

Instructions d'utilisation du QIAasymphony® DSP DNA Midi Kit (fiche de protocole)

Protocole DNA_Buffy_Coat_400_V6 DSP

Version 2

IVD

Pour utilisation diagnostique in vitro

À utiliser avec les QIAasymphony DSP DNA Midi Kit (96)

CE

REF

937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne

R1

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

Informations générales

Le QIASymphony 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 génomique et mitochondrial total réalisée à partir de sang total humain frais ou congelé avec QIASymphony SP et le kit QIASymphony DSP DNA Midi.

Kit	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (référence 937255)
Échantillons	Couche leuco-plaquettaire (EDTA, citrate ou héparine anti-coagulé[e])
Nom du protocole	DNA_BC_400_V6_DSP
Jeu de témoins d'analyse par défaut	ACS_BC_400_V6_DSP
Données	Volume d'éluion : 200 et 400 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou ultérieure
Configuration logicielle requise pour une utilisation IVD	Default Profile 1

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	n/a
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 .

S.O. = sans objet.

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†‡	4	4	4	8
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	110	212	314	424
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
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

Le volume d'éluat est sélectionné sur l'écran tactile. En fonction du type d'échantillon et de la teneur en ADN, le volume d'éluat final peut varier jusqu'à un volume inférieur de 15 µl par rapport au volume sélectionné. En raison de l'éventuelle variation du volume d'éluat, il est recommandé de vérifier le volume d'éluat réel lors de l'utilisation d'un système de préparation automatisée des analyses, qui ne vérifie pas le volume d'éluat avant le transfert. Une éluat en volumes plus petits augmente la concentration d'ADN finale, mais diminue légèrement le rendement. Il est recommandé d'utiliser un volume d'éluat approprié pour l'application prévue en aval.

Préparation du matériel de prélèvement

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.

Couche leucocytaire

La couche leuco-plaquettaire est une fraction de sang total enrichie en leucocytes. L'efficacité de l'enrichissement aux leucocytes dépend de la procédure appliquée pour préparer la couche leuco-plaquettaire et de l'exactitude avec laquelle la couche est extraite. Préparer la couche leuco-plaquettaire en centrifugeant des échantillons de sang total contenant un anticoagulant standard (EDTA, citrate ou héparine) entre 900 et 1100 x g pendant 10 minutes à température ambiante (15 à 25 °C). Après centrifugation, 3 fractions différentes sont discernables : la couche transparente supérieure constitue le plasma ; l'intermédiaire est la couche leuco-plaquettaire contenant des leucocytes concentrés ; et la couche inférieure se compose d'érythrocytes concentrés. Il faut récupérer environ 1 ml de la fraction contenant des leucocytes à partir de 10 ml de sang total centrifugé qui donne en moyenne un enrichissement 5 à 6x. Par exemple, 10 ml de sang total dont la numération en globules blancs atteint 6×10^6 cellules/ml donne une couche leuco-plaquettaire de 1 ml. En supposant un enrichissement 5 fois supérieur des globules blancs, on obtient 3×10^7 cellules/ml. Par conséquent, dans le cadre d'un protocole exploitant une couche leuco-plaquettaire de 400 µl, $1,2 \times 10^7$ cellules seront utilisées.

Pour éviter de surcharger la procédure de purification de l'ADN, ne pas préparer d'échantillons de couche leuco-plaquettaire d'un enrichissement > 10 fois. Si les échantillons de couche leuco-plaquettaire sont issus d'un enrichissement > 10 fois, les diluer pour obtenir un enrichissement 10 fois maximum avec une solution physiologique tamponnée au phosphate (PBS) ou utiliser une substance moins amorçante dans le cadre de la procédure de purification de l'ADN.

Les échantillons de couche leuco-plaquettaire peuvent être utilisés directement ou entreposés à -20 °C ou -80°C pour purification ultérieure de l'ADN. 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.

Remarque : la stabilité de l'échantillon dépend fortement de divers facteurs et est liée à l'application spécifique 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.

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, les éluats peuvent être conservés à température ambiante jusqu'à 2 semaines. Pour une conservation à long terme, nous recommandons un stockage entre 2 et 8 °C, -20 °C ou -80 °C. Les éluats congelés ne doivent pas être décongelés plus de trois fois.

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 Midi 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.

Remarque préliminaire importante

- les particules magnétiques de QIASymphony peuvent copurifier l'ARN éventuellement présent dans l'échantillon. Afin de minimiser le contenu en ARN dans l'échantillon, ajouter de la ribonucléase (ARNase) à l'échantillon avant d'entamer la procédure. La concentration finale en ARNase doit être de 2 mg/ml.

Limites et 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 le QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

Remarque : noter qu'au cours du développement du QIASymphony DSP DNA Midi Kit, rien n'indique que l'héparine ait un impact négatif sur les performances. Toutefois, la norme ISO 20186-2:2019(E) indique que l'héparine présente dans les tubes de prélèvement sanguin peut avoir un impact sur la pureté des acides nucléiques isolés et qu'un éventuel entraînement dans les éluats pourrait provoquer des inhibitions dans certaines applications en aval. Par conséquent, il incombe à l'utilisateur de vérifier si l'héparine a une influence négative sur sa procédure.

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	Version 2, révision 1 <ul style="list-style-type: none">Mise à jour de la version 2 pour la conformité à l'IVDAjout de la section Limitations et substances interférentesAjout de la section Stockage des éluatsAjout d'une section SymbolesMise 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® (groupe QIAGEN). 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-S05-001 © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.