

Instructions d'utilisation (Manuel) du QIAsymphony[®] DSP DNA Mini Kit (fiche de protocole)

Protocole VirusBlood200_V5_DSP

Version 2



Pour utilisation diagnostique in vitro

À utiliser avec les QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)



REF

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne

R1

La fiche de protocole disponibles sous forme électronique peut être trouvée sous l'onglet ressource (ressources) de la page produit sur www.qiagen.com.

Informations générales

Le QIAAsymphony DSP DNA Kit est destiné à être utilisé dans le cadre de diagnostics 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 QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit. 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 (réf. 937236)
Échantillons	Sang total humain (EDTA ou citrate anti-coagulé)
Nom du protocole	VirusBlood200_V5_DSP
Jeu de témoins d'analyse par défaut	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Données	Volume d'éluion : 60, 85, 110 et 165 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou ultérieure
Configuration logicielle requise pour une utilisation IVD	Default Profile 1

Matériel nécessaire, mais non fourni

Pour la préparation du contrôle interne–Buffer ATE

- Tube à échantillon de 2 ml (Sarstedt® n° de réf. 72.693, sans collerette)
- Tube à échantillon de 2 ml (Sarstedt, n° de réf. 72.694, avec collerette)
- Tube à fond rond en polystyrène rond de 14 ml Falcon BD™ (n° de réf. 352051)

Tiroir « Sample » (Échantillon)

Type d'échantillon	Sang total humain (EDTA, citrate ou héparine anti-coagulé[e])
Volume d'échantillon	Dépend du type de tube d'échantillons utilisés ; pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet Resource (Ressource) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com .
Tubes d'échantillon primaires	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet resource (ressources) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com .
Tubes d'échantillon secondaires	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet resource (ressources) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com .
Inserts	Dépend du type de tube d'échantillons utilisés ; pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire disponible dans l'onglet Resource (Ressource) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com .
Autre	Mélange contrôle interne (IC)–Buffer ATE nécessaire ; l'utilisation d'une solution IC 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 1–17	Pointes à filtre jetables, 200 µl ou 1 500 µl
Support de boîtes 1–4	Boîtes contenant des cartouches de préparation d'échantillons ou 8-Rod Covers

S.O. = sans objet.

Tiroir « Waste » (Déchets)

Support de boîtes 1–4	Vider les boîtes
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 la liste du matériel de laboratoire, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse 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†	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl†	98	188	278	368
Sample prep cartridges‡	21	42	63	84
8-Rod Covers§	3	6	9	12

* 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/portoir de cônes.

‡ Le nombre de pointes à filtre requises correspond à 1 inventaire par RC.

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

¶ Il y a douze manchons pour 8-Rod Covers/boîte.

Remarque : les nombres de pointes 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 choisi

Volume d'éluat choisi (µl)*	Volume d'éluat initial (µl)†
60	90
85	115
110	140
165	195

* Le volume d'éluat choisi 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 IC–Buffer ATE

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

La quantité de contrôle interne qui est ajoutée dépend du système de dosage et du volume d'éluat choisi dans le protocole VirusBlood200_V5_DSP. Le calcul et la validation doivent être effectués par l'utilisateur. Se reporter aux instructions du fabricant pour le dosage en aval afin de déterminer la concentration optimale du contrôle interne.

Les contrôles internes doivent être ajoutés au mélange contrôle interne-Buffer ATE (ATE) dans un volume total de 60 µl. Il est possible d'utiliser un mélange de contrôles internes pour analyser différents paramètres d'un seul éluat. La compatibilité des différents contrôles internes doit être validée par l'utilisateur. Il est recommandé de préparer les mélanges nécessaires juste avant leur utilisation. En l'absence de contrôle interne, le recours au Buffer ATE reste nécessaire.

Volume d'éluat choisi (µl)	Volume d'éluat initial (µl)	Volume de contrôle interne (µl)*	Volume de Buffer 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 de contrôle interne s'appuie sur les volumes d'éluat initiaux. Le volume de vide supplémentaire dépend du type de tube d'échantillon utilisé pour le mélange de CI ; pour plus de détails, voir la liste de matériel de laboratoire disponible sur www.qiagen.com.

Remarque : les valeurs indiquées dans le tableau sont destinées à la préparation du mélange contrôle interne-Buffer ATE pour un dosage en aval nécessitant 0,1 µl de CI/µl d'éluat.

Les tubes contenant des mélanges contrôle interne–Buffer ATE sont placés dans un porte-tubes. Ce porte-tubes contenant le ou les mélanges de contrôle interne–Buffer ATE doit être placé dans la fente A du tiroir « Sample » (Échantillons).

En fonction du nombre d'échantillons à traiter, nous recommandons d'utiliser des tubes de 2 ml (Sarstedt, n° de réf. 72.693 et 72.694) ou des tubes de 14 ml 17 x 100 mm en polystyrène à fond rond (BD, n° de réf. 352051) pour diluer le contrôle interne, comme décrit dans le tableau ci-dessous. Il est possible de répartir le volume dans 2 tubes ou plus.

Calcul du volume du mélange de contrôle interne

Type de tube*	Nom sur l'écran tactile QIAasympphony	Calcul du volume de mélange d'IC par tube
2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, n° de réf. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\dagger$
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted (Sarstedt, n° de réf. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\dagger$
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD, n° de réf. 352051)	BD#352051 FalconPP 17 x 100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\ddagger$

* Pour les notices nécessaires, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible dans l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

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

Préparation des échantillons

Lors de la manipulation de produits chimiques, porter systématiquement 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.

Pour des recommandations générales sur la collecte, le transport et le stockage, se référer à la ligne directrice approuvée du CLSI MM13-A « Collecte, transport, préparation et stockage des échantillons pour les méthodes moléculaires ». En outre, les instructions du fabricant de l'appareil de collecte d'échantillons sélectionné doivent être suivies pendant la préparation des échantillons, le stockage, le transport et la manipulation générale des échantillons.

Sang total humain

Pour l'isolation d'ADN viral, nous recommandons d'utiliser des échantillons de sang total traités par EDTA ou citrate. Pour un stockage à court terme, jusqu'à 7 jours, nous recommandons un stockage entre 2 et 8 °C. Pour une conservation plus longue, nous recommandons de congeler des aliquotes à -20 °C jusqu'à 3 mois ou à -80 °C jusqu'à 1 an.

Remarque : la stabilité de l'échantillon dépend fortement de divers facteurs et est liée à l'application spécifique en aval. Elle a été établie pour le QIASymphony DSP DNA Mini Kit en conjonction avec des applications exemplaires en aval. Il incombe à l'utilisateur de consulter le mode d'emploi de l'application en aval spécifique utilisée dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble de la procédure pour établir des conditions de stockage appropriées.

En cas d'utilisation d'échantillons de sang frais en tubes primaires, bien mélanger les échantillons sanguins (p. ex., en retournant les tubes plusieurs fois) avant de les charger sur QIASymphony SP. Il faut décongeler rapidement les échantillons congelés au bain-marie à 37 °C en les agitant doucement pour garantir un bon mélange, puis les laisser s'équilibrer à température ambiante (entre 15 et 25 °C) avant de commencer la procédure. Pour garantir un transfert d'échantillon fiable, éviter la formation de mousse dans les tubes d'échantillon. Essayer d'éviter la formation de caillots sanguins dans les échantillons et, si nécessaire, transvaser l'échantillon sans caillots dans un nouveau tube.

Stockage des éluats

Il est recommandé de retirer la plaque d'éluats du tiroir « Eluate » (Éluat) dès la fin du cycle. Les plaques d'éluat peuvent être laissées dans le QIASymphony SP après la fin du cycle si celui-ci se termine au cours de la nuit (12 heures au maximum, durée du cycle comprise ; conditions environnementales recommandées : 18–26 °C et 20–75 % d'humidité relative). Selon la température et le taux d'humidité, l'éluat peut subir une condensation ou une évaporation.

Pour un stockage à court terme des éluats jusqu'à 7 jours, nous recommandons de stocker l'acide nucléique purifié entre 2 et 8 °C. Pour un stockage à long terme, nous recommandons un stockage à -20 °C ou -80 °C.

Remarque : la stabilité de l'éluat dépend fortement de divers facteurs et est liée à l'application spécifique en aval. Elle a été établie pour le QIASymphony DSP DNA Mini Kit en conjonction avec des applications exemplaires en aval. Il incombe à l'utilisateur de consulter le mode d'emploi de l'application en aval spécifique utilisée dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble de la procédure pour établir des conditions de stockage appropriées.

Substances interférentes

Les échantillons de sang présentant des concentrations élevées de triglycérides (> 30 g/l) peuvent dériver vers un rendement réduit en ADNg.

Remarque : des tests ont été effectués en utilisant des applications exemplaires en aval pour une évaluation de la qualité des acides nucléiques extraits. Cependant, différentes applications en aval peuvent avoir des exigences différentes en matière de pureté (c'est-à-dire l'absence de substances interférentes potentielles), de sorte que l'identification et le test des substances pertinentes doivent également être établis dans le cadre du développement de l'application en aval pour toute procédure impliquant les QIASymphony DSP DNA Mini Kits.

Remarque : conformément à la norme ISO 20186-2:2019(E), l'héparine présente dans les tubes de prélèvement sanguin peut avoir un impact sur la pureté des acides nucléiques isolés et qu'un éventuel transfert dans les éluats pourrait provoquer des inhibitions dans certaines applications en aval. Par conséquent, nous recommandons l'utilisation d'échantillons de sang traités avec de l'EDTA ou du citrate comme anticoagulant pour la préparation du plasma.

Symboles

Les symboles suivants apparaissent dans ce document. Pour une liste complète des symboles utilisés dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et l'étiquetage, se reporter au 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	<p>Version 2, révision 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Mise à jour de la version 2 pour la conformité à l'IVD• Ajout de la section Matériel nécessaire, mais non fourni• Ajout de la section Substances interférentes• Ajout de la section Stockage des éluats• Ajout d'une section Symboles• Mise à jour de la section Préparation du matériel de prélèvement

Pour les dernières informations sur les licences et les clauses limitatives de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN® correspondant. Les manuels des kits 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® (QIAGEN Group) ; BD™ (Becton Dickinson and Company) ; Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Les noms déposés, marques commerciales, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.
06/2022 HB-3029-S06-001 © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.