



Juillet 2024

Fiche produit

QIAcuityDx[®] Universal MasterMix Kit

Version 1

IVD

Pour une utilisation en diagnostic in vitro

Pour utilisation en laboratoire



REF

260101, 260102



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

R1 **MAT**

1134829FRCA

Table des matières

- Contenu de la trousse 3
- Conditions d'expédition et de conservation 4
 - Stabilité d'utilisation 4
- Utilisation prévue 5
 - Ingrédients actifs 5
- Symboles 6
- Information sur la sécurité 8
 - Universal MasterMix 9
 - Informations d'urgence 9
- Description et principe 10
- Remarques préalables 11
- Procédure 13
- Mise au rebut 17
- Contrôle de la qualité 18
- Limitations 19
- Dépannage 20
- Informations sur les commandes 23
- Historique des révisions du document 24

Contenu de la trousse

N° de réf. Kit	260101 1 ml	260102 5 ml
QIAcuityDx Universal MasterMix	1 x 1 180 µl	5 x 1 180 µl
MgCl ₂ , 200 mM	1 x 1 000 µl	2 x 1 000 µl
Eau sans RNase	2 x 1,9 ml	5 x 1,9 ml

Conditions d'expédition et de conservation

Le QIAcuityDx Universal MasterMix Kit est expédié sur un lit de glace sèche. Il doit être conservé immédiatement après réception entre -30 et -15 °C dans un congélateur à température constante. Si un composant du QIAcuityDx Universal MasterMix Kit n'est pas congelé à son arrivée, si l'emballage extérieur a été ouvert au cours du transport ou si le colis ne contient pas de notice d'emballage ou de réactifs, veuillez communiquer avec les services techniques QIAGEN ou un distributeur local (visitez www.qiagen.com).

Lorsqu'il est stocké correctement, le QIAcuityDx Universal MasterMix Kit est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'étiquette.

Ne pas utiliser si le stockage du produit est contraire aux caractéristiques, si l'emballage a été endommagé ou si d'autres signes de détérioration ou de dysfonctionnement sont visibles.

Stabilité d'utilisation

Une fois ouverts, les réactifs peuvent être conservés dans leur emballage d'origine entre -30 et -15 °C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage. Évitez les cycles répétés de congélation/décongélation. Ne dépassez pas un maximum de cinq cycles de congélation/décongélation.

Les réactifs doivent être entièrement décongelés à température ambiante (15 – 25 °C) pendant 30 minutes maximum avant utilisation.

Utilisation prévue

Le QIAcuityDx Universal MasterMix Kit est un ensemble de réactifs de mélange principal dPCR à usage général prêt à l'emploi à utiliser avec l'instrument QIAcuityDx Four conjointement avec des réactifs spécifiques au dosage associés dans le cadre de procédures de test de diagnostic validées.

Le QIAcuityDx Universal MasterMix Kit n'est pas un dispositif automatisé et est destiné à être utilisé en laboratoire par du personnel formé.

Le QIAcuityDx Universal MasterMix Kit est réservé au diagnostic *in vitro*.

Il incombe à l'utilisateur de valider la performance du système pour toutes les procédures utilisées dans son laboratoire et non couvertes par les études de la performance QIAGEN.

Ingrédients actifs

Réactif	Nom	Ingrédient actif	Concentration (% p/p)
Mélange principal	QIAcuityDx Universal MasterMix	ADN polymérase QuantiNova® (5,6 U/µl)	12 %
		Mélange dNTP (10 mM chacun)	10 %
Chlorure de magnésium	MgCl ₂ , 200 mM	Aucune	–
Eau	Eau sans RNase	Aucune	–

Symboles

Les symboles suivants peuvent figurer dans le mode d'emploi ou être apposés sur l'emballage ou les étiquettes :



Ce produit répond aux exigences de la réglementation européenne (UE) 2017/746 pour les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (RDIV).



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Numéro de référence



Numéro de matériel



Numéro de lot



Code article international (Global Trade Item Number, GTIN)



Identifiant unique des dispositifs (IUD)



Contient



Composant



Numéro



Date de fabrication

R_n

R correspond à la révision de la fiche produit et n représente le numéro de révision

V_n

V correspond à la version de la fiche produit et n représente le numéro de version



Date de péremption



Limites de température



Fabricant légal



Consulter le mode d'emploi



Contient des réactifs suffisants pour $\langle N \rangle$ réactions



Conserver à l'abri de la lumière



Avertissement



Danger lié à la chaleur

Information sur la sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter un sarrau de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour obtenir plus de renseignements, veuillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) correspondantes. Elles sont disponibles en ligne en format PDF pratique et compact sur www.qiagen.com/safety, où vous pourrez trouver, consulter et imprimer les fiches de données de sécurité correspondant à chaque trousse et composant de trousse QIAGEN®.

Sachez que vous pouvez être tenu de consulter la réglementation locale pour signaler les incidents graves survenus en lien avec l'instrument au fabricant et à l'autorité de réglementation de la région de l'utilisateur et/ou du patient.

Les échantillons sont potentiellement infectieux. Mettez au rebut les échantillons et autres déchets produits par les dosages conformément aux procédures de sécurité locales.

Le QIAcuityDx Universal MasterMix Kit contient de l'ADN polymérase QuantiNova, produite par un processus de fermentation bactérienne. L'enzyme est purifiée des microbes à la fin du traitement pour éliminer toute source résiduelle de matériel potentiellement infectieux.

Universal MasterMix



Contient : 2-méthylisothiazol-3(2H)-one ; 1,2,4-triazole. Peut provoquer une réaction allergique cutanée. Peut nuire à la fertilité ou à l'enfant à naître. Obtenir des instructions spéciales avant utilisation. Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité. Porter des gants/des vêtements/des lunettes/un masque de protection. En cas d'exposition prouvée ou suspectée : demander un avis médical/consulter un médecin. Garder sous clef. Éliminer le contenu/récipient dans une installation de traitement des déchets agréée.

Informations d'urgence

CHEMTREC

États-Unis et Canada : 1-800-424-9300

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

Description et principe

Le QIAcuityDx Universal MasterMix Kit comprend un mélange principal dPCR prêt à l'emploi contenant une chimie de réaction dans un tampon PCR et un colorant de référence exclusif, ainsi que des tubes séparés de 200 mM de chlorure de magnésium ($MgCl_2$) 100 % p/p et d'eau sans RNase 100 % p/p.

Une liste complète du matériel à utiliser avec le QIAcuityDx Universal MasterMix Kit est disponible dans le *manuel d'utilisation du QIAcuityDx System*.

Ce protocole est optimisé pour la quantification de cibles d'ADN ou d'ADNc à l'aide du QIAcuityDx Universal MasterMix Kit avec des sondes TaqMan® dans une réaction uniplex ou multiplex à l'aide du QIAcuityDx System.

Remarques préalables

- Un colorant fluorescent est fourni en tant que composant du QIAcuityDx Universal MasterMix Kit pour une détection fiable du remplissage correct des partitions dans les nanoplaques compatibles QIAcuityDx.
- Pour un dosage dPCR d'une efficacité maximale à l'aide de sondes TaqMan, les amplicons doivent idéalement avoir une longueur de 60 à 150 pb. Comme pour la qPCR, des amplicons plus longs peuvent également être utilisés. Cependant, les performances du dosage peuvent être altérées.
- Avant d'effectuer des analyses multiplex, choisissez des combinaisons appropriées de colorants indicateurs et de suppresseurs compatibles avec les analyses multiplex à l'aide de l'optique de détection de l'instrument QIAcuityDx Four (voir Tableau 1).

Important : une correction de diaphonie intégrée est appliquée aux images générées par l'instrument QIAcuityDx Four. Cette correction vise à minimiser les effets de chevauchement spectral entre les canaux optiques voisins et les fluorophores. L'utilisation de colorants non pris en charge peut entraîner une correction de diaphonie sous-optimale.

Tableau 1. Canaux optiques et fluorophores pris en charge pour l'instrument QIAcuityDx Four

Canal	Excitation (nm)	Émission (nm)	Fluorophores pris en charge
Vert	463–503	518–548	FAM™
Jaune	514–535	550–564	HEX™
Orange	543–565	580–606	TAMRA™
Rouge	570–596	611–653	ROX™
Pourpre	590–640	654–692	Cy5®

- Des suppresseurs non fluorescents doivent être utilisés avec chaque sonde. Des sondes à double suppression peuvent être utilisées pour améliorer les rapports signal/bruit dans certains dosages.

- Il est recommandé de démarrer le développement du dosage avec les conditions de cycle et les concentrations en amorces spécifiées dans ce protocole. Les conditions de cycle PCR doivent commencer par une étape d'incubation initiale de 2 minutes à 95 °C pour activer l'ADN polymérase QuantiNova dans le QIAcuityDx Universal MasterMix Kit.
- Pour faciliter l'utilisation, nous vous recommandons de préparer un mélange amorces-sonde d'une concentration de 10x ou plus contenant des amorces et une sonde spécifiques à la cible pour chacune de vos cibles. Un mélange amorces-sonde 10x se compose de 1 à 8 µM d'amorce sens, de 1 à 8 µM d'amorce antisens et de 0,5 à 4 µM de sonde dans un tampon TE à faible teneur en EDTA (0,1 mM).
- Une matrice d'ADN d'une longueur moyenne > 30 kb peut nécessiter d'être fragmentée par digestion de restriction avant le partitionnement. La fragmentation enzymatique d'ADN plus grand assure une distribution uniforme de la matrice dans toute la nanoplaque compatible QIAcuityDx, ce qui garantit à son tour une quantification précise et exacte. La digestion par restriction n'est pas nécessaire pour l'ADN hautement fragmenté (par exemple l'ADN FFPE ou l'ADN circulant) ni l'ADNc. Il convient de veiller à utiliser des enzymes qui ne coupent pas la séquence amplifiée, c'est pourquoi des enzymes de restriction sont recommandées.
- Les quantités d'échantillons d'entrée doivent être basées sur les numéros de partition des nanoplaques, avec une limite supérieure de 5 copies par partition lors de l'utilisation de la détection basée sur la sonde TaqMan (Tableau 2). La plage idéale de copies/partition est comprise entre 0,5 et 3. Si le nombre de copies ne peut pas être déterminé avant le début de l'expérience, il est recommandé d'effectuer une expérience de titrage initiale pour déterminer la quantité optimale d'échantillon d'entrée.

Tableau 2. Nombre maximal de copies par réaction par type de plaque

Type de plaque	Nombre de partitions	Limite supérieure de copies par réaction	Volume analysé (µl)	Volume réactionnel total (µl)	Nombre maximal de copies par volume analysé	Nombre maximal estimé de copies par réaction
Nanoplaques 8,5k	8 500	5	2,9	13	42 500	170 000
Nanoplaques 26k	26 000	5	24,0	42	130 000	217 000

Procédure

1. Décongelez le QIAcuityDx Universal MasterMix, le chlorure de magnésium, l'ADN ou l'ADNc matriciel, le mélange amorces-sonde et l'eau sans RNase à température ambiante pendant 30 minutes maximum.
2. Mélangez chacune des solutions en vortexant à pleine vitesse pendant 3 à 5 secondes. Les tubes doivent être centrifugés brièvement après le mélange pour recueillir les liquides au fond des tubes.
3. Préparez un mélange principal des témoins pour le nombre de réactions nécessaires en fonction du Tableau 3, sans la matrice / le témoin sans matrice (NTC). Il n'est pas nécessaire de conserver les échantillons sur de la glace pendant la préparation de la réaction ni les étapes ultérieures.

Tableau 3. Préparation recommandée du mélange principal des témoins

Composant	Volume/puits (24/96 puits, nanoplaques 8,5 k)	Volume/puits (24 puits, nanoplaques 26k)	Concentration finale
QIAcuityDx Universal MasterMix	3,3 µl	11 µl	1x
MgCl ₂ , 200 mM	0,41 µl*	1,38 µl*	6,28 mM*
Mélange amorces-sonde 10x (par dosage)†	1,32 µl‡	4,4 µl‡	0,1 à 0,8 µM d'amorce sens 0,1 à 0,8 µM d'amorce antisens 0,05 à 0,4 µM de sonde
Enzyme de restriction (facultatif)	Jusqu'à 1 µl	Jusqu'à 1 µl	0,025–0,25 U/µl
Eau sans RNase	Variable	Variable	
ADN ou ADNc matriciel (ajouté à l'étape 5)	Variable‡	Variable‡	
Total	13,2 µl	44 µl	

*Concentration de départ recommandée ; le volume peut varier en fonction de l'optimisation.

†Le volume peut varier en fonction de la concentration du mélange amorces-sonde utilisé et de la concentration cible finale.

‡Les quantités de matrice appropriées dépendent de divers paramètres ; voir les remarques préalables.

- Mélangez le mélange principal en vortexant à pleine vitesse pendant 3 à 5 secondes. Centrifugez brièvement.
- Distribuez les volumes appropriés du mélange principal des témoins, qui contient tous les composants à l'exception de la matrice / du témoin sans matrice (NTC) dans les puits d'une plaque PCR standard ou de tubes lo-bind. Ensuite, ajoutez l'ADN/NTC matriciel dans chaque puits/tube au volume approprié pour votre dosage (voir Remarques préalables).

Remarque : pour la RT-PCR en 2 étapes, le volume d'ADNc ajouté (à partir de la réaction de transcription inverse non diluée) ne doit pas dépasser 15 % du volume de PCR final.

6. Mélangez le sous-mélange (mélange principal des témoins et matrice) soit dans une plaque PCR en pipetant de haut en bas 10 fois dans les puits, soit, si le mélange est effectué dans un tube, en vortexant à pleine vitesse pendant 3 à 5 secondes. Centrifugez brièvement la plaque/le tube pour recueillir le liquide au fond des puits/du tube.
7. Transférez immédiatement le contenu de chaque puits/tube dans les puits de la nanoplaque.

Remarque : assurez-vous qu'aucune bulle d'air ne se forme pendant le transfert vers la nanoplaque en pipetant jusqu'au premier arrêt. Assurez-vous de pipeter le mélange dans le puits d'entrée et non dans le puits de sortie. Pour éviter d'endommager la surface optique et réduire la poussière qui interférerait avec l'imagerie et l'analyse des résultats, nous recommandons de placer la nanoplaque dans un plateau à nanoplaques avant de pipeter le mélange réactionnel dans la nanoplaque. Le plateau à nanoplaques doit être pré-nettoyé avec un chiffon non pelucheux avant utilisation.

8. Scellez correctement les nanoplaques à l'aide du joint pour nanoplaque fourni dans les kits de plaques.

Remarque : Pour connaître la procédure de scellement exacte, veuillez consulter le *manuel d'utilisation du QIAcuityDx System*.

9. Si une enzyme de restriction pour la digestion de l'ADN a été incluse dans la réaction, laissez la plaque pendant 10 minutes à température ambiante.
10. Programmez le cycleur de l'instrument QIAcuityDx Four selon le Tableau 4.

Tableau 4. Conditions de cycle dPCR recommandées

Étape	Durée	Température (°C)	Nombre de cycles
Activation thermique initiale de PCR	2 min	95	1
Dénaturation	15 s	95	40*
Renaturation/extension combinées*	30 s*	60	

*La température/la durée/le nombre de cycles peuvent varier en fonction du type de dosage

11. Placez la nanoplaque dans l'instrument QIAcuityDx Four et démarrez le programme dPCR conformément au *manuel d'utilisation du QIAcuityDx System*.

Mise au rebut

Éliminez les produits utilisés et non utilisés conformément aux réglementations locales et nationales. Suivez les recommandations de la Fiche de données de sécurité (FDS).

Contrôle de la qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot du QIAcuityDx Universal MasterMix Kit est testé selon des spécifications prédéterminées afin de garantir une qualité constante du produit.

Limitations

Les performances du QIAcuityDx Universal MasterMix Kit ont été établies avec les dosages QIAGEN en aval applicables. Veuillez consulter le mode d'emploi correspondant de l'application en aval de QIAGEN pour obtenir des instructions détaillées sur la manipulation de ce produit dans le flux de travail correspondant.

Il incombe à l'utilisateur de valider la performance pour les dosages utilisés dans son laboratoire et non couverts par les études 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*.

Le QIAcuityDx Universal MasterMix Kit n'est pas produit selon des procédures de fabrication stériles. Il peut donc contenir d'autres ingrédients susceptibles d'influencer la mesure. Les applications en aval doivent inclure des contrôles appropriés si cela augmente le risque d'impact négatif sur le résultat diagnostique.

Dépannage

Cette section fournit des informations sur la marche à suivre en cas de problèmes liés à l'utilisation du QIAcuityDx Universal MasterMix Kit. Si vous avez besoin d'une assistance supplémentaire, contactez les services techniques QIAGEN en utilisant les coordonnées ci-après, qui vous redirigeront vers les coordonnées spécifiques au pays :

Site Web : support.qiagen.com

Problème

Commentaires et suggestions

Amplification NTC

Conception du dosage	Reconcevoir les amorces/sondes. Optimiser les conditions de dosage en faisant varier la concentration de la sonde d'amorce et la concentration de $MgCl_2$.
Contamination des réactifs	Jeter les réactifs et répétez le dosage en utilisant de nouveaux réactifs.
Contamination lors de la préparation du dosage	Prendre des précautions contre la contamination en décontaminant la zone de travail à l'aide de produits de nettoyage appropriés.

Pas d'amplification

Conditions de PCR non optimisées	Augmenter le temps de dénaturation initial. Augmenter le temps de renaturation/extension.
Quantité de matrice de départ insuffisante	Augmenter la quantité/concentration de la matrice de départ ajoutée au mélange principal des témoins.

Indicateur de saturation

Sursaturation des sondes	Diminuer le temps d'exposition dans les paramètres d'imagerie. Diminuer le gain dans les paramètres d'imagerie.
--------------------------	--

Séparation insuffisante entre les groupes positifs et négatifs

Conception du dosage	Optimiser les conditions de dosage en faisant varier la concentration de la sonde d'amorce et la concentration de $MgCl_2$. Passer aux sondes TaqMan à double suppression pour augmenter le rapport signal/bruit.
Conditions de PCR non optimisées	Augmenter le temps de dénaturation initial. Augmenter le temps de renaturation/extension.

Différences observées dans les valeurs de quantification absolues entre les cycles d'exécution

Ajout d'une quantité insuffisante de QIAcuityDx Universal MasterMix	Assurez-vous que la concentration finale en QIAcuityDx Universal MasterMix dans le sous-mélange est de 1x (à partir de la solution mère 4x).
---	--

Problème

Commentaires et suggestions

Variation du temps de décongélation/préparation

Des temps de décongélation/préparation prolongés peuvent avoir un impact négatif sur les valeurs de quantification absolues. Pour des performances optimales, les réactifs doivent être décongelés pendant 30 minutes maximum et, une fois le sous-mélange (mélange principal des témoins + matrice) préparé, il doit être immédiatement chargé sur la nanoplaque. Si des temps de décongélation/préparation prolongés sont nécessaires, ceux-ci doivent être surveillés pour chaque dosage afin de garantir que tout changement dans la quantification absolue n'affecte pas les résultats finaux.

Conditions de PCR non optimisées

Optimiser la température de dénaturation.

Optimiser la température de renaturation/extension.

Résultats incohérents entre les puits de nanoplaques

Conditions de PCR non optimisées

Optimiser le délai d'activation en l'augmentant de 2 minutes à 15 minutes.

Informations sur les commandes

Produit	Contenu	N° de réf.
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1 ml)	Pour la préparation d'un maximum de quatre QIAcuityDx Nanoplates : 1 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 1 x MgCl ₂ , 200 mM, 2 x eau sans RNase	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5 ml)	Pour la préparation d'un maximum de vingt QIAcuityDx Nanoplates : 5 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 2 x MgCl ₂ , 200 mM, 5 x eau sans RNase	260102

Il convient de prendre toutes les précautions requises lors de la manipulation des produits. Nous recommandons à tous les utilisateurs des produits QIAGEN® de respecter toute réglementation locale applicable, ainsi que de suivre toutes les normes et directives en vigueur.

Historique des révisions du document

Date	Changements
R1, juillet 2024	Version initiale

Contrat de licence limité pour le QIAcuityDx® Universal MasterMix Kit

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit ne doit être utilisé que conformément aux protocoles fournis avec le produit et avec ce mode d'emploi et uniquement avec les composants contenus dans ce panel. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce panel avec tout autre composant non inclus 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. Certains de ces protocoles supplémentaires ont été fournis par les utilisateurs de QIAGEN pour les utilisateurs de 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 s'engagent à ne pas prendre, ou autoriser quiconque à prendre, de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter des actes interdits par les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de ce Contrat de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrir tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de 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, reportez-vous à www.qiagen.com.

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcuityDx®, QuantiNova® (QIAGEN Group) ; Cy® (GE Healthcare) ; Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc.) ; FAM™, HEX™, ROX™, TAMRA™, (Thermo Fisher Scientific ou ses filiales). Les noms déposés, les marques de commerce, 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.

07/2024 HB-3592-001 © 2024 QIAGEN, tous droits réservés

Page laissée intentionnellement blanche.

Page laissée intentionnellement blanche.

Page laissée intentionnellement blanche.

