

Juillet 2023

Mode d'emploi de l'instrument QIASymphony® SP (fiche de protocole)

Pour la trousse PreAnalytiX QIASymphony PAXgene® Blood ccfDNA et le PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube

Protocoles PAXgene Blood ccfDNA IVD :

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 et PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Version 1

IVD

Pour une utilisation diagnostique in vitro



REF

768566



PreAnalytiX GmbH
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Suisse

EC

REP

R4, MAT

Marques de commerce : PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH)
QIAGEN®, QIASymphony® (groupe QIAGEN)
BD™ (Becton Dickinson and Company)
Corning®, Falcon® (Corning, Inc.)
Eppendorf®, LoBind® (Eppendorf AG)
Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.)
Starlab® (Starlab International GmbH).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

HB-2866-S01-004 © 2023 PreAnalytiX GmbH. Sauf avis contraire, PreAnalytiX, le logo PreAnalytiX et toutes les autres marques sont la propriété de PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

Distributeurs de PreAnalytiX

Les produits PreAnalytiX sont fabriqués et distribués par QIAGEN et BD pour PreAnalytiX.

Informations générales

Pour une utilisation diagnostique in vitro.

La trousse PAXgene Blood ccfDNA de QIASymphony est destinée à l'isolement et à la purification automatisés de l'ADN acellulaire circulant (ccfDNA) à partir du plasma généré par le sang total veineux humain collecté dans le PAXgene Blood ccfDNA Tube.

La procédure de purification est optimisée pour une utilisation avec du plasma généré à partir de sang total veineux humain collecté dans les PAXgene Blood ccfDNA Tubes. Pour les instructions sur la procédure de prélèvement sanguin, voir le mode d'emploi du PAXgene Blood ccfDNA Tube sur la page d'accueil du produit (www.preanalytix.com).

Quatre protocoles différents ont été établis pour l'isolement automatisé du ccfDNA du plasma généré à partir de sang total veineux humain collecté dans les PAXgene Blood ccfDNA Tubes. Dans les versions standard, il est possible de sélectionner des volumes d'entrée d'échantillon de 2,4 ou 4,8 ml de plasma. En outre, les protocoles de manipulation des tubes primaires permettent de placer directement le PAXgene Blood ccfDNA Tube sur l'instrument QIASymphony SP. Des protocoles de manipulation des tubes primaires sont disponibles pour des volumes d'entrée d'échantillon de 2,4 ou 4,0 ml de plasma (voir les tableaux dans les pages suivantes).

Chaque volume de plasma utilisé pour l'extraction du ccfDNA requiert le volume d'entrée de l'échantillon pertinent, y compris le volume de vide et le script de protocole pertinent, comme résumé dans le Tableau 1.

Tableau 1. Présentation du protocole

| Échantillon | Le plasma humain généré à partir de sang total veineux collecté dans les PAXgene Blood ccfDNA Tubes | | | |
|---|---|--|--|--|
| Trousse | QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), (192), n° de réf. 768566 | | | |
| Version logicielle | Version 5.0 ou plus récente | | | |
| Configuration logicielle pour une utilisation IVD | Profil par défaut 1 | | | |
| Protocoles | Ligne de protocole | Volume d'entrée de l'échantillon (y compris le volume vide) (ml) | Volume de l'échantillon utilisé pour l'extraction de ccfDNA (ml) | (Assay Control_) Nom du protocole |
| | Étalon | 2,8 5,3 | 2,4 4,8 | (ACS_) PAXcircDNA_2400 (ACS_) PAXcircDNA_4800 |
| | Manipulation du tube primaire | selon l'outil de sélection | 2,4 4,0 | (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400 (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000 |

La préparation du plasma peut se faire en utilisant (A) le protocole standard de double centrifugation ou (B) via la manipulation du tube primaire : traitement direct des PAXgene Blood ccfDNA Tubes centrifugés une seule fois sur l'instrument QIASymphony SP.

A) Préparation du plasma à partir du sang pour les protocoles standard

1. Centrifugez le PAXgene Blood ccfDNA Tube à température ambiante (15–25 °C) pendant 15 minutes à 1 600–3 000 × g en utilisant une centrifugeuse à godet basculant équilibrée. Si le freinage est préféré, il est recommandé d'utiliser un freinage de niveau moyen, et il doit être validé pour votre flux de travail spécifique.

Remarque : Pour obtenir les meilleures performances pour les échantillons conservés au réfrigérateur avant la centrifugation, remélangez l'échantillon en le retournant trois fois et laissez les tubes revenir à température ambiante avant le traitement.

2. Pipettez le plasma dans un tube centrifugeur à fond conique de 15 ml (non fourni), en veillant à ne pas perturber la fraction cellulaire nucléée.
3. Centrifugez le tube à centrifuger à fond conique de 15 ml pendant 10 minutes à température ambiante (15–25 °C) à 1 600–3 000 × *g* en utilisant une centrifugeuse équilibrée.

Remarque : Ne dépassez pas la vitesse de centrifugation maximale recommandée par le fabricant du tube secondaire.

4. Pipettez le volume de plasma requis (voir section « Volume d'échantillon », page 9) dans un tube à fond rond en polystyrène de 14 ml, 17 × 100 mm, en veillant à ne pas déranger le culot de cellules sanguines résiduelles, le cas échéant.
5. Transférez le tube à fond rond avec l'échantillon de plasma dans le portoir de tubes et chargez le portoir de tubes dans le tiroir d'entrée d'échantillon de l'instrument QIASymphony SP.

Remarque : Pour un rendement maximal du ccfDNA, traitez le plus grand volume de plasma disponible.

Remarque : Évitez la formation de mousse dans ou à la surface des échantillons de plasma pendant le pipettage. La présence de mousse ou de bulles d'air dans les échantillons peut entraîner le pipettage d'un volume d'échantillon erroné.

Remarque : Après le transfert du plasma dans un tube secondaire, le ccfDNA est stable dans le plasma à 15–25 °C pendant 3 jours maximum ou à 2–8 °C pendant 7 jours maximum. Pour une conservation plus longue, nous recommandons de congeler les aliquotes à -20 °C ou -80 °C.

Remarque : Lorsque vous utilisez des échantillons de plasma préalablement stockés (par exemple, conservés à 2–8 °C ou congelés à -20 °C ou -80 °C), ceux-ci doivent être équilibrés à la température ambiante (15–25 °C) avant de lancer la séquence.

B) Préparation du plasma à partir du sang pour la manipulation du tube primaire sur l'instrument QIASymphony SP

1. Centrifugez le PAXgene Blood ccfDNA Tube à température ambiante (15–25 °C) pendant 15 minutes à $3\,000 \times g$ en utilisant une centrifugeuse à godet basculant équilibrée. Si le freinage est préféré, il est recommandé d'utiliser un freinage de niveau moyen et il doit être validé pour votre flux de travail spécifique.

Remarque : Pour obtenir les meilleures performances pour les échantillons conservés au réfrigérateur avant la centrifugation, remélangez l'échantillon en le retournant trois fois et laissez les tubes revenir à température ambiante avant le traitement.

2. Quantifier le volume de plasma dans chaque tube après le retrait du seau de la centrifugeuse avec l'outil de sélection du protocole de purification de PAXgene Blood ccfDNA fourni dans la trousse (Figure 1). Lorsque le tube est retiré de la centrifugeuse, la flèche sarcelle de l'outil est alignée sur l'interface plasma/cellules. Les lignes bleues indiquent si le niveau de plasma est suffisant pour le protocole de manipulation du tube primaire de 2,4 ou 4,0 ml. Une hauteur minimale de colonne de plasma de 2,3 cm est nécessaire pour le protocole de 2,4 ml et un minimum de 3,4 cm est nécessaire pour le protocole de 4,0 ml.

Déterminer le protocole optimal pour traiter les
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)
directement sur l'instrument QIASymphony SP

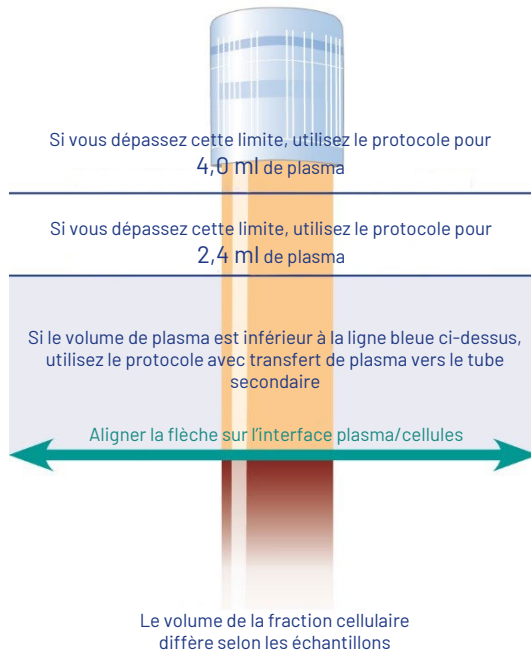


Figure 1. Détermination du volume de plasma à l'aide de l'outil de sélection du protocole de purification du ccfDNA du sang PAXgene (ceci est à titre d'illustration uniquement; veuillez ne pas imprimer, car la taille réelle diffère - ne pas utiliser avec des échantillons).

Remarque : Si une séparation nette du plasma et de la fraction cellulaire n'a pas eu lieu ou si des phases ont été accidentellement mélangées à la sortie de la centrifugeuse, vous devez répéter la centrifugation.

Remarque : Veillez à assurer une séparation claire avant de placer le tube sur l'instrument.

3. Retirez le bouchon Hemogard des PAXgene Blood ccfDNA Tubes avant de les placer sur l'instrument QIASymphony SP pour l'extraction directe de ccfDNA.
4. Placez les PAXgene Blood ccfDNA Tubes ouverts qui contiennent suffisamment de plasma dans le portoir de tubes et chargez le portoir de tubes dans le tiroir d'entrée des échantillons de l'instrument QIASymphony SP.

Volume d'échantillon

Pour vous assurer que, dans le flux de travail régulier, 2,4 ml (protocole PAXcircDNA_2400) et 4,8 ml d'échantillon (protocole PAXcircDNA_4800) sont transférés par l'instrument, un volume vide de 0,4 et 0,5 ml respectivement est requis, ce qui signifie qu'un minimum de 2,8 et 5,3 ml d'échantillon doit être fourni. Dans le cas où des volumes de plasma inférieurs à 2,8 ou 5,3 ml sont disponibles, le mode **Less Sample** (quantité moindre d'échantillon), qui fait partie intégrante de la fonction de protocole, permet le transfert de volumes de plasma inférieurs à ceux indiqués. Dans ce cas, l'instrument transfère moins d'échantillon. La différence du volume de plasma pipeté est enregistrée dans le fichier de résultats. En outre, les échantillons respectifs sont marqués comme **peu clairs** (code d'erreur 140043, mode **Enable Less Sample** (autoriser une quantité moindre d'échantillon)). Les volumes minimums d'entrée de plasma pour activer le **mode Less Sample** (quantité moindre d'échantillon) sont de 1,6 ml (protocole PAXcircDNA 2400) et de 4,1 ml (protocole PAXcircDNA 4800). Les échantillons ne seront pas traités et seront signalés comme **non valides** si un volume d'échantillon inférieur est fourni. Pour la manipulation du tube primaire, le volume d'échantillon approprié est assuré en utilisant l'outil de sélection du protocole de purification PAXgene Blood ccfDNA fourni dans la trousse et décrit dans la section « B) Préparation du plasma à partir du sang pour la manipulation du tube primaire sur l'instrument QIASymphony SP », page 6.

Tiroir « Sample » (Échantillon)

Tableau 2. Informations pour le réglage du tiroir à échantillons*

| | |
|---|--|
| Type d'échantillon | Le plasma humain généré à partir de sang total veineux collecté dans les PAXgene Blood ccfDNA Tubes |
| Volume d'entrée de l'échantillon (y compris le volume mort) | 2,8 ml (PAXcircDNA_2400) ; 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Voir l'outil de sélection du protocole de purification PAXgene Blood ccfDNA (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Voir l'outil de sélection du protocole de purification PAXgene Blood ccfDNA (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000) |
| Tubes d'échantillon primaires | PAXgene Blood ccfDNA Tube 10 ml (CE-IVD) 16 × 100 mm (BD™, n° de réf. 768165) |
| Tubes d'échantillon secondaires | Tubes 14 ml, 17× 100 mm en polystyrène à fond rond (Corning®, n° de réf. 352051) |
| Éléments d'insertion | s. o. |
| Autres | Protéinase K nécessaire dans les tubes 14 ml, 17 × 100 mm en polystyrène à fond rond (Corning, n° de réf. 352051); utiliser uniquement les positions 1 et 2 du portoir de tubes (pour la fente A) |

* Voir aussi la liste Labware disponible sous l'onglet Product Resources (Ressources produits) sur www.qiagen.com ou l'onglet Resources (Ressources) sur www.preanalytix.com.

s. o., sans objet.

Tubes à échantillons pour portoir de tubes

Tableau 3. Informations pour la mise en place des portoirs de tubes*

| Nom sur l'écran tactile | Fournisseur | Matériel | Exemple de n° de réf. | Élément d'insertion | PAXcirc DNA_2400 | PAXcirc DNA_4800 | PAXcirc DNA_Primary Tube_2400 | PAXcirc DNA_Primary Tube_4000 |
|---|----------------------|---|-----------------------|-----------------------------------|---|---|---|-------------------------------|
| BD #352051 FalconPP 17 × 100 | Corning [†] | Falcon® Tube 14 ml, 17 × 100 mm en polystyrène à fond rond | 352051 | Élément d'insertion inutile | 2,8 ml [‡] 1,6 ml [§] (Mode Enable Less Sample (autoriser une quantité moindre d'échantillon)) | 5,3 ml [‡] 4,1 ml [§] (Mode Enable Less Sample (autoriser une quantité moindre d'échantillon)) | s. o. | s. o. |
| BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100 | BD | PAXgene Blood ccfDNA Tube 10 ml, 16 × 100 mm | 768165 | Élément d'insertion inutile | s. o. | s. o. | Voir l'outil de sélection du protocole de purification PAXgene Blood ccfDNA | |

* Voir aussi la liste Labware disponible sous l'onglet Product Resources (Ressources produits) sur www.qiagen.com ou l'onglet Resources (Ressources) sur www.preanalytix.com.

[†] Précédemment fourni par BD.

[‡] Volume minimum requis par échantillon et par protocole (y compris le volume mort) ; détection de caillots possible.

[§] Réduction du volume minimum d'échantillon en utilisant le **mode Enable Less Sample** (autoriser une quantité moindre d'échantillon). Le **mode Enable Less Sample** (autoriser une quantité moindre d'échantillon) a été conçu pour utiliser tout le liquide disponible en combinaison avec la détection du niveau de liquide et la détection des caillots. Les résultats du **mode Enable Less Sample** (autoriser une quantité moindre d'échantillon) entraînent un marquage **peu clair** des échantillons.

s. o., sans objet.

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

| | |
|-------------------------------------|--|
| Position A1 et/ou A2 | Cartouche de réactif |
| Position B1 | s. o. |
| Portoir pour pointes à embouts 1-17 | Embouts à filtre jetables, 200 ou 1500 µl |
| Support de boîtes d'unités 1-4 | Boîtes d'unités contenant des cartouches de préparation de l'échantillon ou des 8-Rod Covers |

s. o. = sans objet.

Tiroir « Waste » (Déchets)

| | |
|--|--------------------------------|
| Support de boîtes d'unités 1-4 | Boîtes d'unités vides |
| Support pour sac à déchets | Sac à déchets |
| Support pour flacon à déchets liquides | Flacon à déchets liquides vide |

Tiroir « Eluate » (éluat)

| Fournisseur | Matériel | Exemple de n° de réf. | Catégorie | Nom sur l'écran tactile | Adaptateur sur les fentes d'éluotion 1 (réfrigérées) |
|-------------|---|---------------------------------|--|--|---|
| QIAGEN | Elution Microtubes CL 96 | Fournis avec la trousse (19588) | Deep Well | QIA#19588* EMTR | Elution Microtube Rack QS |
| Eppendorf® | DNA LoBind® Tube 1,5 ml | 0030108,051 | Tube,1,5 ml | EP#0030108.051** T1.5 Snap Cap | Snap-Cap Microtube |
| Sarstedt® | Microtube 1,5 ml, PP, fond arrondi | 72607 | Adaptateur V1 pour tube 1,5 ml/tube 1,5 ml (sans BC) | SAR#72.607* T1.5 Screw/SAR#72.607** T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS |
| Sarstedt | Microtube, 2,0 ml, PP, fond arrondi | 72693 | Adaptateur V1 pour tube 2,0 ml/tube_2,0 ml (sans BC) | SAR#72.693 *T2.0 Screw | Microtube Screw Cap QS |
| Starlab® | Microtube 1,5 ml, tube conique gradué, fond arrondi | E1415-2231 | Adaptateur V1 pour tube 1,5 ml/tube_1,5 ml (sans BC) | SL#E1415-2231 *T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS, 24 puits, n° de réf. 9020674 (fente réfrigérante 1) |
| | | | | SL#E1415-2231 **T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS (fente réfrigérante 1) |
| | | | | SL#E1415-2231 T1.5 Screw | 1,5/ 2,0 ml QS (fentes non réfrigérantes 2 à 4) |

* Indique le matériel de laboratoire pouvant être réfrigéré à l'aide d'un support réfrigérant muni d'un code-barres (transférable et utilisable sur le QIASymphony AS).

** Indique le matériel de laboratoire pouvant être réfrigéré à l'aide d'un support réfrigérant sans code-barres (non transférable et non utilisable sur le QIASymphony AS).

Matériel en plastique requis

| Matériel en plastique | PAXcircDNA_2400 | | PAXcircDNA_4800 | |
|--------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| | PAXcircDNA PrimaryTube_2400 | | PAXcircDNA PrimaryTube_4000 | |
| | Un lot, 24 échantillons* | Deux lots, 48 échantillons* | Un lot, 24 échantillons* | Deux lots, 48 échantillons* |
| Embouts à filtre jetables, 200 µl† | 24 | 48 | 24 | 48 |
| Embouts à filtre jetables, 1500 µl†† | 64 | 128 | 104 | 200 |
| Sample prep cartridges§ | 15 | 30 | 18 | 36 |
| 8-Rod Covers¶ | 3 | 6 | 3 | 6 |
| | Trois lots, 72 échantillons* | Quatre lots, 96 échantillons* | Trois lots, 72 échantillons* | Quatre lots, 96 échantillons* |
| Embouts à filtre jetables, 200 µl† | 72 | 96 | 72 | 96 |
| Embouts à filtre jetables, 1500 µl†† | 192 | 256 | 296 | 392 |
| Sample prep cartridges§ | 45 | 60 | 54 | 72 |
| 8-Rod Covers¶ | 9 | 12 | 9 | 12 |

* L'utilisation de moins de 24 échantillons par lot réduit le nombre requis d'embouts à filtre jetables par analyse. Le fait d'effectuer plus d'une analyse d'inventaire nécessite davantage de pointes à filtre jetables.

† Il y a 32 embouts à filtre par portoir.

‡ Le nombre requis d'embouts à filtre correspond à 1 vérification d'inventaire par cartouche de réactif.

§ Il y a 28 cartouches de préparation de l'échantillon par boîte d'unités.

¶ Il y a douze 8-Rod Covers par boîte d'unités.

Remarque : Le nombre indiqué d'embouts à filtre peut être différent du nombre affiché sur l'écran tactile en fonction des paramètres. Il est recommandé de charger le nombre maximal de pointes possible.

Volume d'élution

| Volume d'élution sélectionné (µl)* | Volume d'élution initial (µl)† |
|------------------------------------|--------------------------------|
| 60 | 75 |

* Il s'agit du volume minimum accessible d'éluat dans le tube d'élution finale pour le porte-tubes EMT QIAGEN (n° de réf. 19588) et les tubes à bouchon à vis Sarstedt de 1,5 (n° de réf. 72.607). Dans certains cas particuliers, le volume d'éluat final pour des échantillons uniques peut être inférieur de 5 µl au maximum.

† Le volume initial de tampon d'élution nécessaire pour garantir que le volume réel de l'éluat est le même que le volume sélectionné.

Préparation de la protéinase K en position 1 (et si nécessaire, en position 2) de la fente A

La trousse QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA contient une solution de Protéinase K prête à l'emploi. La Protéinase K peut être conservée à température ambiante (15–25 °C). Pour un stockage prolongé, nous suggérons de conserver les flacons d'enzymes avec la Protéinase K à 2–8 °C.

| Nombre d'échantillons | PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400* (µl) | PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* (µl) |
|-----------------------|---|---|
| 8 | 1 980 | 2 860 |
| 24 | 3 740 | 6 380 |
| 48 | 6 380 | 11 660† |
| 96 | 11 660† | 23 320† |

* Pour chaque échantillon, 110 µl (pour 2 400 µl de plasma) ou 220 µl (pour 4 800/4 000 µl de plasma) sont nécessaires, plus un volume vide supplémentaire de 1 100 µl [(n × 110 ou 220 µl) + 1 100 µl].

† Si plus de 11 660 µl sont nécessaires, utilisez un deuxième tube (Corning, n° de réf. 352051). Dans le second tube, un volume mort supplémentaire de 1 100 µl est requis.

Remarque : Les tubes contenant la Protéinase K sont placés dans un portoir de tubes. Le portoir de tubes contenant la Protéinase K doit être placé sur les positions 1 et 2 dans la fente A du tiroir « Sample » (Échantillon). Nous recommandons d'utiliser les tubes de 14 ml, 17 × 100 mm en polystyrène à fond rond (Corning, n° de réf. 352051) pour la Protéinase K.

Historique des révisions du document

| Date | Modifications |
|---------|---|
| 04/2021 | Version initiale |
| 05/2022 | Suppression de « (CE-IVD) » dans certains cas. Mise à jour de l'une des remarques du protocole, à l'étape 5 de la section « A) Préparation du plasma à partir du sang pour les protocoles standard ». Mise à jour de la section « Volume d'échantillon ». Inclusion de www.preanalytix.com pour indiquer où trouver les ressources connexes. |
| 07/2023 | Modification de l'adresse de PreAnalytIX GmbH de « Feldbachstrasse » en « Garstligweg 8 ». Mise à jour des nouvelles directives relatives à l'image de marque. |



Pour obtenir des renseignements actualisés et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel de la trousse ou le manuel d'utilisation PreAnalytiX ou QIAGEN correspondant. Les manuels des trousse et les manuels d'utilisation PreAnalytiX et QIAGEN sont disponibles sur www.preanalytix.com et www.qiagen.com ou peuvent être demandés au service technique QIAGEN ou au distributeur local.

**Better samples
More to explore**

Découvrez-en plus sur : www.preanalytix.com

HB-2866-S01-004 07/2023

 **PreAnalytiX**
A QIAGEN / BD Company