

Mars 2017

Instructions d'utilisation (Manuel) du kit QIAAsymphony[®] DSP Circulating DNA



192

Version 1



Pour utilisation en diagnostic in vitro



937556



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden
ALLEMAGNE



1103177FR

Sommaire

Utilisation prévue	3
Résumé et description.....	3
Principes de la procédure	4
Matériel fourni.....	7
Contenu du kit.....	7
Matériel nécessaire mais non fourni	8
Avertissements et précautions	10
Stockage et manipulation des réactifs.....	12
Composants du kit.....	12
Prélèvement et préparation des échantillons	13
Procédure	14
Purification automatisée sur QIAasymphony SP	14
Protocole : purification de l'ADN libre circulant.....	20
Contrôle de la qualité.....	23
Limites	23
Symboles.....	24
Guide de résolution des principaux problèmes rencontrés	26
Annexe : quantification de l'ADN libre circulant.....	30
Pour commander	31

Utilisation prévue

Le kit QIASymphony DSP Circulating DNA utilise la technologie des particules magnétiques pour l'isolation et la purification automatisées de l'ADN libre circulant 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 kit QIASymphony DSP Circulating DNA est destiné à être utilisé dans le cadre de diagnostics *in vitro*.

Résumé et description

Les acides nucléiques libres circulants (ADNlc) sont présents dans le plasma ou l'urine, en général sous forme de fragments courts < 1.000 bp (ADN) ou < 1.000 nt (ARN) ou d'une taille minimale de 20 nt (micro-ARN). La concentration en acides nucléiques libres circulants dans les fluides biologiques tels que le plasma ou l'urine est généralement faible, et varie considérablement d'une personne à l'autre. La concentration en ADNlc peut être comprise dans la plage 1–100 ng/ml. Le système QIASymphony DSP Circulating DNA est un système *in vitro* prêt à l'emploi pour la purification qualitative de l'ADN libre circulant humain à partir de l'urine et du plasma humains sur l'appareil QIASymphony SP.

Le kit QIASymphony DSP Circulating DNA fournit les réactifs nécessaires à la purification entièrement automatisée et simultanée de l'ADNlc humain à partir d'échantillons biologiques. Les caractéristiques de performance n'ont pas été établies pour tous les tubes de prélèvement sanguin et doivent être validées par l'utilisateur. La technologie des particules magnétiques permet la purification d'acides nucléiques de haute qualité qui ne contiennent pas de protéines, de nucléases ni d'autres impuretés. L'ADNlc purifié est compatible avec une large gamme d'applications en aval. Le poste de travail QIASymphony SP exécute toutes les étapes

de la procédure de purification. Il est possible de traiter jusqu'à 96 échantillons, par lot de 24, en un seul cycle. Les échantillons d'urine peuvent nécessiter un traitement manuel préalable.

Principes de la procédure

La technologie QIASymphony associe la vitesse et l'efficacité de la purification d'acides nucléiques par échange d'anions à la manipulation pratique des particules magnétiques (Figure 1, ci-dessous). La procédure de purification est conçue pour garantir le traitement sans risques et reproductible d'échantillons potentiellement infectieux. Elle comprend 3 étapes : liaison, lavage et élution (voir l'organigramme, page 6). L'utilisateur a le choix entre plusieurs volumes d'échantillon.

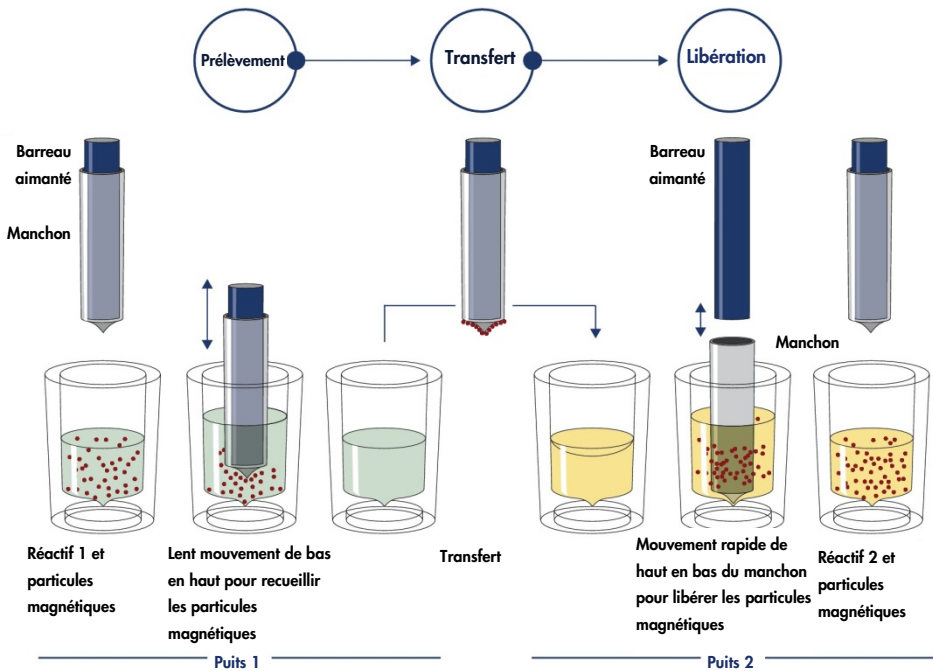
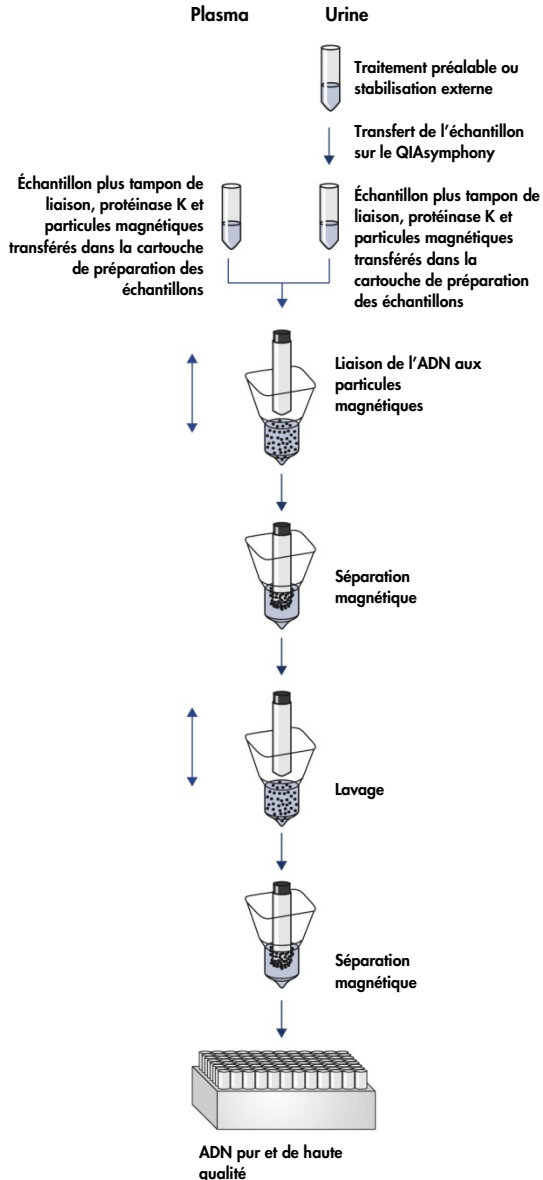


Figure 1 Schéma du principe de fonctionnement du QIASymphony SP. L'automate traite un échantillon contenant des particules magnétiques de la manière suivante : un barreau aimanté protégé par un manchon pénètre dans un puits contenant l'échantillon et attire les particules magnétiques. Le manchon du barreau aimanté est ensuite placé au-dessus d'un autre puits dans lequel les particules magnétiques sont libérées. Ces étapes sont répétées plusieurs fois pendant le traitement de l'échantillon. Muni d'une tête magnétique contenant une barrette de 24 barreaux aimantés, le QIASymphony SP est capable de traiter simultanément jusqu'à 24 échantillons.

Procédure du QIAAsymphony DSP Circulating



Matériel fourni

Contenu du kit

QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit		(192)		
Référence		937556		
Nombre de réactions		192		
Identité		Quantité		
RC	Reagent cartridge (Cartouche de réactifs)*	<table border="1"><tr><td>REAG</td><td>CART</td></tr></table> [†] 2	REAG	CART
REAG	CART			
PROTK	QIAGEN Proteinase K (Protéinase K QIAGEN)	6 x 10 ml		
PL	Piercing lid (Couvercle perforateur)	2		
RSS	Reuse Seal Set (Jeu de bandelettes d'étanchéité réutilisables) [‡]	2		
	Instructions d'utilisation (Manuel)	1		

* Contient de l'azide de sodium comme agent de conservation.

[†] Voir page 24 pour la liste des symboles et les définitions.

[‡] Un jeu de bandelettes d'étanchéité contient 8 bandelettes.

Matériel nécessaire mais non fourni

En cas de manipulation de produits chimiques, porter systématiquement une blouse de laboratoire adéquate, des gants jetables et des lunettes de protection. Pour plus d'informations veuillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) disponibles chez le fournisseur du produit.

Veiller à ce que tous les appareils soient vérifiés et calibrés selon les recommandations du fabricant.

- QIASymphony SP (référence 9001297)
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (cartouches de préparation des échantillons à 8 puits) (référence 997002)
- 8-Rod Covers (manchons pour 8 barreaux) (référence 997004)
- Filter-Tips, 200 µl and 1500 µl (cônes munis de filtre, 200 µl et 1.500 µl) (références 990332 et 997024)
- Tubes d'échantillon. Pour connaître les formats de tubes primaires et secondaires compatibles, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible dans l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit, à l'adresse **www.qiagen.com**.
- Tubes ou plaques d'élution. Pour connaître les formats de tubes et de plaques d'élution compatibles, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse **www.qiagen.com**.
- Solution saline tamponnée au phosphate (SSTP, peut être nécessaire pour compléter les volumes d'échantillon)
- Mixeur Vortex
- Buffer ATL (tampon ATL) (pour le traitement préalable des échantillons d'urine ; référence 939016)

-
- Pour connaître le matériel supplémentaire requis dans le cadre du prétraitement et de la stabilisation des échantillons d'urine, se reporter à la fiche de protocole, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse **www.qiagen.com**.

Avertissements et précautions

Pour utilisation en diagnostic in vitro

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

En cas de manipulation de produits chimiques, porter systématiquement une blouse de laboratoire adéquate, des gants jetables et des lunettes de protection. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Elles sont disponibles en ligne au format PDF à l'adresse www.qiagen.com/safety, où l'on peut trouver, consulter et imprimer les FDS de chaque kit et composant de kit QIAGEN.

AVERTISSEMENT Risque d'accident corporel



Ne pas verser de javellisants ou de solutions acides directement sur les déchets de la préparation d'échantillon.

Les tampons inclus dans la cartouche de réactifs (RC) contiennent de l'azide de sodium. Si les tampons du kit sont renversés, nettoyer avec un détergent de laboratoire approprié et de l'eau. Si le liquide renversé contient des agents potentiellement infectieux, nettoyer l'endroit contaminé d'abord avec un détergent de laboratoire et de l'eau, puis avec de l'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v).

Les mentions de danger et les conseils de prudence applicables aux composants du kit QIASymphony DSP Circulating DNA sont indiqués ci-dessous.

MBS3

Contient : azide de sodium. Avertissement ! Peut être nocif en cas d'ingestion. Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.

Protéinase K



Contient : Protéinase K. Danger ! Provoque une légère irritation cutanée. Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. Mettre au rebut le contenu/récipient dans une installation de traitement agréée. En cas de symptômes respiratoires : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. EN CAS D'INHALATION : S'il y a difficulté à respirer, transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. Porter un équipement de protection respiratoire.

QSE2



Danger ! Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Mettre au rebut le contenu/récipient dans une installation de traitement agréée. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se doucher. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Garder sous clef. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/ du visage.

QSW9



Contient : éthanol. Danger ! Provoque une sévère irritation des yeux. Liquide et vapeurs très inflammables. Mettre au rebut le contenu/réceptacle dans une installation de traitement agréée. Si l'irritation oculaire persiste : consulter 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.

Stockage et manipulation des réactifs

Le kit QIASymphony DSP Circulating DNA doit être stocké debout, à température ambiante (15–25 °C). Les particules magnétiques contenues dans les cartouches de réactifs (RC) restent actives lorsqu'elles sont stockées à cette température.

Remarque : La date limite d'utilisation du kit figure sur l'étiquette de la boîte du kit QIASymphony DSP Circulating DNA. Le fichier de résultats indique uniquement les dates limites d'utilisation des cartouches de réactifs (RC).

Ne pas utiliser le kit QIASymphony DSP Circulating DNA après la date limite d'utilisation.

Composants du kit

Le kit QIASymphony DSP Circulating DNA contient une solution de protéinase K prête à l'emploi qui peut être conservée à température ambiante.

Ne pas conserver les cartouches de réactifs (RC) à une température inférieure à 15 °C.

Les cartouches de réactifs (RC) entamées peuvent être conservées pendant une durée maximale de 4 semaines, ce qui permet une réutilisation rentable des réactifs et un traitement plus souple des échantillons. Sur les cartouches de réactifs (RC) entamées, remettre le couvercle du compartiment contenant les particules magnétiques et sceller les cartouches de réactifs (RC) avec les bandelettes d'étanchéité fournies dès la fin du cycle pour éviter l'évaporation.

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

L'analyse de lots contenant un faible nombre d'échantillons (< 24) augmente le temps d'ouverture de la cartouche de réactifs (RC) et les volumes de tampon nécessaires, ce qui risque de diminuer le nombre de préparations d'échantillon qu'il est possible de réaliser avec une cartouche.

Éviter l'exposition des cartouches de réactifs (RC) aux rayons UV (par exemple, lors de leur utilisation pour la décontamination) en raison du risque associé de vieillissement prématuré des cartouches et des tampons.

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour plus d'informations sur la procédure automatisée, y compris sur les tubes d'échantillon compatibles avec un protocole spécifique et le traitement préalable d'échantillons particuliers, voir la fiche du protocole correspondant, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

Procédure

Purification automatisée sur QIAasymphony SP

Avec le QIAasymphony SP, la préparation automatisée des échantillons est facile et pratique. Les échantillons, les réactifs, les consommables et les éluats sont séparés dans différents tiroirs. Il suffit de charger les échantillons, les réactifs fournis dans des cartouches spéciales et les portoirs de consommables dans les tiroirs correspondants avant un cycle. Lancer le protocole et récupérer l'ADN purifié dans le tiroir à éluats « Eluate » après traitement. Pour connaître les consignes de fonctionnement, se reporter aux manuels d'utilisation fournis avec l'appareil.

Remarque : Les opérations facultatives de maintenance ne sont pas indispensables au fonctionnement de l'appareil, mais sont fortement recommandées pour réduire le risque de contamination.

La gamme des protocoles disponibles est continuellement enrichie et il est possible de télécharger gratuitement d'autres protocoles QIAGEN à l'adresse www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Chargement des cartouches de réactifs (RC) dans le tiroir à réactifs et consommables « Reagents and Consumables »

Les réactifs pour la purification de l'ADN sont contenus dans une cartouche de réactifs (RC) innovante (Figure 2, page 15). Chaque compartiment de la cartouche contient un réactif particulier, tel que des particules magnétiques, un tampon de liaison, un tampon de lavage ou un tampon d'éluat. Il est possible de refermer les cartouches de réactifs (RC) entamées à l'aide de bandelettes d'étanchéité (RSS) en vue d'une réutilisation ultérieure, ce qui évite de générer des déchets dus à des restes de réactifs à la fin de la purification.

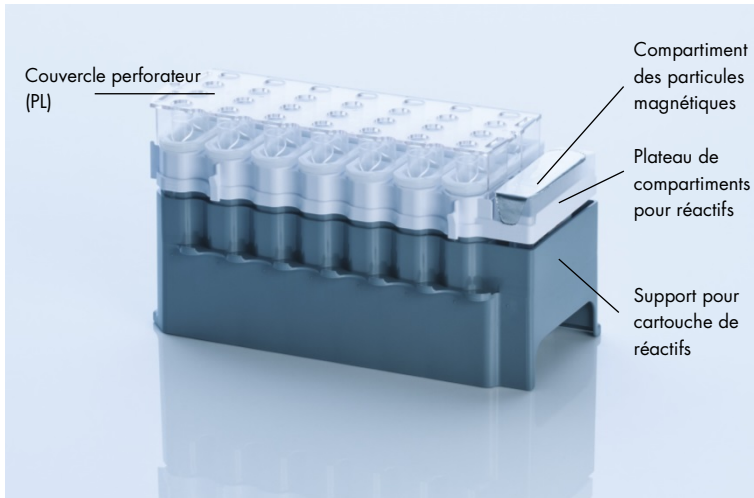


Figure 2. Cartouche de réactifs (RC) QIASymphony. La cartouche contient tous les réactifs nécessaires au cycle.

Avant de commencer la procédure, veiller à la remise en suspension complète des particules magnétiques. Avant la première utilisation, retirer le compartiment des particules magnétiques du plateau de la cartouche de réactifs, mélanger énergiquement au vortex pendant au moins 3 minutes, puis remettre le compartiment en place.

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

Placer la cartouche de réactifs (RC) sur son support. Avant la première utilisation d'une cartouche de réactifs (RC), placer sur celle-ci le couvercle perforateur (PL) (Figure 2, ci-dessus).

Remarque : Le couvercle perforateur (PL) est coupant. Faire preuve de précaution lors de sa mise en place sur la cartouche. Veiller à bien orienter le couvercle sur la cartouche.

Après retrait du couvercle du compartiment des particules magnétiques, charger la cartouche de réactifs (RC) dans le tiroir à réactifs et consommables « Reagents and Consumables ».

Les cartouches de réactifs (RC) entamées peuvent être stockées jusqu'à la prochaine utilisation (voir « Stockage et manipulation des réactifs », page 12).

Remarque : La protéinase K doit être ajoutée conformément aux informations fournies dans la fiche de protocole, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

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

Chargement du matériel en plastique dans le tiroir à réactifs et consommables « Reagents and Consumables »

Les cartouches de préparation des échantillons, les manchons pour 8 barreaux (tous deux préalablement rangés dans des boîtes) et les cônes munis de filtres jetables (cônes de 200 µl sur supports bleus, cônes de 1.500 µl sur supports noirs) sont chargés dans le tiroir à réactifs et consommables « Reagents and Consumables ».

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

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

Les fentes pour supports de cônes de la table de travail QIASymphony SP peuvent accueillir les deux types de supports. Le QIASymphony SP identifie le type de cône chargé au moment de l'inventaire.

Remarque : Ne pas remplir les supports de cônes ni les boîtes des cartouches de préparation des échantillons ou des manchons pour 8 barreaux avant de lancer un nouveau cycle. Le QIASymphony SP est capable d'utiliser des supports de cônes et des boîtes qui ne sont pas pleins.

Pour connaître les consommables requis, voir la fiche de protocole pertinente, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com. Pour plus d'informations sur la commande de matériel en plastique, voir page 31.

Chargement du tiroir à la poubelle (« Waste »)

Les cartouches de préparation des échantillons et les manchons pour 8 barreaux utilisés au cours d'un cycle sont rangés dans des boîtes vides situées dans le tiroir à la poubelle (« Waste »). Veiller à ce que le tiroir à la poubelle (« Waste ») contienne suffisamment de boîtes vides pour contenir tout le matériel en plastique usagé issu d'un cycle.

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

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

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

Un flacon à déchets recueille les liquides usagés issus de la purification. Le tiroir à la poubelle « Waste » ne peut être fermé qu'à condition que le flacon à déchets soit en place. Éliminer les déchets liquides conformément aux règles locales de sécurité et de respect de l'environnement en vigueur. Ne pas autoclaver le flacon à déchets rempli. Vider le flacon après le traitement d'un maximum de 96 échantillons.

Chargement du tiroir « Eluate »

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

Inventaire

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

Préparation de matériel de prélèvement

Les kits QIASymphony DSP Circulating DNA sont destinés à la purification automatisée de l'ADN libre circulant à partir de l'urine et du plasma humains (Tableau 1, page 19).

Éviter la formation de mousse dans ou sur les échantillons. La présence de mousse sur les échantillons peut entraîner le pipetage d'un volume incorrect d'échantillon. Selon la nature de l'échantillon de départ, un traitement préalable peut être nécessaire. Amener tous les échantillons à température ambiante (15–25 °C) avant de lancer le cycle.

Pour plus d'informations sur la procédure automatisée, y compris sur les tubes d'échantillon compatibles avec un protocole spécifique et le traitement préalable d'échantillons particuliers, voir la fiche du protocole correspondant, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

Stockage de l'ADN

Après la préparation de l'échantillon, les éluats peuvent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 1 mois maximum. Pour un stockage de longue durée, placer les éluats à –20 °C ou à –80 °C. Les éluats congelés ne doivent pas être dégelés plus de trois fois.

Synthèse du protocole

Tableau 1. Synthèse du protocole

Échantillon	Volume d'échantillon (µl)	Volume d'éluion (µl)	Protocole QIASymphony SP
Plasma, urine	2.000	60	circDNA_2000_DSP
	4.000	60	circDNA_4000_DSP

Remarques importantes avant de commencer

- S'assurer de bien connaître le fonctionnement du QIASymphony SP. Pour connaître les consignes de fonctionnement, se reporter aux manuels d'utilisation fournis avec l'appareil.
- Les opérations facultatives de maintenance ne sont pas indispensables au fonctionnement de l'appareil, mais sont fortement recommandées pour réduire le risque de contamination.
- Avant de commencer la procédure, lire « Principes de la procédure », page 4.
- Veiller à prendre connaissance de la fiche du protocole correspondant à la procédure à réaliser. (Les fiches de protocole sont disponibles dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.)
- Éviter l'agitation énergétique de la cartouche de réactifs (RC) afin de ne pas former de mousse, source potentielle de problèmes de détection du niveau de liquide.
- Avant de commencer un traitement préalable utilisant le tampon ATL, vérifier l'absence de précipité dans le tampon. Si nécessaire, dissoudre le précipité par un chauffage à 70 °C au bain-marie sous agitation modérée. Aspirer les bulles formées à la surface du tampon ATL.

Étapes préliminaires

- Avant de commencer la procédure, veiller à la remise en suspension complète des particules magnétiques. Avant la première utilisation, mélanger énergiquement le compartiment des particules magnétiques au vortex pendant au moins 3 minutes.
- Vérifier que le couvercle perforateur se trouve sur la cartouche de réactifs et que le couvercle du compartiment des particules magnétiques a été retiré ou, en cas d'utilisation d'une cartouche entamée, que les bandelettes d'étanchéité ont été retirées.
- La protéinase K n'est pas incluse dans la cartouche de réactifs ; elle doit être fournie par l'utilisateur (tiroir à échantillons, fente A, positions 1 et/ou 2). Vérifier que le volume correct de protéinase K est disponible. (Pour obtenir des informations détaillées, voir la fiche de protocole, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.)
- Si les échantillons portent un code-barres, les orienter dans le porte-tubes de manière à ce que les codes-barres se trouvent face au lecteur, à gauche du QIASymphony SP.
- Pour plus d'informations sur les tubes d'échantillon compatibles avec un protocole particulier, voir la liste du matériel de laboratoire correspondante, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.
- Pour plus d'informations sur les volumes d'échantillon minimum dans les tubes secondaires, voir la liste du matériel de laboratoire correspondante, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

Protocole : purification de l'ADN libre circulant

Il s'agit d'un protocole général adapté aux kits QIASymphony DSP. Des informations détaillées sur chaque protocole, y compris les volumes et les tubes, sont fournies dans les fiches de protocole, disponibles dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

1. Fermer tous les tiroirs et le capot.

2. Mettre le QIAsymphony SP sous tension et attendre que l'écran **Sample Preparation** (préparation des échantillons) apparaisse, puis la fin de la procédure d'initialisation. L'interrupteur d'alimentation est situé dans le coin inférieur gauche de l'appareil.
3. Se connecter à l'appareil.
4. Charger le portoir d'éluotion requis dans le tiroir à éluats « Eluate ».
Ne pas utiliser de plaque de 96 puits dans la fente d'éluotion 4 « Elution slot 4 ». La fente d'éluotion 1 « Elution slot 1 » doit être utilisée, avec le support réfrigérant correspondant.
En cas d'utilisation d'une plaque de 96 puits, veiller à bien orienter la plaque pour éviter le mélange des échantillons lors des analyses en aval.
En cas d'utilisation du portoir Elution Microtubes CL (Portoir de microtubes d'éluotion CL), retirer la partie inférieure en tournant le portoir jusqu'à ce que la base se libère.
5. Veiller à préparer correctement le tiroir à la poubelle (« Waste »), puis lancer un inventaire de ce tiroir, y compris du sachet pour cônes usagés et du flacon à déchets liquides. Si nécessaire, remplacer le sachet pour cônes usagés.
6. Charger la ou les cartouches de réactifs et les consommables nécessaires dans le tiroir à réactifs et consommables « Reagents and Consumables ».
7. Lancer l'inventaire du tiroir à réactifs et consommables « Reagents and Consumables ».
8. Placer les échantillons sur le porte-échantillons adapté et les charger dans le tiroir à échantillons « Sample ».
9. Sur l'écran tactile, saisir les informations demandées pour chaque lot d'échantillons et pour la protéinase K à traiter.
Saisir les informations suivantes :
 - Informations relatives aux échantillons (selon les portoirs utilisés)
 - Protocole à effectuer (jeu de contrôles d'analyse)
 - Volume d'éluotion et position de sortieUne fois les informations sur le lot saisies, l'état passe de **LOADED** (CHARGÉ) à **QUEUED** (DANS LA FILE D'ATTENTE). Dès qu'un lot est placé dans la file d'attente, le bouton **Run** (exécuter) apparaît.

10. Placer la protéinase K sur le porte-échantillons adapté en positions 1 et 2 et les charger dans la fente A du tiroir à échantillons « Sample ».

11. Définir la protéinase K en appuyant sur le bouton **IC**.

12. Appuyer sur le bouton **Run** pour lancer la purification.

Toutes les étapes de traitement sont entièrement automatisées. À la fin du cycle, l'état du lot passe de **RUNNING** (EN COURS DE TRAITEMENT) à **COMPLETED** (TERMINÉ).

13. Récupérer le portoir d'éluion contenant les acides nucléiques purifiés du tiroir à éluats « Eluate ».

14. L'ADN est prêt à l'emploi ou peut être conservé entre 2 et 8 °C, à -20 °C ou à -80 °C.

Il est recommandé de retirer la plaque d'éluats du tiroir à éluats « Eluate » dès la fin du cycle. Selon la température et le degré d'humidité, les plaques d'éluats laissées sur le QIASymphony SP après un cycle peuvent subir une condensation ou une évaporation.

En général, les particules magnétiques ne forment pas de résidus dans les éluats. En cas de résidus, les particules magnétiques dans les éluats n'affecteront pas la plupart des applications en aval.

Si les particules magnétiques doivent être supprimées avant l'exécution des applications en aval, il convient d'abord de placer les tubes ou les plaques contenant les éluats dans un aimant approprié et de transférer les éluats dans un tube propre (voir « Annexe : quantification de l'ADN libre circulant », page 30).

Des fichiers de résultats sont créés pour chaque plaque d'éluats.

15. Si la cartouche de réactifs n'est pas vide, la sceller avec les bandelettes d'étanchéité réutilisables fournies après la fin du cycle pour éviter l'évaporation.

Remarque : Pour plus d'informations sur le stockage des cartouches de réactifs (RC) entamées, voir « Stockage et manipulation des réactifs », page 12.

16. Mettre au rebut les tubes d'échantillon et autres déchets conformément aux règles de sécurité locales.

Voir « Avertissements et précautions », page 10, pour les informations de sécurité.

17. Nettoyer le QIASymphony SP.

Suivre les consignes de maintenance du manuel d'utilisation fourni avec l'appareil.
Veiller à nettoyer régulièrement les protège-cônes afin de minimiser le risque de contamination croisée.

18. Fermer les tiroirs de l'appareil et mettre HORS TENSION le QIASymphony SP.

Contrôle de la qualité

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

Limites

La performance du système a été établie lors d'études d'évaluation de la performance en purifiant de l'ADN libre circulant humain à partir d'urine et de plasma humains.

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

Afin de limiter les risques d'impact négatif sur les résultats diagnostiques, les contrôles adéquats doivent être utilisés 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.

Symboles

Les symboles figurant dans le tableau suivant incluent des symboles utilisés dans ces instructions d'utilisation.



<N>

Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions



À utiliser avant



Dispositif médical de diagnostic in vitro



Référence



Numéro de lot



Référence du matériel (c.-à-d. étiquetage du composant)



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



Contient (contenu)



Nombre (p. ex., flacons, bouteilles)

GTIN

Code d'article international

Rn

R désigne une révision des instructions d'utilisation (manuel) et n représente le numéro de révision



Limites de température



Fabricant



Lire les informations dans le manuel



Attention

PROTK

Protéinase K

WELL

Numéro du puits (c.-à-d. puits de la cartouche de réactifs)

REAG **CART**

Cartouche de réactifs

Sodium azide

Azide de sodium

Guide de résolution des principaux problèmes rencontrés

Ce guide de résolution des principaux problèmes rencontrés peut aider à répondre à certaines questions qui peuvent se poser. Pour les coordonnées, voir quatrième de couverture ou le site www.qiagen.com.

Commentaires et suggestions

Manipulation générale

Message d'erreur affiché sur l'écran tactile	En cas d'affichage d'un message d'erreur pendant un protocole, se reporter aux manuels d'utilisation fournis avec l'appareil.
--	---

Précipité dans un compartiment de réactif de la cartouche entamée du kit QIASymphony DSP

- | | |
|--|---|
| a) Évaporation du tampon | Une évaporation excessive peut augmenter la concentration en sel dans les tampons. Jeter la cartouche de réactifs (RC). Lorsqu'une cartouche de réactifs entamée n'est pas utilisée, veiller à ce que les compartiments contenant les tampons soient scellés avec des bandelettes d'étanchéité. |
| b) Stockage de la cartouche de réactifs (RC) | Le stockage de la cartouche de réactifs (RC) à moins de 15 °C peut provoquer la formation de précipités. |

Faible rendement en ADN

- | | |
|---|---|
| a) Remise en suspension incomplète des particules magnétiques | Avant de commencer la procédure, s'assurer de la remise en suspension complète des particules |
|---|---|

Commentaires et suggestions

- magnétiques. Avant emploi, mélanger au Vortex pendant au moins 3 minutes.
- b) Obstruction du cône de pipette par une substance insoluble
- La substance insoluble n'a pas été éliminée de l'échantillon avant la purification sur QIAAsymphony.
- Si nécessaire, utiliser les procédures de traitement préalable décrites dans la fiche de protocole correspondante, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse **www.qiagen.com**.
- c) L'échantillon contient une faible concentration d'ADN libre circulant
- En raison des très faibles quantités d'ADN libre circulant dans l'échantillon, il est possible que la concentration en ADN ne soit pas détectée, selon la méthode de quantification utilisée.
- Il est recommandé d'employer une qPCR sensible pour vérifier la concentration en ADN dans les éluats.
- d) Refermeture incomplète de la cartouche de réactifs
- Les échanges avec l'air environnant peuvent provoquer une baisse de stabilité des tampons, conduisant à une extraction moins efficace de l'ADNlc avec une cartouche de réactifs (RC) partiellement utilisée. Lorsqu'une cartouche de réactifs entamée n'est pas utilisée pour la purification, veiller à ce que les compartiments contenant les tampons soient soigneusement scellés avec des bandelettes d'étanchéité.

Commentaires et suggestions

- e) Dégradation rapide de l'ADN libre circulant dans un échantillon d'urine non stabilisée
- En raison de la dégradation rapide de l'ADN libre circulant dans des échantillons d'urine non stabilisée après recueil, il est possible que la détection de la concentration en ADN dans les éluats soit nulle ou faible. Il est recommandé de stabiliser l'échantillon d'urine, comme le décrit la fiche de protocole correspondante.

Une autre solution consiste à soumettre les échantillons d'urine à un traitement préalable par tampon ATL immédiatement après recueil et centrifugation, suivi d'une extraction d'ADN sur l'appareil, comme le décrit la fiche de protocole correspondante.

Transfert d'échantillon absent/incomplet

- a) Un volume d'échantillon incorrect est chargé
- Si des volumes d'échantillon inférieurs à 2,4 ml et à 4,5 ml, respectivement, sont chargés, il existe un risque accru d'attribution d'un indicateur équivoque à l'échantillon ou d'absence de transfert de l'échantillon (attribution d'un indicateur non valide).

Charger le volume d'échantillon correct, comme indiqué dans la liste du matériel de laboratoire correspondante. Si la quantité d'échantillon disponible est insuffisante, ajouter une SSTP à l'échantillon jusqu'à obtenir le volume requis avant de le charger.

Commentaires et suggestions

- b) Bulles et/ou mousse dans le tube d'échantillon
- La présence de bulles ou de mousse dans l'échantillon et/ou dans le tube de volume d'échantillon peut entraîner une détection erronée du niveau de liquide, et conduire à un transfert d'échantillon incomplet. Éliminer les bulles du tube d'échantillon.

Bulles visibles sur les cônes pendant le cycle de l'appareil

Utilisation du matériel de laboratoire FIX et d'un volume d'échantillon réduit

Si des volumes d'échantillon inférieurs à 2,1 ml et à 4,1 ml, respectivement, sont chargés en utilisant du matériel de laboratoire FIX, il existe un risque accru de transfert insuffisant du volume d'échantillon, qui n'est pas détecté par l'appareil. Cela peut provoquer la formation de bulles pendant le transfert de l'échantillon et/ou l'étape de liaison consécutive.

Charger le volume d'échantillon correct, comme indiqué dans la liste du matériel de laboratoire correspondante en cas d'utilisation du matériel de laboratoire FIX. Si la quantité d'échantillon disponible est insuffisante, ajouter une SSTP à l'échantillon jusqu'à obtenir le volume requis avant de le charger.

Annexe : quantification de l'ADN libre circulant

En raison des très faibles concentrations en ADN libre circulant dans les échantillons, il est déconseillé de mesurer l'ADN avec un spectrophotomètre. Pour déterminer la concentration en ADN libre circulant, un test de quantification par fluorescence sensible et précis ou un test de PRC en temps réel doit être utilisé.

Si les particules magnétiques doivent être retirées, appliquer le tube contenant l'ADN à un séparateur magnétique approprié (par exemple, QIAGEN 12-Tube Magnet [aimant de tube de calibre 12], référence 36912) jusqu'à séparation des particules magnétiques.

Si l'ADN se trouve dans des microplaques, appliquer la microplaque à un séparateur magnétique approprié (par exemple, QIAGEN 96-Well Magnet Type A [aimant QIAGEN à 96 puits de type A], référence 36915) jusqu'à séparation des particules magnétiques. En l'absence de séparateur magnétique approprié, centrifuger le tube contenant l'ADN pendant 1 minute à vitesse maximum dans une microcentrifugeuse afin de culoter toute particule magnétique restante.

Pour commander

Produit	Contenu	Référence
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	2 cartouches de réactifs, tubes de protéinase K et accessoires inclus	937556
QIASymphony SP		
QIASymphony SP	Module de préparation des échantillons QIASymphony, garantie 1 an pièces et main-d'œuvre	9001297
Produits assimilés		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml de tampon ATL pour le traitement préalable des échantillons d'urine	939016
Proteinase K (10 ml)	1 flacon de 10 ml	1105392
Reagent Cartridge Holder (2)	Support pour cartouche de réactifs à utiliser sur QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Support réfrigérant pour tubes de 2 ml à bouchon à vis. À utiliser avec le tiroir à éluats « Eluate » QIASymphony	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Support réfrigérant pour portoirs EMT. À utiliser avec le tiroir à éluats « Eluate » QIASymphony	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Support réfrigérant pour tubes LoBind à bouchon pression Safe-Lock d'Eppendorf® de 1,5 ml. À utiliser avec le tiroir à éluats « Eluate » QIASymphony	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Cartouches de préparation des échantillons à 8 puits à utiliser sur le QIASymphony SP	997002

Produit	Contenu	Référence
8-Rod Covers (144)	Manchons pour 8 barreaux à utiliser sur le QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Cônes munis de filtres jetables, sur portoirs (8 x 128). À utiliser sur QIAcube® et QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Cônes munis de filtres jetables, sur portoirs (8 x 128). À utiliser sur le QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Sachets de récupération des cônes usagés à utiliser sur QIASymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Aimant pour la séparation des particules magnétiques dans 12 tubes de 1,5 ml ou 2 ml	36912
96-Well Magnet Type A	Aimant pour la séparation des particules magnétiques dans les puits des plaques de 96 puits, 2 microplaques FB de 96 puits	36915
Reuse Seal Set (20)	Bandelettes d'étanchéité pour sceller les cartouches de réactifs QIASymphony entamées	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Tubes en polypropylène non stériles (volume maximal de 0,85 ml, volume de stockage inférieur à 0,7 ml, volume d'éluion de 0,4 ml), 2.304 tubes sur portoirs de 96 unités, avec bouchons	19588

Pour obtenir les dernières informations sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN respectif. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse

www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des QIAGEN Technical Services ou du distributeur local.

L'achat de ce produit permet à l'acheteur de l'utiliser pour poser des diagnostics humains in vitro. Aucun brevet général ni licence d'aucune sorte autre que ce droit spécifique d'utilisation à l'achat n'est accordé par la présente.

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIACube® [Groupe QIAGEN] ; Eppendorf® [Eppendorf AG].

Les noms déposés, les marques de commerce, etc., cités dans le présent document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

Contrat de licence limité pour le kit QIASymphony DSP Circulating DNA

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur du produit consent aux conditions suivantes :

1. Le produit ne doit être utilisé que conformément aux protocoles fournis et à ce manuel, 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 les protocoles fournis avec le produit, le présent manuel et les autres protocoles disponibles sur le site www.qiagen.com. Certains de ces protocoles supplémentaires ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour les utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été testés de manière approfondie ni optimisés par QIAGEN. QIAGEN n'offre aucune garantie sur eux ni aucune garantie qu'ils n'enfreignent pas les droits de tiers.
2. Hormis les licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce kit et/ou son(ses) 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 toute licence, expresse ou tacite, autre 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 dans les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de ce Contrat de licence limité par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de ce Contrat de licence limité 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.

HB-2309-002 1103177FR 157018501 03/2017

© 2017 QIAGEN, tous droits réservés.

