

Mode d'emploi du QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit (Fiche de protocole)

Protocole Cellfree200_V7_DSP

Version 2

IVD

Pour utilisation diagnostique in vitro

À utiliser avec le QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit

CE

REF

937036



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne

R1

La fiche de protocole disponible au format électronique se trouve sous l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit sur www.qiagen.com.

Informations générales

Le QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit est destiné à être utilisé dans le cadre de diagnostics in vitro (DIV).

Trousse	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Type d'échantillon	Plasma, sérum et LCR
Nom du protocole	Cellfree200_V7_DSP
Jeu de contrôles de dosage par défaut	ACS_Cellfree200_V7_DSP_default_IC
Données	Volume d'éluat : 60, 85 et 110 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou ultérieure
Configuration logicielle requise pour l'utilisation DIV	Profil par défaut 1

Tiroir « Sample » (Échantillon)

Type d'échantillon	Plasma, sérum et LCR
Volume d'échantillon	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit sur www.qiagen.com , selon le type de tube d'échantillon utilisé.
Volume d'échantillon traité	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit sur www.qiagen.com
Tubes d'échantillon primaires	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit sur www.qiagen.com
Tubes d'échantillon secondaires	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit sur www.qiagen.com , selon le type de tube d'échantillon utilisé.
Inserts	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit sur www.qiagen.com , selon le type de tube d'échantillon utilisé.
Autre	Mélange ARN vecteur–Buffer AVE nécessaire; l'utilisation d'un contrôle interne est facultative

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

Position A1 et/ou A2	Cartouche de réactif (RC)
Position B1	S.O.
Support de portoir à cônes 1 à 17	Pointes à filtre jetables, 200 µl
Support de portoir à cônes 1 à 17	Pointes à filtre jetables, 1500 µl
Support de boîtes 1 à 4	Boîtes contenant des cartouches de préparation d'échantillon
Support de boîtes 1 à 4	Boîtes contenant des 8-Rod Covers

S.O. = sans objet.

Tiroir « Waste » (Déchets)

Support de boîtes 1 à 4	Boîtes vides
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 sous l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit sur www.qiagen.com.

Matériel en plastique requis

Matériel en plastique	Un lot 24 échantillons*	Deux lots 48 échantillons*	Trois lots 72 échantillons*	Quatre lots 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl†	30	54	78	102
Disposable filter-tips, 1500 µl†	101	182	271	354
Sample prep cartridges§	21	42	63	84
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* L'utilisation de plusieurs contrôles internes par lot et la réalisation de plusieurs inventaires nécessitent davantage de cônes à filtre jetables. L'utilisation de moins de 24 échantillons par lot réduit le nombre requis de cônes à filtre jetables par cycle.

† Il y a 32 cônes à filtre par portoir à cônes.

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

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

¶ Il y a douze 8-Rod Covers/boîte.

Remarque : Les nombres de cônes à filtre indiqués peuvent différer des nombres affichés sur l'écran tactile en fonction des paramètres. Il est recommandé de charger le nombre maximal de cônes possible.

Volume d'éluat sélectionné

Volume d'éluat sélectionné (µl)*	Volume d'éluat initial (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Le volume d'éluat sélectionné sur l'écran tactile. Il correspond au volume d'éluat minimal accessible dans le tube d'éluat final.

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

Préparation du mélange contrôle interne–ARN vecteur (CARRIER)–Buffer AVE (AVE)

Volume d'éluat sélectionné (µl)	Volume de solution-mère d'ARN vecteur (CARRIER)	Volume de contrôle interne (µl)*	Volume de Buffer AVE (AVE) (µl)	Volume final par échantillon (µl)
60	2,5	9	108,5	120
85	2,5	11,5	106	120
110	2,5	14	103,5	120

* Le calcul de la quantité de contrôle interne s'appuie sur les volumes d'éluat initiaux. Le volume mort supplémentaire dépend du type de tube d'échantillon utilisé; pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire disponible sous l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit sur www.qiagen.com.

Remarque : Les valeurs indiquées dans le tableau sont destinées à la préparation du mélange contrôle interne–ARN vecteur (CARRIER) pour un essai effectué en aval nécessitant 0,1 µl de contrôle interne/µl d'éluat.

Les tubes contenant le mélange contrôle interne–ARN vecteur (CARRIER)–Buffer AVE (AVE) sont placés sur un porte-tubes. Ce porte-tubes doit être placé dans la fente A du tiroir à échantillons.

Selon le nombre d'échantillons à traiter, il est recommandé d'utiliser des tubes de 2 ml (Sarstedt®, n° de réf. 72.693 ou 72.694) ou des Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD™, n° de réf. 352051) pour diluer le contrôle interne comme décrit dans le tableau ci-dessous. Le volume peut être réparti dans 2 tubes ou plus.

Calcul du volume du mélange de contrôle interne

Type de tube	Nom sur l'écran tactile QIASymphony	Calcul du volume par tube du mélange contrôle interne-ARN vecteur (CARRIER)-Buffer AVE (AVE)
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, n° de réf. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted (Sarstedt, n° de réf. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD§, n° de réf. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Utiliser cette équation pour calculer le volume nécessaire de mélange de contrôle interne (n = nombre d'échantillons, $120 \mu\text{l}$ = volume de mélange contrôle interne-ARN vecteur (CARRIER)-Buffer AVE (AVE), $360 \mu\text{l}$ = volume mort requis par tube). Par exemple, pour 12 échantillons ($n = 12$) : $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1\,800 \mu\text{l}$. Ne pas verser dans le tube un volume supérieur à 1,9 ml (c.-à-d. un maximum de 12 échantillons par tube). S'il y a plus de 12 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 contrôle interne-ARN vecteur (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) (n = nombre d'échantillons, $120 \mu\text{l}$ = volume de mélange contrôle interne-ARN vecteur (CARRIER)-Buffer AVE (AVE), $600 \mu\text{l}$ = volume mort requis par tube). Par exemple, pour 96 échantillons ($n = 96$) : $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12\,120 \mu\text{l}$.

§ BD était l'ancien fournisseur de ces tubes et Corning Inc. en est le fournisseur actuel.

Pour les inserts requis, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit sur www.qiagen.com.

Utilisation du matériel de laboratoire FIX

Le recours à la détection du niveau de liquide lors du transfert des échantillons permet d'utiliser des tubes principaux et des tubes secondaires. Toutefois, un certain volume mort est à respecter pour ces tubes. Pour limiter les volumes morts, il convient d'utiliser des tubes secondaires sans détection du niveau de liquide. Le matériel de laboratoire spécial FIX est disponible à cet effet (p. ex. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt) et peut être sélectionné sur l'écran tactile du QIASymphony SP. Ce type de tube et de portoir impose des contraintes d'aspiration. L'échantillon est aspiré à une hauteur particulière dans le tube, en fonction du volume d'échantillon à transférer. Par conséquent, il est crucial de s'assurer que le volume indiqué sur la liste du matériel de laboratoire est respecté. La liste de matériel de laboratoire peut être téléchargée sur www.qiagen.com sous l'onglet Resource (Ressources) sur la page du produit.

Les tubes d'échantillon à utiliser avec ou sans détection du niveau de liquide et les volumes d'échantillon requis figurent également dans la liste de matériel de laboratoire disponible sur www.qiagen.com sous l'onglet Resource (Ressources) sur la page du produit. Ne pas utiliser de volumes supérieurs ou inférieurs au volume requis, cela pourrait entraîner des erreurs lors de la préparation des échantillons.

Les tubes avec et sans détection du niveau de liquide peuvent être traités dans un même lot/cycle.

Préparation des échantillons

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.

Éviter la formation de mousse dans ou sur les échantillons. 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.

Remarque : La stabilité de l'échantillon dépend nettement de divers facteurs et concerne une application en aval spécifique. Elle a été définie pour les QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits avec des applications en aval types. L'utilisateur doit consulter le mode d'emploi de l'application en aval utilisée au sein de son laboratoire et/ou valider l'ensemble de la procédure afin de définir les conditions de conservation qui conviennent.

Pour les recommandations générales de prélèvement, transport et conservation, consulter la consigne du CLSI MM13-A « Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods » (Prélèvement, transport, préparation et conservation des échantillons en biologie moléculaire). Il convient en outre de respecter les consignes du fabricant relatives au dispositif ou à la trousse de prélèvement d'échantillon utilisé lors de la préparation, de la conservation, du transport et de la manipulation des échantillons.

Échantillons de plasma, sérum et LCR

La procédure de purification est optimisée pour une utilisation avec des échantillons de plasma, sérum ou LCR. Les échantillons de sang traités avec de l'EDTA ou du citrate comme anticoagulant peuvent être utilisés pour la préparation de plasma. Les échantillons peuvent être frais ou congelés, à condition qu'ils n'aient pas subi plusieurs cycles de congélation-décongélation. Après le prélèvement et la centrifugation, le plasma et le sérum peuvent être conservés entre 2 et 8 °C jusqu'à 6 heures.

Pour une conservation plus longue, il est recommandé de congeler des aliquotes à -20 °C ou -80 °C. Le plasma ou le sérum congelé ne doit pas subir plusieurs cycles de congélation-décongélation. La répétition des cycles de congélation-décongélation entraîne la dénaturation et la précipitation des protéines, ce qui réduit les titres viraux et, par conséquent, les rendements d'acides nucléiques viraux. Si des cryoprécipités sont visibles dans les échantillons, centrifuger à 800 g pendant 3 minutes, transférer les surnageants dans les tubes frais sans perturber les culots et lancer immédiatement la procédure de purification. La centrifugation à une force g faible ne réduit pas les titres viraux.

Limitations et substances interférentes

Les échantillons de sang traités avec l'activateur de coagulation sérique peuvent entraîner une diminution du rendement des acides nucléiques viraux. Ne pas utiliser les tubes de prélèvement sanguin Greiner Bio-One® Vacuette® contenant l'activateur de coagulation sérique Z.

Aucun autre impact négatif important de substances potentiellement interférentes n'a été observé (pour plus de détails, voir le document correspondant Caractéristiques de performances disponible sous l'onglet Resource (Ressources), sur la page du produit sur www.qiagen.com).

Remarque : Les tests ont été réalisés avec des applications en aval types à des fins d'évaluation de la qualité des acides nucléiques extraits. Mais des applications en aval diverses peuvent exiger des conditions diverses en matière de pureté (à savoir absence de substances potentiellement interférentes), il convient donc d'identifier et de tester les substances en question au regard des applications en aval pour toute procédure impliquant les QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits.

Remarque : Conformément à la norme ISO 20186-2:2019(E), l'héparine provenant de tubes de prélèvement sanguin peut avoir une incidence sur la pureté des acides nucléiques isolés et un possible transfert dans les éluats pourrait inhiber certaines applications en aval. C'est pourquoi nous recommandons d'utiliser des échantillons sanguins traités à l'EDTA ou au citrate comme anticoagulant pour la préparation du plasma.





Conservation des éluats

Remarque : La stabilité des éluats dépend nettement de divers facteurs et concerne une application en aval spécifique. Elle a été définie pour les QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits avec des applications en aval types. L'utilisateur doit consulter le mode d'emploi de l'application en aval utilisée au sein de son laboratoire et/ou valider l'ensemble de la procédure afin de définir les conditions de conservation qui conviennent.

Pour une conservation inférieure ou égale à 24 heures, il est recommandé de conserver les acides nucléiques purifiés entre 2 et 8 °C.
Pour une conservation supérieure à 24 heures, il est recommandé de les conserver à -20 °C.

Symboles

Les symboles suivants apparaissent dans ce document. Pour une liste complète des symboles utilisés dans le mode d'emploi ou apposés sur l'emballage et l'étiquetage, consulter le manuel.

Symbole	Définition du symbole
	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
Rn	R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision
	Fabricant

Historique des révisions

Révision	Description
R1, juin 2022	Version 2, révision 1 <ul style="list-style-type: none">Mise à jour vers la version 2 pour la conformité RDIVExtension de la section Préparation des échantillonsAjout de la section Limitations et substances interférentesAjout de la section Conservation des éluatsAjout de la section Symboles

Pour les dernières informations sur les licences et les clauses limitatives de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel de la trousse ou le manuel d'utilisation QIAGEN® correspondant. Les manuels des trousse 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 de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Groupe QIAGEN); BD™ (Becton Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Les noms déposés, marques de commerce, etc. cités dans ce document doivent être considérés comme protégés par la loi, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels.
06/2022 HB-3028-S07-001 © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.