

Instructions d'utilisation (Manuel) du QIAsymphony® DSP Circulating DNA Kit



Version 2



Pour utilisation diagnostique in vitro
À utiliser avec le QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne



R1 1127534FR

Table des matières

Utilisation prévue	4
Utilisateurs prévus	4
Description et principe	5
Résumé et explications	7
Matériel fourni	8
Contenu du kit	8
Matériel nécessaire, mais non fourni.....	9
Réactifs supplémentaires.....	9
Consommables	9
Équipement	10
Protocole et matériel de laboratoire	10
Avertissements et précautions	11
Informations de sécurité.....	11
Informations d'urgence.....	12
Précautions.....	12
Mise au rebut	14
Conservation et manipulation des réactifs.....	15
Stabilité à l'utilisation	15
Prélèvement, stockage et manipulation des échantillons	16
Procédure	17
Purification automatisée sur QIAAsymphony SP	17
Protocole : purification de l'ADN libre circulant	23

Contrôle de la qualité	28
Limitations.....	28
Caractéristiques de performances	29
Guide de dépannage	30
Symboles.....	33
Coordonnées.....	35
Annexe : quantification de l'ADN libre circulant.....	36
Informations pour commander	37
Historique des révisions du document	39

Utilisation prévue

Le QIASymphony DSP Circulating DNA Kit 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 QIASymphony DSP Circulating DNA Kit est conçu pour une utilisation diagnostique in vitro.

Utilisateurs prévus

Le QIASymphony DSP Circulating DNA Kit est destiné à des utilisateurs professionnels, tels que des techniciens et des médecins, formés aux techniques de la biologie moléculaire.

Description et principe

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 à la page 6). L'utilisateur a le choix entre plusieurs volumes d'échantillon.

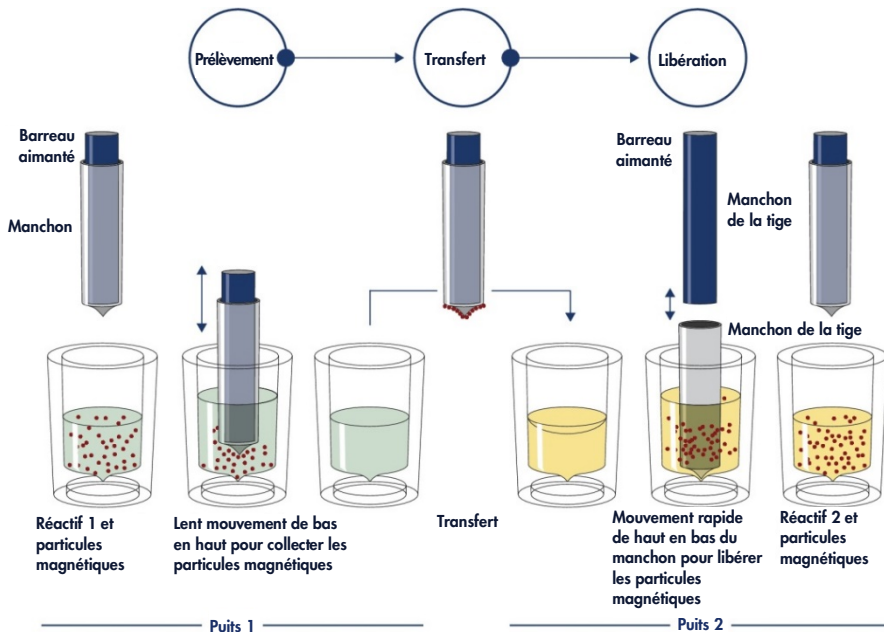
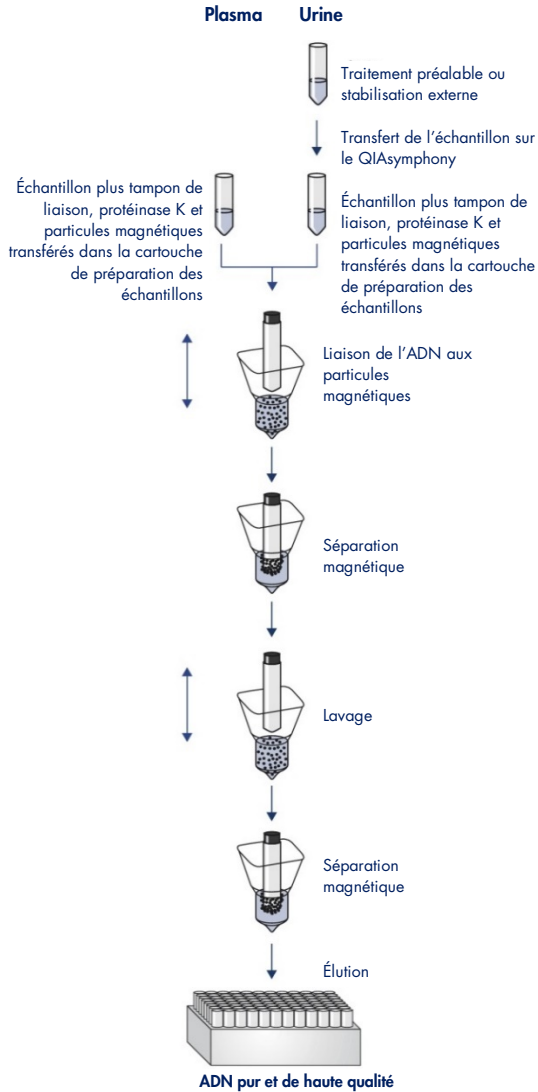


Figure 1. Schéma du principe de fonctionnement du QIASymphony SP. Le QIASymphony SP traite un échantillon contenant des particules magnétiques de la manière suivante : un barreau aimanté protégé par un manchon pénètre dans un puits contenant l'échantillon et attire les particules magnétiques. Le manchon 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 au cours du traitement des échantillons. Équipé d'une tête magnétique contenant une barrette de 24 barreaux aimantés QIASymphony SP peut traiter jusqu'à 24 échantillons simultanément.

Procédure du QIAasymphony DSP Circulating DNA



Résumé et explications

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) et < 1 000 nt (ARN). La concentration en ADNlc 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 à 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 (ADNlc) à partir de l'urine et du plasma humains sur l'appareil QIASymphony SP.

Le QIASymphony DSP Circulating DNA Kit fournit les réactifs nécessaires à la purification entièrement automatisée et simultanée de l'ADNlc humain à partir de plasma et d'urine humains. 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.

Matériel fourni

Contenu du kit

QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit

(192)

N° de réf.

937556

Nombre de réactions

192

Abréviations	Identité	Quantité	Ingrédients actifs	Concentration [%]*
RC	Reagent cartridge (Cartouche de réactifs) [†] REAG CART	2	Détergent non ionique Particule magnétique d'échange d'anions NaOH Éthanol	≥0,5 à <10 [p/p] S.O. ≥0,05 à <0,1 [p/p] ≥70 à <90 [v/v]
PROTK PROTK	QIAGEN Proteinase K (protéinase K QIAGEN)	6 x 10 ml	Protéinase K	≥1 à <3 % [p/p]
PL	Piercing lid (Couvercle perforateur)	2	S.O.	S.O.
RSS	Reuse Seal Set (Jeu de bandelettes d'étanchéité réutilisables) [‡]	2	S.O.	S.O.
	Mode d'emploi (manuel)	1	S.O.	S.O.

* Concentration maximale dans un seul puits.

[†] Contient de l'azotate de sodium comme conservateur.

[‡] Un Reuse Seal Set contient 8 bandelettes.

Matériel nécessaire, mais non fourni

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) correspondantes, disponibles auprès du fournisseur du produit.

Réactifs supplémentaires

- Buffer ATL (tampon ATL) (pour le traitement préalable des échantillons d'urine ; n° de réf. 939016)
- Solution saline tamponnée au phosphate (SSTP, peut être nécessaire pour compléter les volumes d'échantillon)

Pour connaître les informations de sécurité supplémentaires requises 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 (Ressources), sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

Consommables

- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (cartouches de préparation des échantillons à 8 puits) (n° de réf. 997002)
- 8-Rod Covers (n° de réf. 997004)
- Filter-Tips, 200 et 1500 µl (n° de réf. 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 (Ressources), sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

Équipement*

- QIAasymphony SP (n° de réf. 9001297)
- Vortex

Protocole et matériel de laboratoire

En plus du manuel, les instructions d'utilisation sont constituées de la fiche de protocole, de la liste de matériel de laboratoire et des caractéristiques de performances, qui se trouvent dans l'onglet Resource (Ressources) de la page des produits à l'adresse www.qiagen.com.

* Avant utilisation, s'assurer que les instruments ont été vérifiés et calibrés conformément aux recommandations du fabricant.

Avertissements et précautions

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

Pour utilisation diagnostique in vitro

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

Veillez prendre note des risques restants suivants :

- Lors de l'utilisation de tubes secondaires, veiller à ce que les ID d'échantillons ne soient pas mélangés lors du transfert de l'ID d'échantillon du tube primaire au secondaire.
- Les ID d'échantillon peuvent également être saisis manuellement (pour plus de détails, voir *Manuel d'utilisation du QIAAsymphony SP*). Si des données d'ID erronées sont saisies manuellement, une mauvaise corrélation est possible entre l'échantillon et le patient.

Informations de sécurité

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, consultez 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 répertoriant les FDS imprimables pour chaque kit QIAGEN et chaque composant.

- Tous les produits chimiques et biologiques sont potentiellement dangereux. Les prélèvements et échantillons sont potentiellement infectieux et doivent être traités comme du matériel présentant un risque biologique.

- Jeter les échantillons et les dosages usagés conformément aux procédures de sécurité locales.

AVERTISSEMENT Risque de blessure personnelle



Ne pas verser d'eau de Javel ou de solutions acides directement dans les déchets de préparation des échantillons.

Les tampons inclus dans la cartouche de réactifs contiennent de l'azoture de sodium. Si les tampons du kit sont renversés, nettoyer avec un détergent de laboratoire approprié et de l'eau. Si le liquide déversé contient des agents potentiellement infectieux, nettoyer dans un premier temps la zone concernée à l'eau accompagnée d'un détergent de laboratoire, puis à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v).

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

Informations d'urgence

CHEMTREC

États-Unis et Canada 1-800-424-9300

En dehors des États-Unis et du Canada +1 703-527-3887

Précautions

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

MBS3

Sodium azide

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

Proteinase 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. Éliminer le contenu/récipient dans une usine de traitement des déchets 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.

QSW9



Contient : éthanol. Danger ! Provoque une sévère irritation des yeux. Liquide et vapeurs très inflammables. Éliminer le contenu/récipient dans une usine de traitement des déchets 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.

Mise au rebut

Les déchets contiennent des échantillons et des réactifs. Ceux-ci peuvent contenir des matières toxiques ou infectieuses et doivent être mis au rebut de manière appropriée. Reportez-vous aux règles de sécurité en vigueur concernant les procédures de mise au rebut.

Pour plus d'informations, consultez les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Elles sont disponibles en ligne au format PDF à l'adresse www.qiagen.com/safety, où il est possible de trouver, consulter et imprimer les FDS de chaque kit et composant de kit QIAGEN.

Conservation et manipulation des réactifs

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

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

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

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

Stabilité à l'utilisation

Les cartouches de réactifs entamées peuvent être conservées pendant une durée maximale de 4 semaines, verticalement à température ambiante (15 à 25 °C), ce qui permet une réutilisation économique des réactifs et garantit une plus grande souplesse dans le traitement des échantillons. Sur les cartouches de réactifs entamées, remettre le couvercle du compartiment contenant les particules magnétiques et sceller les cartouches de réactifs avec les bandelettes d'étanchéité réutilisables (RSS) fournies dès la fin du cycle pour éviter l'évaporation.

Pour éviter l'évaporation des réactifs, la cartouche de réactifs 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 total de préparations d'échantillons par cartouche.

Éviter l'exposition des cartouches de réactifs à la lumière UV en raison du risque associé de vieillissement prématuré des cartouches et des tampons.

Prélèvement, stockage et manipulation des échantillons

Pour plus d'informations sur la procédure automatisée (y compris sur les tubes d'échantillon compatibles avec un protocole spécifique), le stockage des échantillons, la manipulation 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 QIASymphony SP

Avec le QIASymphony SP, la préparation automatisée des échantillons est simple 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. Consulter les manuels d'utilisation fournis avec l'appareil pour les instructions d'utilisation.

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 dans l'onglet Resource (Ressources) de chaque kit.

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

Les réactifs pour la purification de l'ADN sont contenus dans une cartouche de réactifs innovante (Figure 2, page 18). 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 entamées à l'aide de bandelettes d'étanchéité 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.

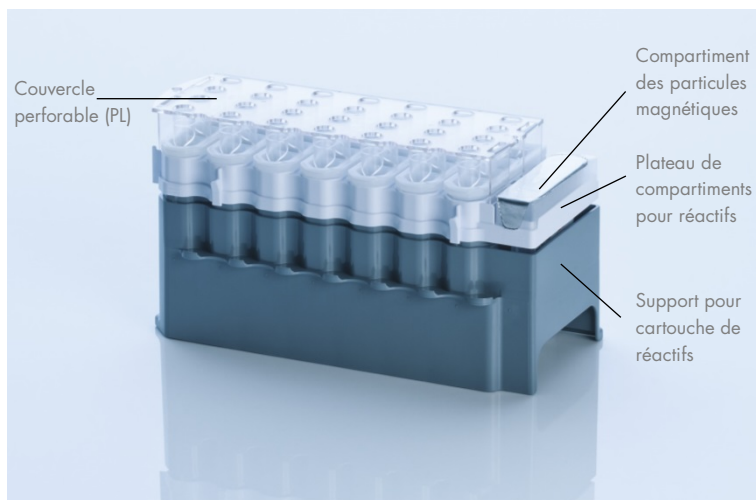


Figure 2. Cartouche de réactifs QIASymphony. La cartouche de réactifs contient tous les réactifs nécessaires au cycle.

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

Remarque : Le couvercle perforable est coupant. Faire attention lors de sa mise en place sur la cartouche de réactifs. Veiller à bien orienter le couvercle perforable sur la cartouche de réactifs.

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

Les cartouches de réactifs entamées peuvent être stockées jusqu'à la prochaine utilisation (voir « Conservation et manipulation des réactifs », page 15).

Remarque : la protéinase K doit être ajoutée conformément aux informations fournies dans la fiche de protocole, disponible dans l'onglet Resource (Ressources), 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 8-Rod Covers (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, les boîtes des cartouches de préparation d'échantillons ou les 8-Rod Covers avant de lancer un nouveau cycle. Le QIASymphony SP peut 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 37.

Chargement du tiroir « Waste » (Déchets)

Les cartouches de préparation des échantillons et les 8-Rod Covers utilisés au cours d'un cycle sont rangés dans des boîtes vides situées dans le tiroir « Waste » (Déchets). Veiller à ce que le tiroir « Waste » (Déchets) contienne suffisamment de boîtes vides pour contenir tous les éléments en plastique usagés du 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 8-Rod Covers, 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 du sachet pour cônes usagés. Vérifier la bonne fixation du sachet pour cônes usagés avant le démarrage d'un cycle. Pour plus d'informations, consulter le manuel d'utilisation de votre 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 collecte les liquides usagés issus de la purification. Le tiroir « Waste » (Déchets) ne peut être fermé que si le flacon à déchets est en place. Éliminer les déchets liquides conformément aux réglementations locales de sécurité et de respect de l'environnement. Ne pas autoclaver le flacon à déchets rempli. Vider le flacon au plus tard après le traitement d'un maximum de 96 échantillons.

Chargement du tiroir « Eluate » (Éluat)

Charger le portoir d'éluat requis dans le tiroir « Eluate » (Éluat). 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 « Elution slot 1 » (fente d'éluat 1) avec le support réfrigérant correspondant.

Vérification de l'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 du matériau d'échantillon

Les QIASymphony DSP Circulating DNA Kits sont destinés à la purification automatisée de l'ADN libre circulant humain à partir de l'urine et du plasma humains.

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 et la liste de matériel de laboratoire correspondants, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

Stockage de l'ADN

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 QS 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.

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 trois fois.

Protocole : purification de l'ADN libre circulant

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
Plasma, urine	4 000	60	circDNA_4000_DSP

Des informations détaillées figurent dans les fiches de protocole et la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet Resource (Ressource) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com.

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.

Remarques importantes avant de commencer

- S'assurer de bien connaître le fonctionnement du QIASymphony SP. Consulter les manuels d'utilisation fournis avec l'appareil pour les instructions d'utilisation.
- Les opérations de maintenance optionnelle ne sont pas obligatoires pour faire fonctionner l'instrument, mais elles sont vivement recommandées afin de réduire le risque de contamination.
- Avant de commencer la procédure, lire « Description et principe », page 5.
- 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 (Ressources), sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.)

- Éviter d'agiter vigoureusement la cartouche de réactifs afin de ne pas former de mousse, car elle peut entraîner des problèmes de détection du niveau de liquide.

Avant de commencer un traitement préalable utilisant le Buffer 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 Buffer ATL.

Étapes préliminaires

- Avant de commencer la procédure, veiller à la remise en suspension complète des particules magnétiques. Agiter vigoureusement au vortex la cuve contenant les particules magnétiques pendant au moins 3 minutes avant la première utilisation.
- 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, 2 et/ou 3). 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 (Ressources), 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 (Ressources), 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 (Ressources), sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

Procédure

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 du QIASymphony SP.
3. Se connecter à l'instrument.
4. Charger le portoir d'éluotion requis dans le tiroir « Eluate » (Éluat).
Ne pas utiliser de plaque de 96 puits dans la fente « Elution slot 4 » (Fente d'éluotion 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.
Lors de l'utilisation du portoir de Elution Microtubes CL, retirer le fond en faisant pivoter le portoir jusqu'à ce que le fond 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. Au besoin, remplacer le sachet de bouchons usagés.
6. Charger la ou les cartouches de réactifs et les consommables nécessaires dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).
7. Lancer la vérification de l'inventaire du tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).
8. Placer les échantillons sur le porte-échantillons adapté et les charger dans le tiroir « Sample » (Échantillon).
9. Sur l'écran tactile, saisir les informations demandées pour chaque lot d'échantillons et pour la protéinase K à traiter.
Saisissez les informations suivantes :
 - Informations relatives aux échantillons (selon les portoirs utilisés)

- Protocole à effectuer (Assay Control Set)
- Volume d'éluion et position de sortie

Une fois les informations sur le lot entrées, le statut passe de « LOADED » (Chargé) à « QUEUED » (En attente). Dès qu'un lot est mis en attente, le bouton Run (Analyse) apparaît.

10. Placer la protéinase K sur le porte-échantillons adapté en positions 1, 2 et/ou 3 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 (Analyse) pour lancer la procédure de purification.
Toutes les étapes du traitement sont entièrement automatisées. À la fin du protocole, l'état du lot passe de RUNNING (Analyse en cours) à COMPLETED (Terminé).
13. Récupérer le portoir d'éluion contenant les acides nucléiques purifiés dans le tiroir « Eluate » (Éluat).
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 « Eluate » (Éluat) immédiatement après la fin de l'analyse. Selon la température et le degré d'humidité, les plaques d'éluats laissées sur le QIA Symphony SP après un cycle peuvent subir une condensation ou une évaporation.
Les particules magnétiques ne sont généralement pas transférées 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 « Guide de dépannage », 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 entamées, voir « Conservation et manipulation des réactifs », page 15.

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

Voir « Avertissements et précautions », page 11, pour les informations de sécurité.

17. Nettoyer le QIA Symphony SP.

Suivre les instructions de maintenance des manuels d'utilisation fournis avec votre appareil. S'assurer de nettoyer régulièrement les embouts protecteurs afin de minimiser le risque de contamination croisée.

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

Contrôle de la qualité

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

Limitations

La performance du système a été établie lors d'études d'évaluation de la performance en purifiant de l'ADN Ic 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, des contrôles appropriés 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 en tenant compte des autres observations cliniques ou résultats biologiques disponibles.

Caractéristiques de performances

Les caractéristiques de performance applicables sont disponibles dans l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

Guide de dépannage

Ce guide de dépannage peut vous permettre de résoudre les problèmes éventuels. Pour de plus amples informations, consulter également la page de la foire aux questions dans notre centre d'assistance technique à l'adresse suivante : www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Les scientifiques des services techniques QIAGEN seront ravis de répondre à toutes les questions sur les informations et/ou protocoles figurant dans ce manuel ou sur les technologies d'échantillons et de dosage (pour les coordonnées, visitez 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. Lorsqu'une cartouche de réactifs entamée n'est pas utilisée pour la purification, veiller à ce que les bacs à tampons soient scellés avec des bandelettes d'étanchéité. |
| b) Stockage des cartouches de réactifs | Le stockage de la cartouche de réactifs en dessous de 15 °C peut entraîner la formation de précipités. |
-

Faible rendement en ADN

- | | |
|--|--|
| a) Remise en suspension incomplète des particules magnétiques | Avant de commencer la procédure, veiller à ce que les particules magnétiques soient complètement remises en suspension. Avant emploi, mélanger au Vortex pendant au moins 3 min. |
| b) Obstruction de la pointe de pipette par une substance insoluble | La substance insoluble n'a pas été éliminée de l'échantillon avant la purification sur QIASymphony.
Si nécessaire, utiliser les procédures de traitement préalable décrites dans la fiche de protocole correspondante, disponible dans l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com . |
| c) Le matériel d'échantillonnage contient une faible concentration d'ADNlc | En raison des très faibles quantités d'ADNlc 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. |

Commentaires et suggestions

- | | |
|---|---|
| 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 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. |
| e) Dégradation rapide de l'ADNlc dans un échantillon d'urine non stabilisée | En raison de la dégradation rapide de l'ADNlc 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 sont chargés, il existe un risque accru d'attribution d'un indicateur équivoque à l'échantillon.

Si des volumes d'échantillon inférieurs à 1,4 ml et à 3,6 ml sont chargés, il existe un risque accru d'attribution d'un indicateur invalide et d'absence de transfert de l'échantillon.

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. |
| 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 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. |
|--|---|

Culot marron visible dans l'éluat

Transfert de billes dans l'éluat












En cas de transfert de billes, les particules magnétiques dans les éluats n'affecteront pas la plupart des applications en aval.





Si les particules magnétiques doivent être retirées, appliquer le tube contenant l'ADN à un séparateur magnétique approprié jusqu'à séparation des particules magnétiques.

En l'absence de séparateur magnétique approprié, centrifuger le tube contenant l'ADN pendant 1 min à vitesse maximum dans une microcentrifugeuse afin de culoter toute particule magnétique restante.

Symboles

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

Symbole	Définition du symbole
 Σ <N>	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)

Symbole	Définition du symbole
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
PROTK	Protéinase K
WELL	Numéro du puits (c.-à-d. puits de la cartouche de réactifs)
REAG CART	Cartouche de réactifs
Sodium azide	Azoture de sodium
E1OH	Éthanol
UDI	Identificateur unique d'appareil

Coordonnées

Pour bénéficier d'une assistance technique et obtenir plus d'informations, consultez notre Centre d'assistance technique à l'adresse www.qiagen.com/Support, appelez le 00800-22-44-6000 ou contactez l'un des Services techniques QIAGEN ou l'un de ses distributeurs locaux (voir la quatrième de couverture ou le site www.qiagen.com).

Annexe : quantification de l'ADN libre circulant

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

Informations pour commander

Produit	Table des matières	N° de réf.
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	2 cartouches de réactifs, tubes de protéinase K et accessoires inclus	937556
QIASymphony SP	Module de préparation des échantillons QIASymphony, garantie 1 an pièces et main d'œuvre	9001297
Produits connexes		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml de Buffer ATL pour le traitement préalable des échantillons d'urine	939016
Proteinase K (10 ml)	1 flacon de 10 ml	19134
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 « Eluate » (Éluat) du QIASymphony	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Support réfrigérant pour portoirs EMT. À utiliser avec le tiroir « Eluate » (Éluat) du 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 « Eluate » (Éluat) du QIASymphony	9020731

Produit	Table des matières	N° de réf.
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Cartouches de préparation d'échantillons à 8 puits pour utilisation avec QIASymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	8-Rod Covers pour utilisation avec 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
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 des informations actualisées sur les licences et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consultez les instructions d'utilisation des kits QIAGEN respectifs. Les instructions d'utilisation des kits QIAGEN sont disponibles sur le site www.qiagen.com ou peuvent être demandées aux services techniques QIAGEN ou à votre distributeur local.

Historique des révisions du document

Révision	Description
R1, juin 2022	<p>Version 2, révision 1</p> <ul style="list-style-type: none">Mise à jour de la version 2 pour la conformité à l'IVDRMise à jour du matériel fourni (ajouter les ingrédients actifs)Mise à jour des avertissements et précautionsMise à jour de la conservation et manipulation des réactifsAjout de la section Mise au rebut <p>Mise à jour du Guide de résolution des principaux problèmes rencontrés (et transfert de billes)</p>

Cette page est intentionnellement laissée vierge

Cette page est intentionnellement laissée vierge

Cette page est intentionnellement laissée vierge

Contrat de licence limité pour le QIASymphony DSP Circulating DNA 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. Parmi ces protocoles supplémentaires, certains ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour des utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne saurait être tenu pour responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce panel et/ou sa ou ses utilisations ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce panel et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes les autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du panel consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de ce Contrat de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de ce Contrat de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au panel et/ou à ses composants.

Pour consulter les mises à jour de la licence, voir le site www.qiagen.com.

Marques commerciales : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIAcube® (QIAGEN Group) ; Eppendorf® (Eppendorf AG). 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.

Juin-2022 HB-3034-001 1127534FR © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.

Pour commander www.qiagen.com/shop | Assistance technique support.qiagen.com |
Site Web www.qiagen.com