

Mode d'emploi de QIAsymphony[®] DSP Circulating DNA Kit (Manuel)



Version 2



Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro
À utiliser avec QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne



1130675FRCA

Table des matières

| | |
|---|----|
| Utilisation prévue..... | 4 |
| Utilisateur prévu | 4 |
| Description et principe | 5 |
| Résumé et explication | 7 |
| Matériel fourni..... | 8 |
| Contenu de la trousse | 8 |
| Matériel nécessaire, mais non fourni | 9 |
| Réactifs supplémentaires..... | 9 |
| Consommables | 9 |
| Équipement..... | 10 |
| Protocole et matériel de laboratoire | 10 |
| Avertissements et précautions | 11 |
| Information sur la sécurité..... | 11 |
| Informations sur les urgences | 12 |
| Précautions | 13 |
| Mise au rebut | 14 |
| Conservation et manipulation des réactifs | 15 |
| Stabilité en cours d'utilisation..... | 15 |
| Prélèvement, stockage et manipulation des échantillons..... | 17 |
| Procédure | 18 |
| Purification automatisée sur le QIAasymphony SP | 18 |
| Protocole : Purification de l'ADN libre circulant..... | 24 |

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

Utilisation prévue

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.

L'utilisation de QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit est réservée au diagnostic in vitro.

Utilisateur prévu

Seuls des professionnels tels que des techniciens et des médecins dûment formés aux techniques de biologie moléculaire sont habilités à utiliser le QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit.

Description et principe

La technologie QIASymphony combine la rapidité et l'efficacité de la purification des acides nucléiques par échange d'anions avec la manipulation pratique des particules magnétiques (Figure 1, ci-dessous). La procédure de purification est destinée à garantir la manipulation sûre et reproductible d'échantillons potentiellement infectieux, elle comprend 3 étapes : la liaison, le lavage et l'éluion (voir le schéma de la page 6). L'utilisateur peut choisir entre différents volumes d'échantillon.

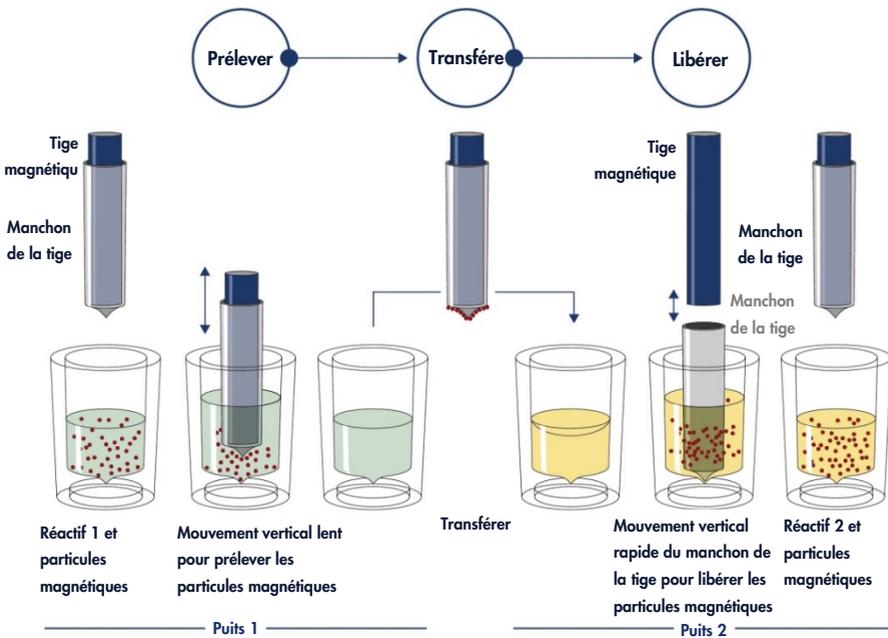
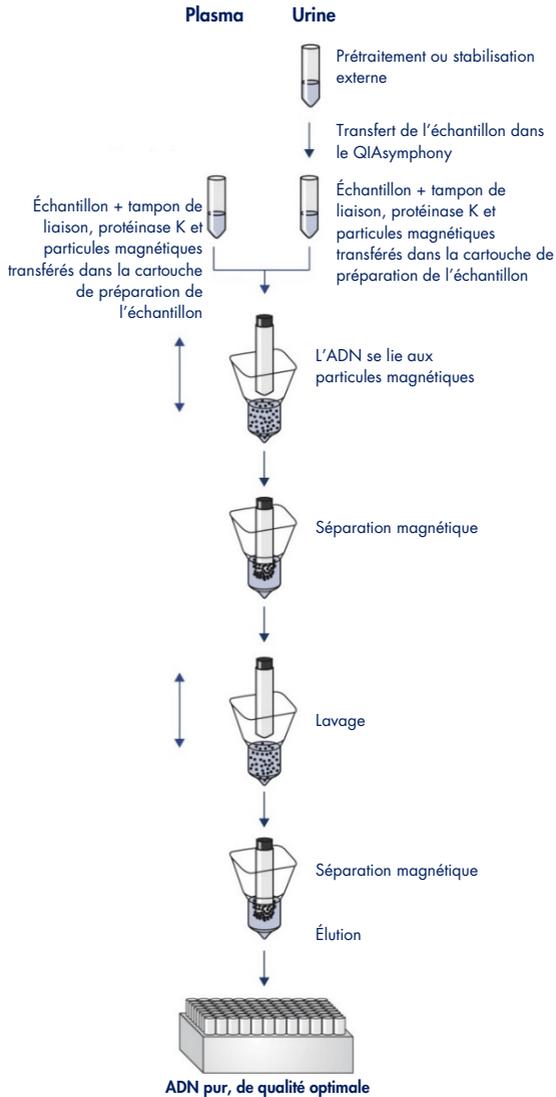


Figure 1. Schématisation du principe du QIASymphony SP. Le QIASymphony SP traite un échantillon contenant des particules magnétiques de la manière suivante : une tige magnétique protégée par un manchon de tige entre dans un puits contenant un échantillon et attire les particules magnétiques. Le manchon de la tige magnétique est placé au-dessus d'un autre puits et les particules magnétiques sont libérées. Ces étapes sont répétées plusieurs fois pendant le traitement des échantillons. Le QIASymphony SP utilise une tête magnétique contenant un ensemble de 24 tiges magnétiques, ce qui lui permet de traiter jusqu'à 24 échantillons simultanément.

Procédure pour l'ADN circulant avec le QIASymphony DSP



Résumé et explication

Les acides nucléiques libres circulants (circulating cell-free nucleic acids, ccfNA) sont présents dans le plasma ou l'urine, généralement sous forme de fragments courts d'une taille < 1 000 pb (ADN) et < 1 000 nt (ARN). En général, la concentration en ccfNA dans les liquides biologiques, tels que le plasma ou l'urine, est faible et varie considérablement d'un individu à l'autre. Pour les ccfNA, la concentration peut aller de 1 à 100 ng/ml. Le système d'ADN circulant QIASymphony DSP est un système *in vitro* prêt à l'emploi pour la purification qualitative de l'ADN libre circulant (circulating cell-free DNA, ccfDNA) humain à partir de plasma et d'urine humains à l'aide de l'instrument QIASymphony SP.

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit contient les réactifs permettant la purification entièrement automatisée et simultanée de ccfDNA libre à partir de plasma et d'urine humains. Les caractéristiques de performance de chaque tube de prélèvement sanguin n'ont pas été établies, elles doivent être validées par l'utilisateur. La technologie des particules magnétiques permet la purification d'acides nucléiques de qualité optimale, dépourvus de protéines, de nucléases et d'autres impuretés. L'ADN libre purifié est compatible avec un grand nombre d'applications en aval. Le QIASymphony SP effectue toutes les étapes de la procédure de purification. Vous pouvez traiter jusqu'à 96 échantillons, par lots de 24, en une même analyse. Il se peut que les échantillons d'urine nécessitent un prétraitement manuel.

Matériel fourni

Contenu de la trousse

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit

(192)

N° de référence

937556

Nombre de réactions

192 (volume
d'échantillon de 2 ml
et 4 ml)

384 (volume
d'échantillon de 1 ml)

| Abréviations | Nom | Quantité | Ingrédients actifs | Concentration [%]* |
|-----------------------|---|-----------|---|---|
| RC | Reagent cartridge (Cartouche de réactif) [†] REAG CART | 2 | Détergent non ionique Particule magnétique d'échange anionique 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 × 10 ml | Proteinase K | ≥ 1 à < 3 % [p/p] |
| PL | Piercing lid (Couvercle perforable) | 2 | s.o. | s.o. |
| RSS | Reuse Seal Set (jeu de rubans 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'azoture de sodium comme agent de conservation.

[†] Un Reuse Seal Set contient 8 rubans d'étanchéité réutilisables.

Matériel nécessaire, mais non fourni

Lorsque vous manipulez des produits chimiques, vous devez toujours porter un sarrau de laboratoire adapté, des gants jetables et des lunettes de protection. Pour plus d'informations, veuillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) disponibles auprès du fournisseur du produit.

Réactifs supplémentaires

- Buffer ATL (pour le prétraitement d'échantillons d'urine, n° de réf. 939016)
- Tampon phosphate salin (Phosphate-Buffered Saline, PBS, il peut être nécessaire pour compléter le volume d'échantillon)

Pour connaître les informations supplémentaires nécessaires au prétraitement et à la stabilisation des échantillons d'urine, consultez la fiche de protocole sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.

Consommables

- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (n° de réf. 997002)
- 8-Rod Covers (n° de réf. 997004)
- Filter-Tips, 200 et 1 500 µl (n° de réf. 990332 et 997024)
- Tubes d'échantillon. Pour connaître les formats de tubes primaires et secondaires compatibles, consultez la liste de matériel de laboratoire sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.
- Tubes ou plaques d'éluion. Pour connaître les formats de tubes et plaques d'éluion compatibles, consultez la liste de matériel de laboratoire sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.

Équipement*

- QIAAsymphony SP (n° de réf. 9001297)
- Mélangeur vortex

Protocole et matériel de laboratoire

Outre le manuel, le mode d'emploi comprend la feuille de protocole, la liste du matériel de laboratoire et les caractéristiques de performance, qui se trouvent sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.

* Avant leur utilisation, assurez-vous que les instruments ont bien été vérifiés et étalonnés conformément aux recommandations du fabricant.

Avertissements et précautions

Sachez que vous pouvez être tenu de consulter votre réglementation locale pour signaler les incidents graves survenus en rapport avec le dispositif au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité réglementaire dans laquelle l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro.

Lisez attentivement toutes les consignes avant d'utiliser la trousse.

Soyez conscient des risques restants suivants :

- Lors de l'utilisation de tubes secondaires, veuillez vous assurer que les identifiants des échantillons ne sont pas mélangés lors du transfert des identifiants des échantillons du tube primaire au tube secondaire.
- Les ID des échantillons peuvent également être saisis manuellement (pour plus de détails, reportez-vous au *manuel de l'utilisateur du QIA Symphony SP*). Si des données d'identification erronées sont saisies manuellement, une mauvaise corrélation entre l'échantillon et le patient peut se produire.

Information sur la sécurité

Lorsque vous manipulez des produits chimiques, vous devez toujours porter un sarrau de laboratoire adapté, des gants jetables et des lunettes de protection. 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 pouvez les trouver, les afficher et les imprimer pour chaque trousse et composant de trousse QIAGEN.

- Tout le matériel chimique et biologique est potentiellement dangereux. Les échantillons sont potentiellement infectieux et doivent être traités comme du matériel présentant un risque biologique.
- Mettez au rebut les échantillons et les autres déchets produits par les dosages conformément aux procédures de sécurité locales.

AVERTISSEMENT Risque de blessures corporelles



N'ajoutez pas d'eau de Javel ni de solutions acides directement dans la préparation de l'échantillon.

Les tampons dans la cartouche de réactif contiennent de l'azoture de sodium. Si vous renversez les tampons de la trousse, nettoyez avec un détergent de laboratoire adapté et de l'eau. Si vous renversez un liquide contenant des agents potentiellement infectieux, nettoyez d'abord la zone avec un détergent de laboratoire et de l'eau, puis avec de l'hypochlorite de sodium à 1 % (V/V).

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

Informations sur les urgences

CHEMTREC

États-Unis et Canada 1-800-424-9300

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

Précautions

Les indications suivantes de danger et de précaution s'appliquent aux composants de QIASymphony DSP Circulating DNA Kit.

MBS3

Contient : azoture de sodium. Avertissement! Peut être nocif en cas d'ingestion. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. 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. Évitez de respirer le brouillard ou les vapeurs. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Porter un équipement de protection respiratoire. En cas d'exposition prouvée ou suspectée : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Transporter la victime à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.

QSW9



Contient de l'éthanol. Danger! Liquide et vapeurs très inflammables. Provoque une grave irritation oculaire. Tenir à l'écart de la chaleur/des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. Ne pas fumer. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Stocker dans un endroit bien ventilé. Tenir au frais. Déposer le contenu/récipient dans une installation de traitement des déchets agréée.

Mise au rebut

Les déchets contiennent des échantillons et des réactifs. Ces déchets peuvent contenir des matières dangereuses ou infectieuses, et ils doivent être mis au rebut correctement. Consultez les règles de sécurité locales en matière de mise au rebut.

Éliminez comme des déchets dangereux conformément aux réglementations locales et nationales. Cela s'applique également aux produits non utilisés.

Pour obtenir plus de renseignements, veuillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) correspondantes. Elles sont disponibles en ligne au format PDF sur www.qiagen.com/safety, où vous pouvez les trouver, les afficher et les imprimer pour chaque trousse et composant de trousse QIAGEN.

Conservation et manipulation des réactifs

La trousse QIASymphony DSP Circulating DNA Kit doit être conservée à la verticale à température ambiante (15–25 °C). Les particules magnétiques des cartouches de réactif demeurent actives si elles sont conservées à cette température.

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

Remarque : L'étiquette sur le carton de QIASymphony DSP Circulating DNA Kit indique la date d'expiration de la trousse. Le fichier de résultats indique la date d'expiration de la cartouche de réactif uniquement.

N'utilisez pas QIASymphony DSP Circulating DNA Kit au-delà de sa date d'expiration.

Stabilité en cours d'utilisation

Les cartouches de réactif partiellement utilisées peuvent être stockées pendant un maximum de 4 semaines, debout à température ambiante (15–25 °C), ce qui permet une réutilisation rentable des réactifs et un traitement plus flexible des échantillons. Si une cartouche de réactif est partiellement usagée, remplacez le couvercle du logement contenant les particules magnétiques puis fermez immédiatement la avec les rubans d'étanchéité réutilisables (RSS) fournis au terme de la séquence de protocole afin d'éviter toute évaporation.

Pour éviter l'évaporation du réactif, ouvrez la cartouche de réactif pendant 15 heures maximum (y compris les temps d'analyse) à une température ambiante maximale de 32 °C. La conservation incorrecte des composants de la trousse peut accélérer la dégradation des tampons.

En analysant des lots contenant un faible nombre d'échantillons (< 24), vous augmenterez la durée d'ouverture de la cartouche de réactif (RC) et les volumes de tampon requis, ce qui peut réduire le nombre total de préparations d'échantillon possibles par cartouche.

N'exposez pas les cartouches de réactif aux rayons UV (p. ex. ceux utilisés pour la décontamination), une telle exposition peut accélérer la dégradation des cartouches et des tampons.

Prélèvement, stockage et manipulation des échantillons

Pour plus d'informations sur la procédure automatisée (y compris des informations sur les tubes d'échantillon utilisables avec des protocoles spécifiques), le stockage, la manipulation et sur les prétraitements d'échantillons spécifiques, consultez la fiche de protocole correspondante sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.

Procédure

Purification automatisée sur le QIASymphony SP

Le QIASymphony SP facilite la préparation d'échantillon automatisée. Les échantillons, les réactifs et consommables et les éluats se trouvent dans des tiroirs différents. Il vous suffit de charger dans le tiroir qui convient les échantillons, les réactifs fournis dans des cartouches spécifiques et les consommables sur portoirs, avant une analyse. Lancez le protocole puis sortez l'ADN purifié du tiroir « Eluate » (Éluat) après le traitement. Reportez-vous aux manuels fournis avec l'instrument pour connaître les consignes d'utilisation.

Remarque : La maintenance facultative n'est pas indispensable au bon fonctionnement de l'instrument mais elle est vivement recommandée pour réduire le risque de contamination.

Le nombre des protocoles possibles est en constante augmentation et vous pouvez télécharger gratuitement des protocoles QIAGEN supplémentaires sur www.qiagen.com, l'onglet Resource (Ressources) des trousse individuelles.

Chargement des cartouches de réactif 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 19). Chaque logement de la cartouche de réactif contient un réactif spécifique, par exemple les particules magnétiques, le tampon de liaison, le tampon de lavage ou le tampon d'éluat. Vous pouvez refermer les cartouches de réactif partiellement usagées avec les rubans d'étanchéité réutilisables en vue d'une réutilisation ultérieure, cela économise les déchets dus aux réactifs restants à la fin de la procédure de purification.



Figure 2. Cartouche de réactif QIASymphony. La cartouche de réactif contient tous les réactifs requis pour l'analyse de protocole.

Avant de démarrer la procédure, veillez à ce que les particules magnétiques soient toutes remises en suspension. Désolidarisez le logement de particules magnétiques de la structure de la cartouche de réactif, agitez-le au mélangeur vortex vigoureusement pendant au moins 3 minutes puis replacez-le dans la structure avant la première utilisation.

Remarque : Il se peut que les particules magnétiques changent de couleur. Cela n'influence en rien les performances.

Placez la cartouche de réactif dans le support à cartouche de réactif. Avant d'utiliser une cartouche de réactif pour la première fois, placez le couvercle perforable (PL) sur le dessus de la cartouche de réactif (Figure 2, ci-dessus).

Remarque : Le couvercle perforable présente une arête vive. Faites attention lorsque vous le mettez sur la cartouche de réactif. Veillez à mettre le couvercle perforable sur la cartouche de réactif dans l'orientation qui convient.

Une fois le couvercle du logement de particules magnétiques retiré, chargez la cartouche de réactif dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).

Vous pouvez ranger les cartouches de réactif partiellement usagées jusqu'à la prochaine utilisation (voir « Conservation et manipulation des réactifs » page 15).

Remarque : Vous devez ajouter la protéinase K conformément aux indications de la fiche de protocole correspondante sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.

Remarque : Assurez-vous de ne pas utiliser des cartouches de réactif, des logements de particules magnétiques et des flacons de protéinase K provenant de lots de trousse différents.

Chargement du matériel en plastique dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

Les cartouches de préparation de l'échantillon, 8-Rod Covers (toutes deux sur portoirs dans des boîtes d'unités) et les embouts à filtre jetables (embouts de 200 µl fournis dans des portoirs bleus, embouts de 1 500 µl dans des portoirs noirs) sont chargés dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).

Remarque : Veillez à retirer les couvercles des boîtes d'unités avant de charger ces dernières dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).

Remarque : Les pointes sont munies de filtres qui empêchent toute contamination croisée.

Les fentes des portoirs à embouts sur la table de travail du QIASymphony SP peuvent recevoir n'importe quel type de portoir à embouts. Le QIASymphony SP identifie le type d'embout chargé pendant la vérification d'inventaire.

Remarque : Ne rechargez pas les portoirs à pointes ou les boîtes d'unités pour les cartouches de préparation de l'échantillon ou les 8-Rod Covers avant de démarrer une autre analyse de protocole. Le QIASymphony SP peut utiliser des portoirs à pointes ou des boîtes d'unités partiellement usagé(s).

Pour connaître les consommables nécessaires, consultez la fiche de protocole correspondante sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com. Pour toute information sur la commande de matériel en plastique, voir page 37.

Chargement du tiroir « Waste » (Déchets)

Les cartouches de préparation de l'échantillon et les 8-Rod Covers utilisés pour une analyse sont replacés sur un portoir dans des boîtes d'unités vides dans le tiroir « Waste » (Déchets). Assurez-vous que le tiroir « Waste » (Déchets) contient suffisamment de boîtes d'unités vides pour les déchets en plastique générés pendant l'analyse de protocole.

Remarque : Veillez à retirer les couvercles des boîtes d'unités avant de charger ces dernières dans le tiroir « Waste » (Déchets). Si vous utilisez des boîtes de 8-Rod Cover pour récupérer les cartouches de préparation de l'échantillon et les 8-Rod Covers usagés, veillez à retirer le séparateur de la boîte.

Vous devez placer un sac destiné aux embouts à filtre usagés à l'avant du tiroir « Waste » (Déchets).

Remarque : Le système ne vérifie pas la présence d'un sac d'élimination des embouts. Assurez-vous que le sac d'élimination des pointes est correctement placé avant de démarrer une analyse de protocole. Pour plus d'informations, consultez les manuels fournis avec l'instrument. Videz le sac d'embouts après le traitement de 96 échantillons maximum afin d'éviter un enrayage dû aux embouts.

Un récipient à déchets recueille les déchets liquides générés pendant la procédure de purification. Le tiroir « Waste » (Déchets) ne peut être fermé que si le récipient à déchets est en place. Mettez les déchets liquides au rebut dans le respect de la réglementation locale en matière de sécurité et de protection de l'environnement. Ne passez pas le flacon de déchets rempli à l'autoclave. Videz le flacon à déchets au plus tard après avoir traité un maximum de 96 échantillons.

Chargement du tiroir « Eluate » (Éluat)

Chargez le portoir d'éluat requis dans le tiroir « Eluate » (Éluat). Dans la mesure où une conservation de longue durée des éluats dans le tiroir « Eluate » (Éluat) peut entraîner une évaporation ou une condensation, vous devez utiliser la position de refroidissement. Utilisez uniquement la « Elution slot 1 » (Fente d'éluat 1) avec le support réfrigérant correspondant.

Vérification d'inventaire

Avant de démarrer une analyse, l'instrument vérifie qu'il y a suffisamment de consommables chargés dans les tiroirs correspondants pour les lots en attente.

Préparation du matériel d'échantillon

Les trousse QIAAsymphony DSP Circulating DNA Kits sont destinées à la purification automatisée de l'ADN libre circulant humain à partir de plasma et d'urine humains.

Évitez la formation de mousse dans ou à la surface des échantillons. La présence de mousse dans les échantillons peut entraîner le pipetage d'un volume d'échantillon erroné. Selon le matériel de départ, un prétraitement de l'échantillon peut se révéler nécessaire. Les échantillons doivent revenir à température ambiante (15–25 °C) avant le début de l'analyse.

Pour plus d'informations sur la procédure automatisée (y compris des informations sur les tubes d'échantillon utilisables avec des protocoles spécifiques) et sur des prétraitements d'échantillons spécifiques, consultez la fiche de protocole et la liste de matériel de laboratoire correspondantes sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.

Conservation 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 QS DSP Circulating DNA Kit en conjonction avec des applications exemplaires en aval. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de consulter le mode d'emploi de l'application spécifique en aval utilisée dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail pour établir les conditions de stockage appropriées.

Après la préparation des échantillons, les éluats peuvent être conservés de 2–8 °C jusqu'à 1 mois et à -20 °C ou à -80 °C jusqu'à 2 mois. Vous ne devez pas décongeler des éluats congelés plus de trois fois.

Protocole : Purification de l'ADN libre circulant

Présentation du protocole

Tableau 1. Présentation du protocole

| Échantillon | Volume d'échantillon (µl) | Volume d'éluion (µl) | Protocole du QIAsymphony SP |
|---------------|---------------------------|----------------------|-----------------------------|
| Plasma, urine | 1 000 | 60 | circDNA_1000_DSP |
| Plasma, urine | 2 000 | 60 | circDNA_2000_DSP |
| Plasma, urine | 4 000 | 60 | circDNA_4000_DSP |

Des informations détaillées sont fournies dans les fiches de protocole et la liste du matériel de laboratoire, qui se trouvent sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.

Voici un protocole général pour l'utilisation des QIAsymphony DSP Kits. Des informations détaillées pour chaque protocole, y compris les volumes et les tubes, sont fournies dans les fiches de protocole, qui se trouvent sous l'onglet Resource (Ressources) de la page produit sur www.qiagen.com.

Points importants avant de commencer

- Assurez-vous de maîtriser l'utilisation du QIAsymphony SP. Reportez-vous aux manuels fournis avec l'instrument pour connaître les consignes d'utilisation.
- La maintenance facultative n'est pas indispensable au bon fonctionnement de l'instrument mais elle est vivement recommandée pour réduire le risque de contamination.
- Avant le début de la procédure, lisez la section « Description et principe », page 5.
- Prenez connaissance de la fiche de protocole correspondant à la procédure que vous souhaitez utiliser. (Les fiches de protocole se trouvent sous l'onglet Resource [Ressources] de la page du produit sur www.qiagen.com.)
- N'agitez pas trop la cartouche de réactif, car cela risquerait de former de la mousse et donc d'empêcher la détection du niveau de liquide.

Avant de commencer un prétraitement nécessitant du Buffer ATL, vérifiez si un précipité s'est formé dans le Buffer ATL. Dissolvez si nécessaire ce précipité en le chauffant à 70 °C et en l'agitant délicatement dans un bain-marie. Aspirez les bulles à la surface du Buffer ATL.

À faire avant de commencer

- Avant de démarrer la procédure, veillez à ce que les particules magnétiques soient toutes remises en suspension. Agitez au mélangeur vortex vigoureusement le logement contenant les particules magnétiques pendant au moins 3 minutes avant la première utilisation.
- Veillez à mettre le couvercle perforable sur la cartouche de réactif et à retirer le couvercle du logement de particules magnétiques ou, si vous utilisez une cartouche de réactif partiellement usagée, veillez à retirer les rubans d'étanchéité réutilisables.
- La cartouche de réactif ne contient pas de protéinase K, l'utilisateur doit l'ajouter (tiroir d'échantillon, fente A, position 1, 2 et/ou 3). Veillez à disposer du volume correct de protéinase K (Pour des informations détaillées, consultez la fiche de protocole sous l'onglet Resource [Ressources] de la page du produit sur www.qiagen.com.)
- Si les échantillons sont munis d'une code-barres, orientez les échantillons dans le porte-tubes de sorte que les codes-barres se trouvent face au lecteur de code-barres situé à gauche du QIASymphony SP.
- Pour toute information sur les tubes d'échantillon compatibles avec un certain protocole, consultez la liste de matériel de laboratoire correspondante sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.
- Pour toute information sur les volumes d'échantillon minimaux pour les tubes secondaires, consultez la liste de matériel de laboratoire correspondante sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.

Procédure

1. Fermez tous les tiroirs ainsi que le capot.
2. Mettez le QIASymphony SP sous tension puis attendez que l'écran **Sample Preparation** (Préparation des échantillons) apparaisse et que la procédure d'initialisation soit terminée. Le bouton d'alimentation se trouve dans l'angle inférieur gauche du QIASymphony SP.

3. Connectez-vous à l'instrument.
4. Chargez le portoir d'éluotion requis dans le tiroir « Eluate » (Éluat).

Ne chargez pas de plaque à 96 puits dans la « Elution slot 4 » (Fente d'éluotion 4). Utilisez la « Elution slot 1 » (Fente d'éluotion 1) avec le support réfrigérant correspondant.

Lorsque vous utilisez une plaque à 96 puits, veillez à l'orienter correctement car un positionnement incorrect peut provoquer un mélange d'échantillons dans l'analyse à venir.

Lorsque vous utilisez le portoir Elution Microtubes CL, retirez le fond en tournant le portoir jusqu'à ce que le fond se désolidarise.
5. Assurez-vous que le tiroir « Waste » (Déchets) est correctement préparé puis procédez à une vérification d'inventaire de ce tiroir, en incluant la goulotte des embouts et les déchets liquides. Remplacez le sac d'élimination des embouts si nécessaire.
6. Chargez la ou les cartouche(s) de réactif et les consommables nécessaires dans le tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).
7. Procédez à une vérification d'inventaire du tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables).
8. Mettez les échantillons dans le support d'échantillon qui convient puis chargez-les dans le tiroir « Sample » (Échantillon).
9. À l'aide de l'écran tactile, saisissez les informations requises pour chaque lot d'échantillons et pour la protéinase K à traiter.

Saisissez les informations suivantes :

 - Informations sur l'échantillon (selon les portoirs d'échantillon utilisés)
 - Protocole à exécuter (Jeu de contrôles de dosage)
 - Volume d'éluotion et position de sortie

Une fois les informations sur le lot saisies, le statut passe de LOADED (CHARGÉ) à QUEUED (EN ATTENTE). Dès qu'un lot est placé dans la file d'attente, le bouton Run (Exécuter) apparaît.
10. Mettez la protéinase K dans le support d'échantillon qui convient aux positions 1, 2 et 3 puis chargez-les dans la fente A du tiroir « Sample » (Échantillon).
11. Définissez la protéinase K en appuyant sur le bouton IC.

12. Appuyez sur le bouton Run (Exécuter) pour lancer la procédure de purification.

Toutes les étapes de traitement sont entièrement automatisées. À la fin de l'analyse de protocole, le statut du lot passe de RUNNING (EN COURS) à COMPLETED (TERMINÉ).

13. Sortez le portoir d'éluotion contenant les acides nucléiques purifiés du tiroir « Eluate » (Éluat).

14. L'ADN est prêt à l'emploi ou vous pouvez le conserver entre 2 et 8 °C, à -20 °C ou à -80 °C.

Nous vous recommandons de sortir la plaque d'éluat du tiroir « Eluate » (Éluat) dès la fin de l'analyse. Selon la température et l'humidité, les plaques d'éluotion laissées dans le QIASymphony SP après l'analyse peuvent présenter une condensation ou une évaporation.

En règle générale, les particules magnétiques ne sont pas transférées dans les éluats. En cas de transfert, 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'éluotion.

15. Si la cartouche de réactifs n'est pas vide, fermez-la avec les rubans d'étanchéité réutilisables fournis à la fin de l'analyse de protocole pour éviter l'évaporation.

Remarque : Pour plus d'informations sur le stockage des cartouches de réactif partiellement usagées, voir « Conservation et manipulation des réactifs », page 15.

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

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

17. Nettoyez le QIASymphony SP.

Suivez les consignes de maintenance des manuels d'utilisation fournis avec l'instrument. Assurez-vous de nettoyer régulièrement les protections des embouts afin de limiter le risque de contamination croisée.

18. Fermez les tiroirs de l'instrument puis mettez le QIASymphony SP hors tension.

Contrôle qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot de la trousse 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 du ccfDNA à partir d'urine et de plasma humains.

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 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 présentées sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.

Guide de dépannage

Ce guide de dépannage peut vous aider à résoudre les problèmes qui pourraient se poser. Pour obtenir plus de renseignements, consultez également la page de la Foire aux Questions (Frequently Asked Questions, FAQ) de notre centre d'assistance technique : www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Les scientifiques des services techniques QIAGEN sont toujours ravis de répondre à vos questions concernant les informations et/ou les protocoles mentionnés dans ce manuel ou sur les échantillons et les technologies de dosage (pour connaître les coordonnées, reportez-vous au 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, reportez-vous aux manuels d'utilisation fournis avec l'instrument. |
|--|---|

Précipité dans un compartiment de réactif de la cartouche entamée de la trousse QIASymphony DSP

- | | |
|--|---|
| a) Évaporation du tampon | Une évaporation excessive peut augmenter la concentration en sel dans les tampons. Jetez la cartouche de réactif. Lorsqu'une cartouche de réactif partiellement usagée n'est pas utilisée pour la purification, veillez à ce que les logements de tampon soient scellés avec des rubans d'étanchéité réutilisables. |
| b) Stockage de la cartouche de réactif | Le stockage de la cartouche de réactif en deçà de 15 °C peut provoquer la formation de précipités. |

Faible rendement en ADN

- | | |
|--|--|
| a) Remise en suspension incomplète des particules magnétiques | Avant de démarrer la procédure, assurez-vous que les particules magnétiques sont totalement resuspendues. Avant emploi, agitez au mélangeur vortex pendant au moins 3 minutes. |
| b) Obstruction de la pointe de pipette par un matériau insoluble | La substance insoluble n'a pas été éliminée de l'échantillon avant la procédure de purification sur le QIASymphony. Appliquez si nécessaire les procédures de prétraitement décrites dans la fiche de protocole correspondante sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com . |
| c) L'échantillon contient une faible concentration de ccfDNA | En raison des très faibles quantités de ccfDNA 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 réactif | Les échanges avec l'air ambiant peuvent réduire la stabilité des tampons, conduisant à une extraction moins efficace de l'ADN libre avec une cartouche de réactif partiellement usagée. Lorsqu'une cartouche de réactif partiellement usagée n'est pas utilisée pour la purification, veillez à ce que les logements de tampon soient soigneusement scellés avec des rubans d'étanchéité réutilisables. |
| e) Dégradation rapide de l'ADN libre circulant dans un échantillon d'urine non stabilisé | En raison de la dégradation rapide du ccfDNA dans les échantillons d'urine non stabilisés après le prélèvement, il est possible de détecter une concentration d'ADN nulle ou faible dans les éluats. 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 prétraitement par tampon ATL immédiatement après recueil et centrifugation, suivi d'une extraction d'ADN sur l'instrument, comme le décrit la fiche de protocole correspondante. |

Transfert d'échantillon absent/incomplet

- | | |
|---|--|
| a) Un volume d'échantillon incorrect est chargé | <p>circDNA_1000_DSP : Si l'on charge un volume d'échantillon inférieur à 1,2 ml (tube Sarstedt) et à 1,4 ml (tube BD), il existe un risque accru d'obtenir le code d'erreur 140043 (autoriser une quantité moindre d'échantillon) pour l'échantillon. Si l'on charge un volume d'échantillon inférieur à 0,7 ml (tube Sarstedt) et à 0,9 ml (tube BD), il y a un risque accru de marquage invalide et de non-transfert de l'échantillon.</p> <p>circDNA_2000_DSP : Si l'on charge un volume d'échantillon inférieur à 2,4 ml, il existe un risque accru d'obtenir le code d'erreur 140043 (autoriser une quantité moindre d'échantillon) pour l'échantillon. Si l'on charge un volume d'échantillon inférieur à 1,4 ml, il y a un risque accru de marquage invalide et de non-transfert de l'échantillon.</p> <p>circDNA_4000_DSP : Si l'on charge un volume d'échantillon inférieur à 4,5 ml, il existe un risque accru d'obtenir le code d'erreur 140043 (autoriser une quantité moindre d'échantillon) pour l'échantillon. Si l'on charge un volume d'échantillon inférieur à 3,6 ml, il y a un risque accru de marquage invalide et de non-transfert de l'échantillon.</p> <p>Chargez le volume d'échantillon correct, comme indiqué dans la liste du matériel de laboratoire correspondante. Si la quantité d'échantillon disponible est insuffisante, ajoutez un tampon phosphate salin (Phosphate-buffered saline, PBS) à l'échantillon jusqu'à obtenir le volume requis avant de le charger.</p> |
| 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. Éliminez les bulles du tube d'échantillon. |

Culot brun dans l'éluat visible

Transfert des billes dans l'éluat

Si un transfert de billes se produit, les particules magnétiques dans les éluats n'affecteront pas la plupart des applications en aval.

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

En l'absence de séparateur magnétique approprié, centrifugez le tube contenant l'ADN pendant 1 minute à vitesse maximale dans une microcentrifugeuse afin que les particules magnétiques restantes forment un culot.

Symboles

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

| Symbole | Définition du symbole |
|---|--|
|  Σ <N> | Contient des réactifs suffisants pour <N> réactions |
|  | Date limite d'utilisation |
|  | Ce produit répond aux exigences de la réglementation européenne 2017/746 pour les 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 |

| 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 réactif) |
| REAG CART | Cartouche de réactif |
| Sodium azide | Azoture de sodium |
| E1OH | Éthanol |
| UDI | Identifiant unique du dispositif |

Coordonnées

Pour toute assistance technique ou pour obtenir des renseignements supplémentaires, consultez notre centre d'assistance technique à l'adresse www.qiagen.com/Support, appelez le 00800-22-44-6000 ou contactez les services techniques QIAGEN ou un distributeur local (voir la couverture arrière ou sur www.qiagen.com).

Annexe : Quantification de l'ADN libre circulant

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

Pour commander

| Produit | Table des matières | n° de réf. |
|---|--|------------|
| QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192) | 2 cartouches de réactif, 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) | Buffer ATL 4 x 50 ml pour le prétraitement des échantillons d'urine | 939016 |
| Proteinase K (10 mL) | 1 flacon de 10 ml | 19134 |
| Reagent Cartridge Holder (2) | Reagent Cartridge Holder à utiliser sur le QIASymphony SP | 997008 |
| Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym | Support réfrigérant pour tubes de 2 ml à bouchon à vis. À utiliser dans le tiroir « Eluate » (Éluat) du QIASymphony | 9020674 |
| Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym | Support réfrigérant pour portoirs EMT. À utiliser dans le tiroir « Eluate » (Éluat) du QIASymphony | 9020730 |
| Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym | Support réfrigérant pour tubes LoBind à bouchon pression Safe-Lock Eppendorf® de 1,5 ml. À utiliser dans le tiroir « Eluate » (Éluat) du QIASymphony | 9020731 |

| | | |
|--------------------------------------|--|---------|
| Sample Prep Cartridges, 8-well (336) | Cartouches de préparation de l'échantillon à 8 puits à utiliser sur le QIASymphony SP | 997002 |
| 8-Rod Covers (144) | 8-Rod Covers à utiliser avec le QIASymphony SP | 997004 |
| Filter-Tips, 200 µL (1024) | Embouts à filtre jetables, sur portoir; (8 x 128). À utiliser avec les instruments QIAcube® et QIASymphony SP/AS | 990332 |
| Filter-Tips, 1500 µL (1024) | Embouts à filtre jetables, sur portoir; (8 x 128). À utiliser sur le QIASymphony SP/AS | 997024 |
| Tip Disposal Bags (15) | Tip disposal bags à utiliser sur le QIASymphony SP | 9013395 |
| Reuse Seal Set (20) | Reuse Seal Sets permettant de sceller les cartouches de réactif QIASymphony partiellement usagées | 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 troussees QIAGEN respectives. Les modes d'emploi des troussees QIAGEN sont disponibles sur www.qiagen.com ou peuvent être demandés aux services techniques QIAGEN ou au 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 des matériaux fournis (ajout des ingrédients actifs)Mise à jour des avertissements et précautionsMise à jour de la conservation et de la manipulation des réactifsAjout d'une section Mise au rebut <p>Mise à jour du guide de dépannage (ajout du transfert des billes)</p> |
| R2, Janvier 2023 | <p>Version 2, Révision 2</p> <ul style="list-style-type: none">Mise à jour pour ajout de BioScript pour un volume d'échantillon de 1 ml (circDNA_1000_DSP)Mise à jour du Guide de dépannage |

Cette page est intentionnellement laissée vierge

Cette page est intentionnellement laissée vierge

Contrat de licence limité pour QIAasympy DSP Circulating DNA 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 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. Sur 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 expressément énoncées, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce panel et/ou son utilisation 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 toutes les autres licences, expresses ou tacites, autres que celles expressément énoncées.
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 du présent accord de licence limité par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocat, en cas d'action en application du présent accord ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés à la trousse et/ou à ses composants.

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

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAasympy®, QIAcube® (Groupe QIAGEN); Eppendorf® (Eppendorf AG). Les marques déposées, marques de commerce et autres marques citées dans ce document doivent être considérées comme protégées par la loi, même si elles ne sont pas spécifiquement signalées comme telles.

Janv. 2023 HB-3034-002 1130675FRCA © 2023 QIAGEN, tous droits réservés

