

Fiche de protocole du QIAAsymphony SP

Protocole VirusBlood200_V5_DSP

Informations générales

Pour utilisation en diagnostic in vitro.

Ce protocole s'applique à la purification de l'ADN viral réalisée à partir de sang total humain frais avec QIAAsymphony® SP et le kit QIAAsymphony DSP DNA Mini. L'ADN viral issu de virus libérés et de virus associés aux cellules est copurifié à l'ADN génomique tiré de cellules sanguines.

Kit	QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit (référence 937236)
Matériel de prélèvement	Sang total humain (EDTA ou citrate anti-coagulé)
Nom de protocole	VirusBlood200_V5_DSP
Jeu de témoins d'analyse par défaut	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Données	Volume d'élution : 60 µl, 85 µl, 110 µl, 165 µl
Version logicielle requise	Version 4.0

Septembre 2012



Sample & Assay Technologies

Tiroir « Sample » (Échantillon)

Type d'échantillon	Sang total humain (EDTA ou citrate anti-coagulé)
Volume d'échantillon	Dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon ; pour en savoir plus consulter la page www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubes primaires d'échantillon	Pour plus d'informations, voir www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubes secondaires d'échantillon	Pour plus d'informations, voir www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Inserts	Dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon ; pour en savoir plus consulter la page www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Other (Autre)	Mélange témoin interne (IC)-tampon ATE nécessaire ; l'utilisation d'une solution IC est facultative

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

Position A1 et/ou A2	Cartouche de réactifs
Position B1	n/a
Support de portoir de cônes 1 à 17	Cônes munis de filtre jetables, 200 µl ou 1500 µl
Support de boîte d'unités 1 à 4	Boîtes d'unités contenant des cartouches de préparation d'échantillons ou des manchons pour 8 barreaux

n/a = non applicable.

Tiroir « Waste » (Poubelle)

Support de boîte d'unités 1 à 4	Boîtes d'unités vides
Support pour sac poubelle	Sac poubelle
Support pour flacon à déchets liquides	Flacon à déchets liquides vide

Tiroir « Eluate » (Éluat)

Portoir d'éluat (il est recommandé d'utiliser la fente 1, position de refroidissement)

Pour plus d'informations, voir www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Matériel en plastique requis

	Un lot, 24 échantillons*	Deux lots, 48 échantillons*	Trois lots, 72 échantillons*	Quatre lots, 96 échantillons*
Cônes munis de filtres jetables, 200 µl ^{†‡}	26	50	74	98
Cônes munis de filtres jetables, 1500 µl ^{†‡}	98	188	278	368
Cartouches de préparation d'échantillons [§]	21	42	63	84
Manchons pour 8 barreaux [¶]	3	6	9	12

* L'utilisation de plus d'un IC par lot et la réalisation de plus d'un scan d'inventaire nécessite davantage de cônes de filtres jetables. 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 par portoir.

‡ Le nombre de cônes munis de filtres requis correspond à 1 inventaire par cartouche de réactif.

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

¶ Il y a 12 manchons pour 8 barreaux par boîte d'unités.

Remarque : Les nombres indiqués de cônes munis de filtres peuvent être différents des nombres affichés sur l'écran tactile en fonction des paramètres. Il est recommandé de charger le nombre maximal de cônes possible.

Volume d'éluion choisi

Volume d'éluion choisi (μ l)*	Volume d'éluion initial (μ l)†
60	90
85	115
110	140
165	195

* Le volume d'éluion choisi sur l'écran tactile. Il correspond au volume minimum accessible d'éluat dans le tube d'éluion final.

† Le volume initial de solution d'éluion nécessaire pour assurer le même volume réel d'éluat que le volume choisi.

Préparation du mélange IC–tampon ATE

L'emploi du protocole VirusBlood200_V5_DSP en association avec des systèmes d'amplification utilisant un témoin interne peut nécessiter l'introduction du témoin dans la procédure de purification afin de surveiller l'efficacité de la préparation des échantillons et de l'analyse en aval.

La quantité de témoin interne ajoutée dépend du système d'analyse et du volume d'éluion choisis dans le protocole VirusBlood200_V5_DSP. Le calcul et la validation doivent être effectués par l'utilisateur. Pour déterminer la concentration optimale du témoin interne, voir les consignes du fabricant relatives à l'analyse en aval.

Il faut ajouter des IC au mélange IC–tampon ATE (ATE) selon un volume total de 60 μ l. Un mélange de IC peut être utilisé pour analyser différents paramètres à partir d'un éluat simple. La compatibilité des différents témoins internes doit être validée par l'utilisateur. Il est recommandé de préparer les mélanges nécessaires juste avant chaque cycle. En l'absence d'IC, le recours au tampon ATE reste nécessaire.

Volume d'élution choisi (µl)	Volume d'élution initial (µl)	Volume d'IC (µl)*	Volume de tampon ATE (ATE) (µl)	Volume final par échantillon (µl)
60	90	9	51	60
85	115	11,5	48,5	60
110	140	14	46	60
165	195	19,5	40,5	60

* Le calcul de la quantité d'IC s'appuie sur les volumes d'élution initiaux. Le volume mort supplémentaire dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon ; pour en savoir plus, consulter la page www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Remarque : Les valeurs indiquées dans le tableau sont destinées à la préparation du mélange IC-tampon ATE pour une analyse en aval nécessitant 0,1 µl d'IC/µl d'éluat.

Les tubes contenant des mélanges IC-tampon ATE sont placés dans un porte-tubes. Ce porte-tubes contenant le(s) mélange(s) IC-tampon ATE doit être placé dans la fente A du tiroir « Sample » (échantillons).

Selon le nombre d'échantillons à traiter, il est recommandé d'utiliser des tubes de 2 ml (Sarstedt®, références 72.693 et 72.694) ou des tubes de 14 ml, 17 x 100 mm, en polystyrène, à fond rond (Becton Dickinson (BD™), référence 352051) pour diluer le témoin interne tel que décrit dans le tableau ci-dessous. Il est possible de répartir le volume dans 2 tubes ou plus

Calcul du volume du mélange de témoin interne

Type de tube [‡]	Nom sur l'écran tactile QIASymphony	Calcul du volume de mélange d'IC par tube
2 ml muni d'un bouchon, microtube de 2 ml en PP, À COLLERETTE (Sarstedt, référence 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microtube de 2 ml muni d'un bouchon, microtube de 2 ml en PP, SANS COLLERETTE (Sarstedt, référence 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tube de 14 ml, 17 x 100 mm, en polystyrène, à fond rond, (Becton Dickinson, référence 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Utiliser cette équation pour calculer le volume nécessaire de mélange d'IC (n = nombre d'échantillons ; $60 \mu\text{l}$ = volume de mélange IC-tampon ATE ; $360 \mu\text{l}$ = volume mort requis par tube). Par exemple, pour 12 échantillons ($n = 12$) : $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. Ne pas verser dans le tube un volume supérieur à 1,92 ml (c'est-à-dire un maximum de 26 échantillons par tube). S'il y a plus de 26 échantillons à traiter, utiliser des tubes supplémentaires en veillant à prévoir un volume mort pour chaque tube.

† Utiliser cette équation pour calculer le volume nécessaire de mélange d'IC-tampon ATE (n = nombre d'échantillons ; $60 \mu\text{l}$ = volume de mélange IC-tampon ATE ; $360 \mu\text{l}$ = volume mort requis par tube). Par exemple, pour 96 échantillons ($n = 96$) : $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

‡ Pour les inserts nécessaires, voir www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Préparation de matériel de prélèvement

En cas de 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 du produit.

Sang total humain

Pour l'isolation d'ADN viral, nous recommandons d'utiliser des échantillons de sang total traités par EDTA ou citrate. Les échantillons doivent être traités dans les 24 heures suivant le prélèvement. Entreposer ou transporter les échantillons entre 2 et 25 °C. Pour un stockage plus long, nous conseillons de congeler des aliquotes entre -20 °C et -80 °C.

À partir d'échantillons de sang frais en tubes primaires, mélangez bien les échantillons sanguins (p. ex., en retournant les tubes plusieurs fois) avant de les charger sur QIASymphony SP. Pour garantir un transfert d'échantillon fiable, éviter la formation de mousse dans les tubes d'échantillon. Essayez d'éviter la formation de caillots sanguins dans les échantillons et, si nécessaire, transvasez l'échantillon sans caillots dans un nouveau tube.

Pour obtenir les dernières informations sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN respectif. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des Services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

Marques de commerce : QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group) ; BD™, (Becton, Dickinson and Company) ; Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Les noms déposés, les noms de marque, etc. cités dans le présent document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

© 2012 QIAGEN, tous droits réservés.

www.qiagen.com

Australia ■ 1-800-243-800

Austria ■ 0800/281010

Belgium ■ 0800-79612

Canada ■ 800-572-9613

China ■ 021-51345678

Denmark ■ 80-885945

Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930

Germany ■ 02103-29-12000

Hong Kong ■ 800 933 965

Ireland ■ 1800 555 049

Italy ■ 800 787980

Japan ■ 03-5547-0811

Korea (South) ■ 1544 7145

Luxembourg ■ 8002 2076

The Netherlands ■ 0800 0229592

Norway ■ 800-18859

Singapore ■ 65-67775366

Spain ■ 91-630-7050

Sweden ■ 020-790282

Switzerland ■ 055-254-22-11

UK ■ 01293-422-911

USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies