



Juillet 2024

Fiche technique

# Kit QIAcuityDx<sup>®</sup> Universal MasterMix

Version 1

**IVD**

Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro

Utilisation prévue en laboratoire



**REF**

260101, 260102



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

R1

**MAT**

1134829FR

# Table des matières

Contenu du kit .....	3
Transport et conservation.....	4
Stabilité à l'utilisation .....	4
Utilisation prévue .....	5
Ingrédients actifs .....	5
Symboles.....	6
Informations de sécurité.....	8
MasterMix universel .....	9
Informations d'urgence .....	9
Description et principe.....	10
Remarques avant de commencer .....	11
Procédure.....	14
Mise au rebut .....	18
Contrôle de la qualité.....	19
Limitations .....	20
Résolution de problèmes .....	21
Informations sur les commandes.....	24
Historique des révisions du document .....	25

# Contenu du kit

<b>N° de réf. Kit</b>	<b>260101 1 mL</b>	<b>260102 5 mL</b>
QIAcuityDx Universal MasterMix	1 x 1 180 µL	5 x 1 180 µL
MgCl <sub>2</sub> , 200mM	1 x 1 000 µL	2 x 1 000 µL
RNase-free water	2 x 1,9 mL	5 x 1,9 mL

# Transport et conservation

Le kit QIAcuityDx Universal MasterMix est expédié sur un lit de carboglace. Dès réception, le stocker entre -30 °C et -15 °C dans un congélateur à température constante. Si l'un des composants du kit QIAcuityDx Universal MasterMix n'est pas congelé à réception, que l'emballage extérieur a été ouvert au cours du transport, que le colis ne contient pas de notice d'emballage, de mode d'emploi ou de réactifs, contacter les services techniques ou l'un des distributeurs locaux QIAGEN (voir le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

Dans des conditions de stockage adéquates, le kit QIAcuityDx Universal MasterMix est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette.

Ne pas utiliser s'il a été stocké en dehors des spécifications, si l'emballage a été endommagé ou si d'autres signes de détérioration ou de dysfonctionnement sont visibles.

## Stabilité à l'utilisation

Une fois ouverts, les réactifs peuvent être stockés dans leur emballage d'origine à une température comprise entre -30 et -15 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage. Éviter les cycles de congélation et décongélation à répétition. Ne pas dépasser un maximum de cinq cycles de congélation/décongélation.

Les réactifs doivent être décongelés à température ambiante (15 à 25 °C) pendant 30 minutes avant utilisation.

# Utilisation prévue

Le kit QIAcuityDx Universal MasterMix est un ensemble de réactifs de Master Mix de dPCR à usage général prêt à l'emploi, à utiliser avec l'instrument QIAcuityDx Four en combinaison avec des réactifs spécifiques au dosage associé dans le cadre de procédures de test de diagnostic validées.

Le kit QIAcuityDx Universal MasterMix n'est pas un dispositif automatisé et est destiné à une utilisation en laboratoire par du personnel qualifié.

Le kit QIAcuityDx Universal MasterMix est destiné à un usage de diagnostic in vitro.

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.

## Ingrédients actifs

Réactif	Nom	Ingrédient actif	Concentration (% p/p)
Master Mix	QIAcuityDx Universal MasterMix	ADN polymérase QuantiNova® (5,6 U/μL)	12 %
		Mélange dNTP (10 mM chacun)	10 %
Chlorure de magnésium	MgCl <sub>2</sub> , 200 mM	Aucun	–
Eau	RNase-free water	Aucun	–

# Symboles

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



Ce produit est conforme aux exigences de la réglementation européenne (UE) 2017/746 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (IVDR).



Dispositif médical de diagnostic in vitro



Numéro de référence



Référence produit



Numéro de lot



Code article international



Identificateur unique d'appareil



Contient



Composant



Numéro



Date de fabrication

**R<sub>n</sub>**

R indique qu'il s'agit d'une révision de la fiche technique et n indique le numéro de révision

**V<sub>n</sub>**

V indique la version de la fiche technique et n indique le numéro de la version



Date limite d'utilisation



Limites de température



Fabricant légal



Consulter le mode d'emploi



<N>

Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions



Conserver à l'abri de la lumière



Avertissement



Danger pour la santé

# Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter un sarrau de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, veiller à consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Celles-ci sont disponibles en ligne dans un format PDF pratique et compact sur le site [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) répertoriant les FDS imprimables pour chaque kit QIAGEN® et chaque composant.

Noter qu'il peut être nécessaire de consulter la réglementation locale avant de signaler tout incident grave survenant en lien avec l'instrument au fabricant et à l'organisme de régulation du pays de l'utilisateur et/ou du patient.

Les prélèvements et les échantillons sont potentiellement infectieux. Jeter les échantillons et les dosages usagés conformément aux procédures de sécurité locales.

Le kit QIAcuityDx Universal MasterMix contient de l'ADN polymérase QuantiNova, qui est produit par un processus de fermentation bactérienne. L'enzyme est purifiée des microbes à la fin du traitement pour éliminer toute source résiduelle de matière potentiellement infectieuse.



## MasterMix universel



Contient : 2-méthylisothiazole-3(2H)-one ; 1,2,4-triazole. Peut provoquer une allergie cutanée. Peut nuire à la fertilité ou au fœtus. Consulter les instructions spéciales avant utilisation. Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions en matière de sécurité. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. En cas d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin. Garder sous clef. Mettre au rebut le contenu/réceptacle dans une installation de traitement des déchets agréée.

---

## Informations d'urgence

CHEMTREC

États-Unis et Canada : 1-800-424-9300

Hors États-Unis et Canada : +1 703-527-3887

## Description et principe

Le kit QIAcuityDx Universal MasterMix comprend un Master Mix dPCR prêt à l'emploi contenant des produits chimiques réactifs dans un tampon PCR et un colorant de référence exclusif, ainsi que des tubes séparés de 200 mM de chlorure de magnésium ( $MgCl_2$ ) 100 % p/p et d'eau sans RNase 100 % p/p.

Une liste complète du matériel à utiliser avec le kit QIAcuityDx Universal MasterMix est disponible dans le *manuel d'utilisation du système QIAcuityDx*.

Ce protocole est optimisé pour la quantification de cibles d'ADN ou d'ADNc à l'aide du kit QIAcuityDx Universal MasterMix avec des sondes TaqMan® dans une réaction simple ou multiplex sur le système QIAcuityDx.

## Remarques avant de commencer

- Un colorant fluorescent est fourni en tant que composant du kit QIAcuityDx Universal MasterMix pour une détection fiable du remplissage correct des portions dans les nanoplaques QIAcuityDx compatibles.
- Pour obtenir la meilleure efficacité du dosage dPCR avec des sondes TaqMan, les amplicons doivent idéalement mesurer entre 60 et 150 bp. Comme pour la qPCR, des amplicons plus longs peuvent également être utilisés, mais les performances du dosage peuvent être altérées.
- Avant de procéder aux analyses multiplex, sélectionner des combinaisons appropriées de colorants rapporteurs et de quencher compatibles avec des analyses multiplexes utilisant les éléments de détection optique de l'instrument QIAcuityDx Four (voir le Tableau 1).

**Important :** une correction des interférences intégrée est appliquée aux images générées par l'instrument QIAcuityDx Four. Cette correction vise à minimiser les effets de chevauchement spectral entre les canaux optiques et les fluorophores avoisinants. L'utilisation de colorants non pris en charge peut entraîner une correction des interférences sous-optimale.

**Tableau 1. Canaux optiques et fluorophores pris en charge pour l'instrument QIAcuityDx Four**

Canal	Excitation (nm)	Émission (nm)	Fluorophores pris en charge
Green	463 à 503	518 à 548	FAM™
Yellow	514 à 535	550 à 564	HEX™
Orange	543 à 565	580 à 606	TAMRA™
Red	570 à 596	611 à 653	ROX™
Crimson	590 à 640	654 à 692	Cy5®

- Des quenchers non fluorescents doivent être utilisés avec chaque sonde. Des sondes doublement quenchées peuvent être utilisées pour améliorer les rapports signal/bruit dans certains dosages.
- Il est recommandé de commencer le développement du dosage avec les conditions de réalisation des cycles et les concentrations d'amorces spécifiées dans ce protocole. Les conditions de réalisation du cycle de PCR doivent commencer par une première étape d'incubation de 2 minutes à 95 °C pour activer l'ADN polymérase QuantiNova dans le kit QIAcuityDx Universal MasterMix.
- Pour une utilisation simplifiée, nous recommandons de préparer le mélange de sondes-amorces avec une concentration 10x ou supérieure, contenant des amorces et une sonde spécifiques à la cible pour chacune de vos cibles. Un mélange de sondes-amorces avec une concentration 10x se compose de 1 à 8 µM d'amorce avant, de 1 à 8 µM d'amorce inverse et de 0,5 à 4 µM de sonde dans un tampon TE avec une faible teneur en EDTA (0,1 mM).
- La matrice d'ADN d'une longueur moyenne > 30 kb est susceptible de devoir être fragmentée par digestion avec des enzymes de restriction avant la séparation. La fragmentation enzymatique de l'ADN plus volumineux garantit une distribution uniforme de la matrice dans la nanoplaque compatible QIAcuityDx, pour une quantification précise et exacte. La digestion avec des enzymes de restriction n'est pas nécessaire pour l'ADN hautement fragmenté (par exemple, l'ADN FFPE ou l'ADN circulant) ou l'ADNc. Il convient de veiller à utiliser des enzymes qui ne couperont pas la séquence amplifiée, c'est pourquoi des enzymes de restriction sont recommandées.
- Les quantités d'échantillons introduites doivent être basées sur les numéros de séparation des nanoplaques, avec une limite supérieure de 5 copies par séparation lorsqu'une détection basée sur la sonde TaqMan est utilisée (Tableau 2). La plage idéale de copies/séparations se situe entre 0,5 et 3. Si le nombre de copies ne peut pas être déterminé avant le début de l'expérience, il convient de réaliser une expérience de titrage initiale pour déterminer la quantité optimale d'échantillons à insérer.

**Tableau 2. Nombre maximum de copies par réaction et par type de plaque**

Type de plaque	Nombre de séparations	Limite supérieure de copies par réaction	Volume analysé (µL)	Volume réactionnel total (µL)	Nombre max. de copies par volume analysé	Nombre max. estimé de copies par réaction
Nanoplaques 8,5 k	8 500	5	2,9	13	42 500	170 000
Nanoplaques 26 k	26 000	5	24,0	42	130 000	217 000

# Procédure

1. Décongeler le QIAcuityDx Universal MasterMix, le chlorure de magnésium, l'ADN ou ADNc matriciel, le mélange de sondes-amorces et l'eau sans RNase à température ambiante pendant 30 minutes maximum.
2. Mélangez chacune des solutions par vortexage à pleine vitesse pendant 3 à 5 secondes. Les tubes doivent être centrifugés brièvement après le mélange pour rassembler le liquide au fond des tubes.
3. Préparer un Master Mix de dosage pour le nombre de réactions nécessaires en fonction du Tableau 3, moins la matrice/le témoin sans matrice (NTC). Il n'est pas nécessaire de conserver les échantillons sur la glace pendant la préparation de la réaction ou les étapes ultérieures.

**Tableau 3. Préparation du Master Mix de dosage recommandée**

Composant	Volume/puits (nanoplaques 8,5 k à 24/96 puits)	Volume/puits (nanoplaques 26 k à 24 puits)	Concentration finale
QIAcuityDx Universal MasterMix	3,3 µL	11 µL	1x
MgCl <sub>2</sub> , 200 mM	0,41 µL*	1,38 µL*	6,28 mM*
Mélange de sondes-amorces, 10x (par dosage)†	1,32 µL†	4,4 µL†	0,1 à 0,8 µM d'amorce avant 0,1 à 0,8 µM d'amorce inverse 0,05 à 0,4 µM de sonde
Enzyme de restriction (facultatif)	Jusqu'à 1 µL	Jusqu'à 1 µL	0,025 à 0,25 U/µL
RNase-free water	Variable	Variable	
ADN ou ADNc matriciel (ajouté à l'étape 5)	Variable‡	Variable‡	
<b>Total</b>	<b>13,2 µL</b>	<b>44 µL</b>	

\*Concentration initiale recommandée, le volume peut varier en fonction de l'optimisation.

†Le volume peut varier en fonction de la concentration du mélange de sondes-amorces utilisé et de la concentration cible finale.

‡Les quantités matricielles appropriées dépendent de divers paramètres, voir Remarques avant de commencer.

- Mélanger le Master Mix par vortexage à pleine vitesse pendant 3 à 5 secondes. Centrifuger brièvement.
- Distribuer des volumes appropriés du Master Mix de dosage, qui contient tous les composants à l'exception de la matrice/du témoin sans matrice (NTC) dans les puits d'une plaque de PCR standard ou dans des tubes Lo-Bind. Ajouter ensuite l'ADN matriciel/le NTC dans chaque puits/tube au volume approprié selon le dosage (voir Remarques avant de commencer).

**Remarque :** pour la RT-PCR en 2 étapes, le volume d'ADNc ajouté (provenant de la réaction de transcription inverse non diluée) ne doit pas dépasser 15 % du volume final de la PCR.

6. Mélanger le sous-mélange (Master Mix de dosage et matrice) dans une plaque de PCR en pipétant de haut en bas 10 fois dans le puits, ou dans un tube par vortexage à pleine vitesse pendant 3 à 5 secondes. Centrifuger brièvement la plaque/le tube afin de rassembler le liquide au fond du puits/tube.

7. Transférer immédiatement le contenu de chaque puits/tube dans les puits de la nanoplaque.

**Remarque :** s’assurer qu’aucune bulle d’air n’est créée pendant le transfert vers la nanoplaque en pipétant jusqu’au premier arrêt. S’assurer de pipeter le mélange dans le puits d’entrée et non dans le puits de sortie. Pour éviter d’endommager la surface optique et pour réduire la poussière qui interférerait avec l’imagerie et l’analyse des résultats, nous recommandons de placer la nanoplaque dans un plateau de nanoplaques avant de pipeter le mélange réactionnel dans la nanoplaque. Le plateau de nanoplaques doit être nettoyé au préalable avec un chiffon non pelucheux avant utilisation.

8. Sceller correctement les nanoplaques à l’aide du joint de nanoplaque fourni dans les kits de plaques.

**Remarque :** pour connaître la procédure de scellement exacte, consulter le *manuel d’utilisation du système QIAcuityDx*.

9. Si une enzyme de restriction pour la digestion de l’ADN a été incluse dans la réaction, laisser la plaque à température ambiante pendant 10 minutes.

10. Programmer le cycleur de l’instrument QIAcuityDx Four comme indiqué dans le Tableau 4.

**Tableau 4. Conditions de réalisation des cycles de dPCR recommandées**

Étape	Durée	Température (°C)	Nbre de cycles
Activation thermique initiale pour la PCR	2 min	95	1
Dénaturation	15 s	95	40*
Renaturation/élongation combinées*	30 s*	60	

\*La température/durée/le nombre de cycles peut varier en fonction du type de dosage



11. Positionner la nanoplaque dans l'instrument QIAcuityDx Four et démarrer le programme de dPCR conformément au *manuel d'utilisation du système QIAcuityDx*.

## Mise au rebut

Mettre au rebut les produits utilisés et non utilisés dans le respect des réglementations locales et nationales. Suivre les recommandations de la fiche de données de sécurité (FDS).

# Contrôle de la qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot du kit QIAcuityDx Universal MasterMix est testé selon des spécifications prédéterminées afin d'assurer une qualité constante du produit.

## Limitations

Les performances du kit QIAcuityDx Universal MasterMix ont été établies avec les dosages QIAGEN en aval applicables. Veuillez consulter les modes d'emploi respectifs des applications vers l'aval respectives de QIAGEN pour des instructions détaillées sur la manipulation de ce produit dans le flux de travail correspondant.

L'utilisateur est responsable de la validation des performances des dosages utilisés dans son laboratoire qui ne sont pas 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 approfondie, il est conseillé de suivre la directive suivante : « *International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) in ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology* ».

Le kit QIAcuityDx Universal MasterMix n'est pas produit selon des procédures de fabrication stériles ; il peut donc contenir d'autres ingrédients susceptibles d'influencer la mesure. Les applications en aval doivent inclure des contrôles adéquats si cela augmente les risques d'impact négatif sur le résultat diagnostique.

# Résolution de problèmes

Cette section fournit des informations sur la marche à suivre en cas de problèmes lors de l'utilisation du kit QIAcuityDx Universal MasterMix. Si une assistance supplémentaire est nécessaire, contacter les services techniques QIAGEN en utilisant les coordonnées ci-dessous, qui dirigeront l'utilisateur vers les coordonnées spécifiques à son pays :

Site Web : [support.qiagen.com](https://support.qiagen.com)

## Problème

## Commentaires et suggestions

### Amplification du NTC

Conception du dosage	Repenser les amorces/sondes. Optimiser les conditions de dosage en variant la concentration du mélange de sondes-amorces et la concentration de $MgCl_2$ .
Contamination dans les réactifs	Jeter les réactifs, répéter le dosage en utilisant de nouveaux réactifs.
Contamination dans la préparation du dosage.	Prendre des précautions contre la contamination en décontaminant la zone de travail à l'aide de produits nettoyants appropriés.

### Pas d'amplification

Conditions de PCR non optimisées	Augmenter la durée de dénaturation initiale. Augmenter la durée de renaturation/d'élongation.
Matrice de départ insuffisante	Augmenter la quantité/concentration de la matrice de départ ajoutée au Master Mix du dosage.

### Indicateur de saturation

Sursaturation des sondes	Diminuer la durée d'exposition dans les paramètres d'imagerie. Diminuer le gain dans les paramètres d'imagerie.
--------------------------	--

### Séparation insuffisante entre les ensembles positifs et négatifs

Conception du dosage	Optimiser les conditions de dosage en variant la concentration du mélange de sondes-amorces et la concentration de $MgCl_2$ . Passer aux sondes TaqMan doublement quenchées pour augmenter le rapport signal/bruit.
Conditions de PCR non optimisées	Augmenter la durée de dénaturation initiale. Augmenter la durée de renaturation/d'élongation.

### Différences observées dans les valeurs absolues de quantification entre les cycles d'exécution

Ajout insuffisant de QIAcuityDx Universal MasterMix	Veiller à ce que la concentration finale de QIAcuityDx Universal MasterMix dans le sous-mélange soit de 1x (à partir de la solution mère 4x).
Variation de la durée de décongélation/préparation	Des durées de décongélation/préparation prolongées peuvent avoir un impact négatif sur les valeurs de quantification absolues. Pour des performances optimales, les réactifs doivent être décongelés pendant 30 minutes maximum et une fois le sous-mélange (Master Mix de dosage + matrice) préparé, il doit être immédiatement chargé sur la nanoplaque. Si des durées de décongélation/préparation prolongées sont nécessaires, les réactifs doivent être protégés pour chaque dosage afin de garantir que tout changement dans la quantification absolue n'affecte pas les résultats finaux.

## Problème

## Commentaires et suggestions

---

Conditions de PCR non optimisées

Optimiser la température de dénaturation.

Optimiser la température de renaturation/extension.

## Résultats incohérents entre les puits de nanoplaques

Conditions de PCR non optimisées

Optimiser la durée d'activation en l'augmentant de 2 minutes à 15 minutes.

# Informations sur les commandes

Produit	Contenu	N° de réf.
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1 mL)	Pour la préparation d'un maximum de quatre nanoplaques QIAcuityDx : 1 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 1 x MgCl <sub>2</sub> , 200 mM, 2 x eau sans RNase	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5 mL)	Pour la préparation d'un maximum de vingt nanoplaques QIAcuityDx : 5 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 2 x MgCl <sub>2</sub> , 200 mM, 5 x eau sans RNase	260102

Les produits doivent être manipulés avec le plus grand soin et la plus grande attention. Nous recommandons à tous les utilisateurs de produits QIAGEN® de suivre toutes les réglementations locales applicables, ainsi que de suivre toutes les normes et directives applicables.



# Historique des révisions du document

Date	Changements
R1, juillet 2024	Version initiale

## Contrat de licence limité pour le QIAcuityDx® Universal MasterMix 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 mode d'emploi. 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 mode d'emploi et dans d'autres protocoles disponibles sur le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Certains de ces protocoles supplémentaires ont été fournis par les utilisateurs de QIAGEN pour les utilisateurs de QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne saurait être tenu pour responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tierces parties.
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 limité par tout tribunal et pourra recouvrir tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de Contrat de licence limité ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au panel et/ou à ses composants.

Pour les termes de licence mis à jour, voir [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcuityDx®, QuantiNova® (groupe QIAGEN) ; Cy® (GE Santé) ; Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc.) ; FAM™, HEX™, ROX™, TAMRA™, (Thermo Fisher Scientific ou ses sociétés affiliées). Les noms déposés, les marques de commerce, 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.

07/2024 HB-3592-001 © 2024 QIAGEN, tous droits réservés.

Cette page est intentionnellement laissée vierge.

Cette page est intentionnellement laissée vierge.

Cette page est intentionnellement laissée vierge.

