

Instructions d'utilisation (fiche de protocole) du QIAsymphony[®] DSP Circulating DNA Kit

circDNA_2000_DSP_V2 et circDNA_4000_DSP_V2

Version 2

IVD

Pour utilisation diagnostique in vitro

À utiliser avec le QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit



REF

937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne

R1

La fiche de protocole est disponible sous forme électronique et se trouve dans l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

Informations générales

Pour utilisation diagnostique in vitro.

Ce protocole s'applique à la purification de l'ADN libre circulant humain réalisée à partir d'urine et de plasma humains frais ou congelés avec QIASymphony DSP Circulating DNA Kit et l'instrument QIASymphony SP.

Kit	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit	
N° de réf.	937556	
Matériel d'échantillonnage	Plasma humain : <ul style="list-style-type: none">Des tubes de prélèvement sanguin avec des stabilisateurs de profil d'ADNlc (par ex. ADN sans cellules BCT®, Streck®)Des tubes de prélèvement sanguin sans stabilisateurs de profil d'ADNlc (par ex. EDTA) Urine humaine : <ul style="list-style-type: none">Avec stabilisateurs de profil de cfADNSans stabilisateurs de profil de cfADN	
Nom du protocole	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Jeu de contrôles de dosage par défaut	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Volume d'éluion	60 µl	60 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou ultérieure	Version 5.0 ou ultérieure
Configuration logicielle requise pour l'utilisation IVD	Default Profile 1	Default Profile 1

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter 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 des produits.

Tiroir « Sample » (Échantillon)

Type d'échantillon	Plasma et urine humains (voir « Préparation du matériau d'échantillon »)
Volume d'échantillon	Dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet Resource (Ressource) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com .
Tubes d'échantillon primaires	S.O.
Tubes d'échantillon secondaires	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet Resource (Ressource) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com .
Inserts	S.O.
Autre	La protéinase K doit être ajoutée dans l'emplacement A (position 1, 2 et/ou 3)

S.O. = sans objet.

Préparation de la protéinase K dans le tiroir à échantillons « Sample »

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

Remarque : les tubes contenant la protéinase K sont placés dans un porte-tubes. Le ou les tubes contenant la protéinase K doivent être placés en positions 1, 2 et/ou 3 dans l'emplacement A du tiroir « Sample » (Échantillon). Pour connaître le type de tube requis, voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet Resource (Ressource) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com.

Nombre d'échantillons*	circDNA_2000_DSP (µl)	circDNA_4000_DSP (µl)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11 660
72	9020	18 040†
96	11 660	23 320†

* Pour chaque échantillon, les volumes requis sont de 110 µl pour le protocole circDNA_2000_DSP et de 220 µl pour le protocole circDNA_4000_DSP, plus un volume mort supplémentaire de 1 100 µl [(n x 110 ou 220 µl) + 1 100 µl].

† Pour le protocole circDNA_4000_DSP : si plus de 48 échantillons sont traités, utiliser un second tube. Le volume de chargement maximal par tube est de 11.660 µl. Dans le second tube, un volume mort supplémentaire de 1 100 µl est requis.

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

Position A1 et/ou A2	Cartouche de réactif (RC)
Position B1	S.O.
Supports de portoir à cônes 1-18	Pointes à filtre jetables, 200 ou 1500 µl
Support de boîtes 1-4	Boîtes contenant des cartouches de préparation d'échantillons ou 8-Rod Covers

S.O. = sans objet.

Tiroir « Waste » (Déchets)

Support de boîtes 1-4	Vider les boîtes
Support pour sac-poubelle	Sac-poubelle
Support pour flacon à déchets liquides	Flacon à déchets liquides

Tiroir « Eluate » (Éluat)

Portoir d'éluat (il est recommandé d'utiliser la fente 1, position de refroidissement)	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet Resource (Ressource) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com .
--	--

Matériel en plastique requis

Protocole circDNA_2000_DSP

Matériel en plastique	Un lot 24 échantillons*	Deux lots 48 échantillons*	Trois lots 72 échantillons*	Quatre lots 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl††	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl††	56	112	168	224
Sample prep cartridges§	15	30	45	60
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* L'utilisation de moins de 24 échantillons par lot réduit le nombre requis de cônes munis de filtres jetables par cycle.

† Il y a 32 cônes munis de filtres/portoir de cônes.

‡ Le nombre de pointes à filtre requises correspond à 1 inventaire par RC.

§ Il y a 28 cartouches de préparation d'échantillons/boîte.

¶ Il y a douze manchons pour 8-Rod Covers/boîte.

Protocole circDNA_4000_DSP

Matériel en plastique	Un lot 24 échantillons*	Deux lots 48 échantillons*	Trois lots 72 échantillons*	Quatre lots 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl††	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl††	96	192	288	384
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* L'utilisation de moins de 24 échantillons par lot réduit le nombre requis de cônes munis de filtres jetables par cycle.

† Il y a 32 cônes munis de filtres/portoir de cônes.

‡ Le nombre de pointes à filtre requises correspond à 1 inventaire par RC.

§ Il y a 28 cartouches de préparation d'échantillons/boîte.

¶ Il y a douze manchons pour 8-Rod Covers/boîte.

Remarque : les nombres de pointes à filtre indiqués peuvent différer des nombres affichés sur l'écran tactile en fonction des paramètres, par exemple le nombre de contrôles internes utilisés par lot.

Volume d'éluat

Volume d'éluat choisi	Volume d'éluat initial
60 µl	75 µl

Le volume d'éluat est sélectionné sur l'écran tactile. Le volume d'éluat disponible moyen est ≥ 60 µl. Dans certains cas, le volume d'éluat final pour des échantillons simples peut être inférieur de 5 µl au volume sélectionné (p. ex. 55 µl). Il est recommandé de vérifier le volume d'éluat réel lors de l'utilisation d'un système de préparation automatisée des dosages, qui ne vérifie pas le volume d'éluat avant le transfert.

Stockage des éluats

Remarque : la stabilité de l'éluat dépend fortement de divers facteurs et est liée à l'application spécifique en aval. Elle a été établie pour le QIASymphony DSP Circulating DNA Kit en association avec des applications en aval exemplaires. L'utilisateur est responsable de consulter les instructions d'utilisation de l'application en aval spécifique utilisées dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail afin de déterminer les conditions de stockage appropriées.

Il est recommandé de retirer la plaque d'éluats du tiroir « Eluate » (Éluat) dès la fin du cycle. Les plaques d'éluat peuvent être laissées dans le QIASymphony SP après la fin du cycle si celui-ci se termine au cours de la nuit (16 heures au maximum, durée du cycle comprise ; conditions environnementales recommandées : 18–26 °C et 20-75% d'humidité relative). Selon la température et le taux d'humidité, l'éluat peut subir une condensation ou une évaporation.

Après la préparation des échantillons, les éluats peuvent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 1 mois au maximum et à –20 °C ou –80 °C pendant 2 mois au maximum. Les éluats congelés ne doivent pas être dégelés plus de 3 fois.

Préparation du matériau d'échantillon

Remarque : la stabilité de l'échantillon dépend fortement de divers facteurs et est liée à l'application spécifique en aval. Elle a été établie pour le QIASymphony DSP Circulating DNA Kit en association avec des applications en aval exemplaires. L'utilisateur est responsable de consulter les instructions d'utilisation de l'application en aval spécifique utilisées dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail afin de déterminer les conditions de stockage appropriées.

Plasma humain

Lors de l'utilisation de tubes de prélèvement sanguin avec des stabilisateurs de profil d'ADNlc, il faut suivre les instructions du fabricant pour effectuer la préparation, le stockage, le transport et la manipulation générale du plasma. Lors de l'utilisation de tubes de prélèvement sanguin sans stabilisateurs de profil d'ADNlc et si des instructions relatives à la préparation, au stockage, au transport et à la manipulation générale sont disponibles auprès du fournisseur de la procédure d'examen dédiée, celles-ci doivent être suivies. Pour plus de détails, consulter ISO 20186-3:2019 (E) Analyses de diagnostic moléculaire in vitro – Spécifications relatives aux processus préanalytiques pour le sang total veineux – Partie 3 : ADN libre circulant extrait du plasma.

Indépendamment des instructions du fabricant des tubes de prélèvement sanguin, les aspects suivants doivent être pris en compte conformément à ISO 20186-3:2019 (E) pour l'extraction de l'ADNlc automatique du plasma avec le QIASymphony DSP Circulating DNA Kit et l'instrument QIASymphony SP instrument.

Des échantillons sanguins sans stabilisateur de profil d'ADNlc peuvent être utilisés pour la préparation du plasma (par exemple le tube de prélèvement sanguin EDTA). Le plasma préparé à partir de tubes avec du stabilisateur de profil d'ADNlc peut aussi être utilisé (par exemple ADN sans cellules BCT de Streck).

Il est recommandé de procéder à la séparation du plasma immédiatement après le don de sang lorsque de l'EDTA ou du citrate est utilisé comme anticoagulant.

Pour certaines applications en aval, il peut être nécessaire d'exclure ou de minimiser la présence d'acides nucléiques provenant des vésicules. Dans ce cas, il est recommandé de réaliser une étape de centrifugation haute vitesse à 16.000 x g pendant 10 minutes à température ambiante (15–25 °C) après la génération initiale du plasma.

Après prélèvement et centrifugation, le plasma peut être conservé à température ambiante pendant 7 jours maximum et à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant 14 jours maximum. Pour une conservation de plus longue durée jusqu'à 24 mois, il est recommandé de congeler les aliquotes à –20 °C ou –80 °C. Le plasma congelé ne doit pas être dégelé plus de 3 fois. Un processus de congélation/décongélation répété entraîne la dénaturation et la précipitation des protéines, ce qui peut réduire le rendement en acides nucléiques libres circulants. Il est recommandé de décongeler le plasma au bain-marie à 30 °C pendant 30 min. Si des cryoprécipités sont visibles dans les échantillons, ils doivent être retirés avant de charger l'échantillon sur l'instrument. Les cryoprécipités peuvent être résolus en passant l'échantillon au vortex (veiller à retirer la mousse si elle est visible sur l'échantillon avant de charger l'échantillon sur l'instrument). Autrement, les cryoprécipités peuvent être retirés par centrifugation et transfert du surnageant sans déranger le culot vers un tube d'échantillon secondaire (voir liste de matériel de laboratoire qui se situe sous l'onglet Resource (Ressources) sur la page des produits à l'adresse www.qiagen.com). Commencer la procédure de purification immédiatement.

Urine humaine

En raison de la dégradation rapide de l'ADNc après le recueil des urines, il est fortement recommandé de stabiliser ces échantillons immédiatement. Des applications en aval exemplaires ont été utilisées pour le QIASymphony DSP Circulating DNA Kit afin d'établir des recommandations pour la manipulation et la stabilisation de l'urine. Bien que le kit soit utilisé comme solution inutile pour plusieurs applications en aval, la manipulation de l'urine doit être établie pour tous ces flux de travail dans le cadre du développement de l'application en aval. Autrement, en cas d'utilisation d'un stabilisateur de profil de cfADN disponible dans le commerce pour l'urine, il faut suivre les instructions du fabricant.

Urine humaine stabilisée

L'urine stabilisée peut être stockée à température ambiante (15–25 °C) ou à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant 7 jours maximum. Pour une conservation de plus longue durée jusqu'à 24 mois, il est recommandé de congeler les aliquotes à –20 °C ou –80 °C.

Les échantillons d'urine stabilisée ne nécessitent aucun traitement préalable. Après stabilisation, il est recommandé de centrifuger les échantillons d'urine à faible vitesse (1 900 x g) pendant 10 minutes à température ambiante (15–25 °C) pour éliminer les cellules avant l'extraction de l'ADNc. Si des précipités sont visibles dans les surnageants après centrifugation, chauffer les échantillons au bain-marie à 25 °C afin de dissoudre les précipités. Avant de lancer un cycle, transférer les échantillons d'urine stabilisée dans un tube d'échantillon secondaire, puis charger ce tube sur le porte-échantillons (voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet Resource (Ressource) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com).

Urine humaine « non stabilisée »

Avant de commencer un protocole nécessitant le Buffer ATL, vérifier l'absence de précipité dans le Buffer ATL. Si nécessaire, le dissoudre par un chauffage à 70 °C au bain-marie sous agitation modérée. Aspirer les bulles formées à la surface du Buffer ATL.

Remarque : le Buffer ATL (4 x 50 ml, n° de réf. 939016) n'est pas inclus dans le QIASymphony DSP Circulating DNA Kit et doit être commandé séparément.

Il est recommandé de centrifuger les échantillons d'urine immédiatement après leur recueil, à faible vitesse (1 900 x g) pendant 10 minutes à température ambiante (15–25 °C) pour éliminer les cellules. Les échantillons d'urine non stabilisée nécessitent un traitement préalable.

Remarque importante : amener les échantillons à température ambiante (15–25 °C) avant de commencer l'étape de prétraitement.

Remarque importante : la centrifugation et le prétraitement doivent être réalisés dans les 4 heures suivant le recueil de l'échantillon d'urine.

- Mélanger 2 500 µl d'urine (circDNA_2000_DSP) ou 4 500 µl d'urine (circDNA_4000_DSP) avec 250 µl ou 450 µl de Buffer ATL, respectivement.
- Incuber les échantillons à température ambiante (15–25 °C) pendant 1 heure.
- Centrifuger les échantillons à 1 900 x g pendant 10 minutes à température ambiante (15–25 °C).
- Si des précipités sont visibles dans le surnageant après centrifugation, chauffer les échantillons au bain-marie à 25 °C afin de dissoudre les précipités.
- Transférer les surnageants dans un tube d'échantillon secondaire, puis charger ce tube sur le porte-échantillons (voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet Resource (Ressource) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com)..

Remarque importante : la stabilité et l'intégrité de l'ADNlc sont limitées dans l'urine non stabilisée. Il est recommandé de charger un lot de 24 échantillons maximum par cycle QIASymphony pour minimiser la durée de présence des échantillons d'urine sur l'appareil.

Points importants avant de charger les échantillons


















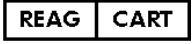
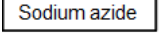


- Éviter la formation de mousse dans ou sur les échantillons.
- Amener tous les échantillons à température ambiante (15–25 °C) avant de lancer le cycle.

Substances interférentes

Les échantillons de plasma fortement concentrés en gammaglobuline (> 30 g/l) peuvent nuire à la récupération de l'ADN libre circulant.

Symboles

Les symboles suivants apparaissent dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et l'étiquetage :

Symbole	Définition du symbole
	Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions
	À utiliser avant
	Ce produit est conforme aux exigences de la réglementation européenne 2017/746 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	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)
Rn	R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision
	Limites de température
	Fabricant
	Consulter le mode d'emploi
	Avertissement/mise en garde
	Protéinase K
	Numéro du puits (c.-à-d. puits de la cartouche de réactifs)
	Cartouche de réactifs
	Azoture de sodium
	Éthanol
	Identificateur unique d'appareil

Historique des révisions

Révision	Description
R1, juin 2022	Version 2, révision 1 <ul style="list-style-type: none">Mise à jour de la version 2 pour la conformité à l'IVDRFormulation pour la manipulation des prélèvements pour tenir compte d'ISO 20186-3:2019 (E) Analyses de diagnostic moléculaire in vitro – Spécifications relatives aux processus préanalytiques pour le sang total veineux – Partie 3 : ADN libre circulant extrait du plasma

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 ou peuvent être demandés auprès des services techniques QIAGEN ou de votre distributeur local.

Marques commerciales : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group) ; Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Les noms déposés, 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.
06/2022 HB-3034-S01-001 © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.