de 10 min, placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube de lavage (WT) propre, fermer le bouchon et centrifuger à  $6\,000 \times g$  (8 000 tr/min) pendant 3 min ou jusqu'à ce que le lysat soit complètement passé à travers la membrane. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un autre tube de lavage (WT) propre et poursuivre avec l'étape 10 du protocole de la page 31.

---

**Remarque** : Si le lysat n'est toujours pas entièrement passé travers la membrane pendant la centrifugation, jeter l'échantillon et répéter l'extraction et la purification avec un nouvel échantillon, en commençant par l'étape 1 page 30.

11. Déposer 750 µl de tampon de lavage 1 (AW1) dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec la pointe de la pipette. Laisser le bouchon de la colonne ouvert et ouvrir la vanne de dépression principale. Une fois le tampon de lavage 1 (AW1) passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la vanne de dépression principale et ouvrir la vanne du bouchon à vis afin de permettre la remise à pression atmosphérique du collecteur. Fermer la vanne du bouchon à vis après l'évacuation du vide du collecteur.
12. Déposer 750 µl de tampon de lavage 2 (AW2) dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec la pointe de la pipette. Laisser le bouchon de la colonne ouvert et ouvrir la vanne de dépression principale. Une fois le tampon de lavage 2 (AW2) passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la vanne de dépression principale et ouvrir la vanne du bouchon à vis afin de permettre la remise à pression atmosphérique du collecteur. Fermer la vanne du bouchon à vis après l'évacuation du vide du collecteur.
13. Fermer le bouchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, la retirer du système de vide et jeter le VacConnector (VC). Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube de lavage (WT) propre et centrifuger à vitesse maximale (environ 20 000 × *g*, ou 14 000 tr/min) pendant 3 min pour sécher complètement la membrane.

**Remarque** : L'omission de la centrifugation de séchage peut entraîner l'inhibition du dosage en aval.

---

14. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube d'élution (ET) propre et jeter le tube de lavage (WT) contenant le filtrat. Ouvrir le bouchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et déposer 50 à 200 µl de tampon d'élution (AE) au centre de la membrane. Fermer le bouchon et incuber à température ambiante pendant 1 min. Centrifuger à  $6\,000 \times g$  (8 000 tr/min) pendant 1 min pour éluer l'ADN.

**Remarque :** Suivre la procédure de maintenance pour le système de vide après avoir effectué ce protocole (consulter le manuel fourni avec le système de vide pour plus d'informations).

---

Protocole : Extraction et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang à l'aide d'une microcentrifugeuse ou du QIAcube/QIAcube Connect MDx.

Pour l'extraction et la purification de l'ADN génomique des échantillons de 200 µl de sang total traités à l'EDTA ou au citrate à l'aide d'une microcentrifugeuse ou de façon automatisée sur le QIAcube ou le QIAcube Connect MDx.

Points importants avant de commencer

- La procédure ci-dessous indique les consignes pour le traitement d'un seul échantillon de sang. Néanmoins, il est possible de traiter simultanément plusieurs échantillons, le nombre d'échantillons dépendant de la capacité de la microcentrifugeuse utilisée.
- Le traitement automatisé de 2 à 10 ou 12 échantillons peut être effectué sur les instruments QIAcube ou QIAcube Connect MDx.
- Pour l'automatisation, suivre les consignes indiquées dans les fiches de protocole (QIAcube), ou à l'écran du logiciel (QIAcube Connect MDx), et consulter le *manuel d'utilisation du QIAcube ou du QIAcube Connect MDx*.

À faire avant de commencer

- Amener les échantillons de sang à température ambiante, et vérifier qu'ils sont bien mélangés.
- Si un précipité s'est formé dans le tampon de lyse (AL), le dissoudre par incubation à 56 °C.
- Vérifier que le tampon de lavage 1 (AW1), le tampon de lavage 2 (AW2) et QIAGEN Protease (QP) ont bien été préparés suivant les consignes dans la section « Préparation des réactifs et tampons » page 19.
- Amener le tampon d'éluion (AE) à température ambiante pour utilisation à l'étape 15.
- Régler un bloc chauffant à 56 °C pour l'utiliser à l'étape 4.

- Chez QIAGEN, les procédures de contrôle qualité intègrent des tests fonctionnels de validation des kits pour chaque lot de kit donné. Il convient donc de ne pas mélanger des réactifs provenant de lots de kits différents et de ne pas combiner des réactifs provenant de lots de réactifs différents.

## Procédure

- Pour la procédure manuelle avec une microcentrifugeuse, suivre les étapes 1 à 15.
- Cette procédure peut être automatisée dans 3 versions différentes :
  - Volume d'élution : 100 µl ; automatisation complète avec un volume d'élution de 100 µl (à partir de l'étape 1)
  - Volume d'élution : 200 µl ; automatisation complète avec un volume d'élution de 200 µl (à partir de l'étape 1)
  - Lyse manuelle : partiellement automatisée avec une lyse en dehors de l'instrument (à partir de l'étape 5)

1. À l'aide d'une pipette, transférer 20 µl de QIAGEN Protease (QP) dans un tube de lyse (LT).

**Remarque** : Vérifier la date de péremption de la protéase reconstituée avant utilisation.

2. Ajouter 200 µl d'échantillon de sang dans le tube de lyse (LT).

3. Ajouter 200 µl de tampon de lyse (AL) au tube de lyse (LT), fermer le bouchon et vortexer par impulsions pendant 15 s.

Afin de garantir l'efficacité de la lyse, il est essentiel que l'échantillon et le tampon de lyse (AL) soient bien mélangés pour former une solution homogène.

**Remarque** : Le tampon de lyse (AL) présentant une viscosité élevée, s'assurer d'ajouter le volume adéquat de tampon de lyse (AL) en pipetant avec le plus grand soin à l'aide d'une pipette appropriée.

**Remarque** : Ne pas ajouter QIAGEN Protease (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).

4. Incuber à 56 °C (± 1 °C) pendant 10 min (± 1 min).

5. Centrifuger le tube de lyse (LT) pendant  $\geq 5$  s à vitesse maximale afin d'éliminer les gouttes présentes dans le bouchon.

**Remarque** : Si la lyse manuelle (étapes 1–5) a été effectuée en dehors de l'instrument, les étapes suivantes (étapes 6–15) peuvent être automatisées sur le QIAcube ou le QIAcube Connect MDx à l'aide du protocole pour la lyse manuelle.

6. Ajouter 200  $\mu$ l d'éthanol (96–100 %) au tube de lyse (LT), fermer le bouchon et bien mélanger pendant  $\geq 15$  s en vortexant par impulsions.

7. Centrifuger le tube de lyse (LT) pendant  $\geq 5$  s à vitesse maximale afin d'éliminer les gouttes présentes dans le bouchon.

8. Déposer avec précaution la totalité du lysat de l'étape 7 dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec la pointe de la pipette.

**Remarque** : En cas de traitement de plusieurs échantillons, n'ouvrir qu'un tube de lyse (LT) à la fois.

9. Fermer le bouchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, et centrifuger à environ 6 000  $\times g$  pendant 1 min. Placer la colonne QIAamp Mini Spin dans un tube de lavage (WT) propre, et jeter le tube contenant le filtrat.

**Remarque** : Si le lysat n'est pas complètement passé à travers la membrane après centrifugation à 6 000  $\times g$  (8 000 tr/min), recentrifuger à vitesse maximale (jusqu'à 20 800  $\times g$ ) pendant 1 min.

**Remarque** : Si le lysat n'est toujours pas entièrement passé travers la membrane pendant la centrifugation, jeter l'échantillon et répéter l'extraction et la purification avec un nouvel échantillon en commençant par l'étape 1 page 30.

10. Ouvrir la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et ajouter 500  $\mu$ l de tampon de lavage 1 (AW1) sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec la pointe de la pipette.

11. Fermer le bouchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, et centrifuger à environ 6 000  $\times g$  pendant 1 min. Placer la colonne QIAamp Mini Spin dans un tube de lavage (WT) propre, et jeter le tube contenant le filtrat.

- 
12. Ouvrir la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et ajouter 500 µl de tampon de lavage 2 (AW2) sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec la pointe de la pipette.
  13. Fermer le bouchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, et centrifuger à vitesse maximale (environ 20 000 × g, ou 14 000 tr/min) pendant 1 min. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube de lavage (WT) propre, et jeter le tube contenant le filtrat.
  14. Centrifuger à vitesse maximale (environ 20 000 × g, ou 14 000 tr/min) pendant 3 min afin de sécher complètement la membrane.

**Remarque :** L'omission de la centrifugation de séchage peut entraîner l'inhibition du dosage en aval.

15. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube d'éluion (ET) propre et jeter le tube de lavage (WT) contenant le filtrat. Ouvrir le bouchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et déposer 50 à 200 µl de tampon d'éluion (AE) au centre de la membrane. Fermer le bouchon et incubé à température ambiante pendant 1 min. Centrifuger à environ 6 000 × g (8 000 tr/min) pendant 1 min pour éluer l'ADN.

**Remarque importante :** Pour toutes les procédures automatisées, veiller à retirer les éluats de l'instrument tout de suite après la fin du cycle et à les conserver de façon appropriée.

---

# Contrôle qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit est testé en fonction de spécifications prédéterminées afin de garantir une qualité constante du produit.

## Limitations

Les performances du système ont été établies à l'aide de sang total pour l'extraction d'ADN génomique.

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de valider les performances du système pour toutes procédures de son laboratoire non couvertes par les études de performances de QIAGEN.

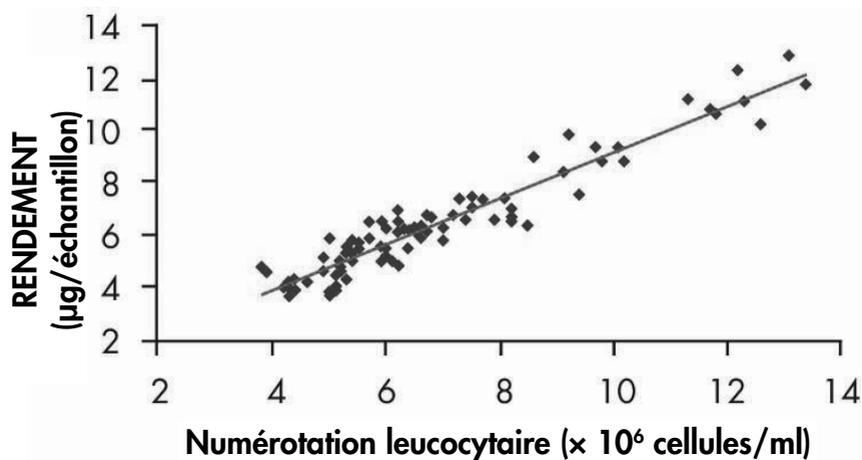
Afin de limiter les risques d'impact négatif sur les résultats diagnostiques, des contrôles appropriés doivent être utilisés pour les applications en aval. Pour une validation plus poussée, il est conseillé de suivre la directive ICH Q2(R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology de la Conférence internationale sur l'harmonisation des exigences techniques (ICH).

Tous les résultats diagnostiques générés doivent être interprétés à la lumière des autres observations cliniques ou résultats biologiques disponibles.

# Caractéristiques de performances

## Rendement en ADN purifié

La gamme linéaire du rendement en ADN obtenu à l'aide de la procédure QIAamp DSP DNA Blood Mini avec aspiration sous vide a été déterminée à partir de sang prélevé sur des donneurs sains, avec une numérotation leucocytaire comprise entre  $3,8 \times 10^6$  et  $1,34 \times 10^7$  cellules/ml (voir figure 6).



**Figure 6. Gamme linéaire du rendement en ADN à l'aide de la procédure QIAamp DSP DNA Blood Mini avec aspiration sous vide et un volume d'élution de 200 µl.** La numérotation leucocytaire chez les donneurs sains a été déterminée et était comprise dans une gamme de  $3,8 \times 10^6$  à  $1,34 \times 10^7$  cellules/ml. L'ADN des échantillons de sang a été purifié à l'aide de la procédure QIAamp DSP DNA Blood Mini avec aspiration sous vide et un volume d'élution de 200 µl. Quarante-sept échantillons ont été traités en triple.

## Performances dans les dosages en aval

L'ADN génomique élué est prêt à l'emploi pour différents dosages en aval, dont divers dosages diagnostiques in vitro effectués en aval (tableau 2 à tableau 6). Les effets du volume d'élution et du volume d'éluat utilisé en PCR sur les performances de PCR ont été déterminés (voir tableau 7).

**Tableau 2. Typage HLA à l'aide des dosages Dynal® AllSet™ SSP suivants : HLA-A « basse résolution », HLA-B « basse résolution », DR « basse résolution » et DQ « basse résolution »**

Locus HLA-A		Locus HLA-B		Locus HLA-DR		Locus HLA-DQ	
Génotype	Nb	Génotype	Nb	Génotype	Nb	Génotype	Nb
A2/A3	2	B51, B51/B13 ou B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 ou DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 ou B7/B15	1	DR7/DR15	2	DQ2/DQ5	1
A1/A2	2	B7/B18	1	DR4/DR15	1	DQ2/DQ5	2
A30/A68	1	B7/B44	1	DR4/DR7	1	DQ3	1
A2/A32	1	Autre	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Autre	0			DR15	1	Autre	0
				DR1/DR7	1		
				Autre	0		

Le sang total a été prélevé sur des donneurs différents, et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. À l'aide des dosages Dynal AllSet<sup>®</sup> SSP (Thermo Fisher Scientific ou ses filiales), les allèles ont été identifiés aux loci indiqués pour un nombre d'individus donné. Nb : nombre d'individus.

**Tableau 3. Génotypage du facteur V Leiden (FV) à l'aide du kit de détection de mutation LightCycler® Factor V Leiden**

Génotype	Nombre
Type sauvage	17
FV G16191 A hétérozygote	13
FV G16191 A homozygote	0

Le sang total a été prélevé sur 30 donneurs différents, et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Le statut allélique au niveau du locus FV G16191 A a été déterminé à l'aide du kit de détection de mutation LightCycler Factor V Leiden (groupe Roche).

**Tableau 4. Génotypage du facteur V Leiden (FV) à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse par Pyrosequencing® réalisée avec le PSQ-96 SNP-Reagent Kit sur le Pyrosequencing PSQ 96MA**

Génotype	Nombre
Type sauvage	17
FV G16191 A hétérozygote	13
FV G16191 A homozygote	0

Le sang total a été prélevé sur 30 donneurs différents, et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Le statut allélique au niveau du locus FV G16191 A a été déterminé à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse par Pyrosequencing réalisée avec le PSQ-96 SNP-Reagent Kit sur le Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

**Tableau 5. Génotypage de la prothrombine (PT) à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse par Pyrosequencing réalisée avec le PSQ-Q96 SNP Reagent Kit sur le Pyrosequencing PSQ 96MA**

Génotype	Nombre
Type sauvage	30
PT G20210A hétérozygote	0
PT G20210A homozygote	0

Le sang total a été prélevé sur 30 donneurs différents, et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Le statut allélique au niveau du locus PT G20210A a été déterminé à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse par Pyrosequencing réalisée avec le PSQ-96 SNP Reagent Kit sur le Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

**Tableau 6. Analyse des polymorphismes T112C et C158T de l'ApoE à l'aide d'une PCR en point final, avec séquençage de l'amplicon à l'aide du BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit et séparation sur l'ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer**

Génotype	Nombre
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Autre	0

Le sang total a été prélevé sur 10 donneurs différents, et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. L'analyse des polymorphismes T112C et C158T de l'ApoE a été effectuée à l'aide d'une PCR en point final, avec séquençage de l'amplicon à l'aide du BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit et séparation sur l'ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific ou ses filiales).

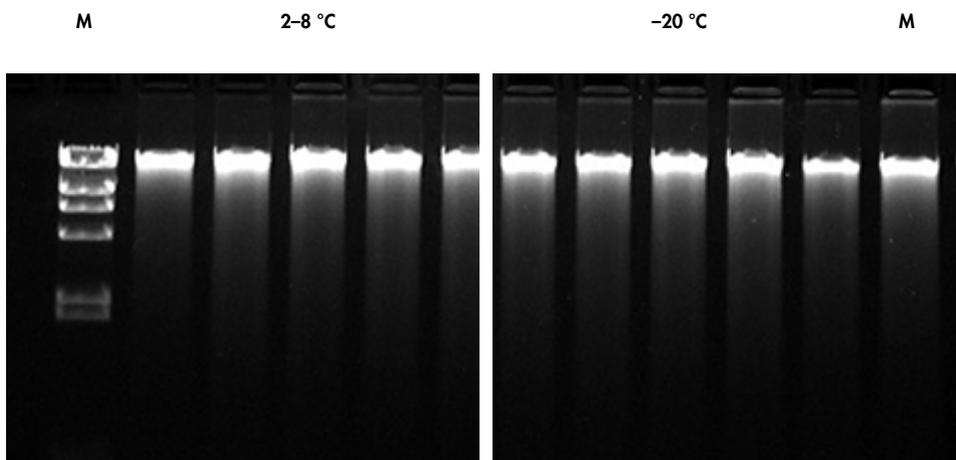
**Tableau 7. Effets du volume d'éluat et du volume d'éluat utilisé en PCR sur les performances de PCR**

Volume d'éluat	Volume d'éluat par PCR de 50 µl*		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100 %	100 %	100 %
100 µl	100 %	100 %	97 %
200 µl	100 %	100 %	100 %

\* Les valeurs indiquent les taux de détection par PCR et représentent la moyenne de 48 échantillons.

## Stabilité des éluats

Les analyses de conservation des éluats obtenus à l'aide du QIAamp DNA Blood Mini Kit, un kit général de laboratoire fondé sur la même technologie, ont démontré que l'ADN élué dans le Buffer AE provenant des QIAamp Mini Spin Columns est stable pendant 8 ans s'il est stocké entre 2 et 8 °C ou entre -30 et -15 °C (figure 7). Cela étant, des études de stabilité à long terme des éluats obtenus à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sont en cours.



**Figure 7. Stabilité à long terme de l'ADN extrait et purifié à l'aide de colonnes de centrifugation QIAamp Mini.** L'ADN a été purifié à l'aide du QIAamp DNA Blood Mini Kit, élué dans 200 µl de Buffer AE et conservé soit entre 2 et 8 °C, soit à -20 °C pendant 8 ans. Les échantillons d'ADN ont été analysés sur un gel d'agarose coloré au bromure d'éthidium. M : marqueurs.

# Symboles

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

Symbole	Définition du symbole
 $\Sigma$ <N>	Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions
	À utiliser avant
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	À réception
	Ouvrir à la livraison ; conserver les colonnes de centrifugation QIAamp Mini entre 2 et 8 °C
	Numéro de référence
	Numéro de lot
	Numéro de matériel (c.-à-d. étiquette de composant)
	Composants
	Contient
	Nombre
	Code article international (Global Trade Item Number, GTIN)
<b>Rn</b>	R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision

Symbole	Définition du symbole
	Limites de température
	Fabricant
	Consulter le mode d'emploi
	Volume
	Noter la date du jour sur le flacon après avoir ajouté l'éthanol
	Ajouter
	Lyophilisé
	Reconstituer dans
	Éthanol
	Chlorhydrate de guanidine
	Subtilisine
	Mène à
	Consulter le mode d'emploi
	Remarque importante

# Informations pour commander

Produit	Sommaire	N° de réf.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Pour 50 préparations d'ADN : colonnes de centrifugation QIAamp Mini, VacConnectors, QIAGEN Protease, réactifs, tampons et tubes de prélèvement	61104
Produits apparentés		
QIAcube Connect MDx*	Instrument et garantie de 1 an pièces et main-d'œuvre	9003070
Accessoires		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold†	Collecteur à vide pour le traitement de 1 à 24 colonnes de centrifugation : collecteur à vide QIAvac 24 Plus, bouchons Luer, raccords rapides	19413
Vacuum Pump†	Pompe à vide universelle	84020
VacConnectors†	500 raccords jetables pour utilisation avec les colonnes de centrifugation QIAamp sur les raccords Luer	19407
Rotor Adapters	Pour 240 préparations : 240 adaptateurs pour rotor jetables et 240 tubes d'élution (1,5 ml) ; pour utilisation avec le QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Support pour 12 adaptateurs pour rotor jetables ; pour utilisation avec le QIAcube	990392

<b>Produit</b>	<b>Sommaire</b>	<b>N° de réf.</b>
Sample Tubes CB	1 000 tubes coniques à bouchon à vis sans jupe (2 ml) pour utilisation avec le QIAcube et le QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Pour le chargement du portoir de l'agitateur du QIAcube	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Flacons de réactif (30 ml) avec bouchons ; paquet de 6 pour utilisation avec le QIAcube	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Pointes à filtre jetables, sur portoir ; (8 × 128). Pour utilisation avec le QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Pointes à filtre jetables, grand diamètre, sur portoir ; (8 × 128) ; non requises pour tous les protocoles. Pour utilisation avec le QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	Pointes à filtre jetables, sur portoir ; (8 × 128). Pour utilisation avec le QIAcube et les instruments QIASymphony SP/AS	990332

\* Le QIAcube Connect MDx n'est pas disponible dans tous les pays. Pour plus d'informations, contacter les services techniques QIAGEN.

† Pour utilisation avec les protocoles sous vide.

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

# Historique des révisions du document

<b>Révision</b>	<b>Description</b>
R2, 01/2021	<p>Réactualisation des sections Purification automatisée sur le QIAcube/QIAcube Connect MDx, Avertissements et précautions et Protocole : Extraction et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang à l'aide d'une microcentrifugeuse ou du QIAcube/QIAcube.</p> <p>Ajout de références au QIAcube Connect MDx et à ses accessoires.</p> <p>Suppression de la référence au CD dans la section Contenu du kit.</p> <p>Changements rédactionnels et de mise en page.</p>

---

**Cette page a été laissée vierge intentionnellement.**

---

**Cette page a été laissée vierge intentionnellement.**

### Contrat de licence limitée pour le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

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

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

Pour consulter les mises à jour de la licence, voir le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Marques commerciales : QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (groupe QIAGEN) ; BD®, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company) ; Bio-One®, Vacuette®, Greiner Bio-One® (Greiner Bio-One GmbH) ; Eppendorf®, Thermomixer® (Eppendorf AG) ; LightCycler® (groupe Roche) ; Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.) ; ABI PRISM®, *AllSer*™, BigDye®, Dyna® (Thermo Fisher Scientific ou ses filiales). Les noms déposés, les marques commerciales, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

01/2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, tous droits réservés.

---

Pour commander, [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistance technique, [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) |  
Site Web, [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)