

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

Protocole Complex400_V4_DSP

Version 2

IVD

Pour utilisation diagnostique in vitro

À utiliser avec le QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit

CE

REF

937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne

R1 La fiche de protocole disponible au format électronique se trouve sous l'onglet Ressources, sur la page du produit sur www.qiagen.com.

Informations générales

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

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Type d'échantillon	Échantillons respiratoires et urogénitaux
Nom du protocole	Complex400_V4_DSP
Jeu de contrôles de dosage par défaut	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
Données	Volume d'éluat : 60, 85 et 110 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou ultérieure
Configuration logicielle requise pour l'utilisation IVD	Default Profile 1

Tiroir « Sample » (Échantillon)

Type d'échantillon	Urine, échantillons urogénitaux sur écouvillons (dans un milieu de transport, p. ex. PreservCyt [®] , UTM, eNAT [™]) et échantillons respiratoires sur écouvillons (écouvillons séchés ou dans un milieu de transport, p. ex. UTM, eNAT)
Volume d'échantillon	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Ressources, sur la page du produit sur www.qiagen.com , selon le type de tube d'échantillon utilisé.
Volume d'échantillon traité	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Ressources, sur la page du produit sur www.qiagen.com
Tubes d'échantillon primaires	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Ressources, sur la page du produit sur www.qiagen.com
Tubes d'échantillon secondaires	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Ressources, sur la page du produit sur www.qiagen.com , selon le type de tube d'échantillon utilisé.
Inserts	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Ressources, sur la page du produit sur www.qiagen.com , selon le type de tube d'échantillon utilisé.
Autre	Mélange RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) ; l'utilisation d'un contrôle interne est facultative

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

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

Tiroir « Waste » (Déchets)

Support de boîtes 1 à 4	Boîtes vides
Support pour sac poubelle	Sac poubelle
Support pour flacon à déchets liquides	Flacon à déchets liquides

Tiroir « Eluate » (Éluat)

Portoir d'éluat (il est recommandé d'utiliser la fente 1, position de refroidissement)

Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire, disponible sous l'onglet Ressources, sur la page du produit sur www.qiagen.com.

Matériel en plastique requis

Matériel en plastique	Un lot 24 échantillons*	Deux lots 48 échantillons*	Trois lots 72 échantillons*	Quatre lots 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl†	34	60	86	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†	123	205	295	385
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

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

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

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

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

¶ Il y a douze 8-Rod Covers/boîte.

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

Volume d'éluat sélectionné

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

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

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

Préparation du mélange contrôle interne–RNA (CARRIER)–Buffer AVE (AVE)

Volume d'éluat sélectionné (µl)	Volume de solution-mère d'ARN vecteur (CARRIER)	Volume de contrôle interne (µl)*	Volume de Buffer AVE (AVE) (µl)	Volume final par échantillon (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

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

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

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

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

Calcul du volume du mélange de contrôle interne

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

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

† Utiliser cette équation pour calculer le volume nécessaire de mélange contrôle interne–RNA (CARRIER)–Buffer AVE (AVE) (n = nombre d'échantillons, $120 \mu\text{l}$ = volume de mélange contrôle interne–RNA (CARRIER)–Buffer AVE (AVE), $600 \mu\text{l}$ = volume mort requis par tube). Par exemple, pour 96 échantillons ($n = 96$) : $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12\,120 \mu\text{l}$.

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

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

Utilisation du matériel de laboratoire FIX

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

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

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

Préparation des échantillons

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur des produits.

Éviter la formation de mousse dans ou sur les échantillons. Selon la nature de l'échantillon de départ, un traitement préalable peut être nécessaire. Amener tous les échantillons à température ambiante (15–25 °C) avant de lancer le cycle.

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

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

Urine

L'urine peut être conservée entre 2 et 8 °C jusqu'à 6 heures. Pour une conservation plus longue, il est recommandé de la congeler à –20 °C ou –80 °C. L'urine peut être traitée sans autre prétraitement. Transférer l'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 ml (n° de réf. 72.693 ou 72.694) puis placer l'échantillon dans le porte-tubes. Il est également possible d'utiliser des tubes primaires. Le volume de départ minimal requis peut varier en fonction du tube primaire utilisé. Pour connaître les formats de tubes primaires et secondaires compatibles ainsi que le volume de départ minimal requis pour chaque protocole, voir la liste de matériel de laboratoire sous l'onglet Ressources, sur la page du produit sur www.qiagen.com. Le système est optimisé pour les échantillons d'urine pure qui ne contiennent aucun conservateur. Pour accroître la sensibilité aux agents pathogènes bactériens, les échantillons peuvent être centrifugés. Une fois le surnageant éliminé, le culot peut être remis en suspension dans au moins 500 µl de Buffer ATL (ATL) (n° de réf. 939016). Transférer l'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 ml (n° de réf. 72.693 ou 72.694). Placer l'échantillon sur un porte-tubes et le traiter selon le protocole Complex400_V4_DSP à l'aide du matériel de laboratoire FIX requis.

Isolement de l'ADN génomique à partir de bactéries à Gram positif

La purification de l'ADN peut être améliorée pour certaines bactéries à Gram positif grâce au prétraitement enzymatique avant le transfert de l'échantillon dans le QIASymphony SP et le démarrage du protocole Complex400_V4_DSP.

1. Sédimenter les bactéries par centrifugation à 5 000 g pendant 10 minutes.
2. Suspendre le culot de bactéries dans 500 µl d'une solution enzymatique adaptée (20 mg/ml de lysozyme ou 200 µg/ml de lysostaphine dans 20 mM de Tris HCl, pH 8,0 ; 2 mM d'EDTA; 1,2 % Triton X-100).
3. Incuber à 37 °C au moins 30 minutes.
4. Centrifuger brièvement le tube afin d'éliminer les gouttes présentes dans le bouchon.
5. Transférer l'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 ml (n° de réf. 72.693 ou 72.694), placer l'échantillon sur le porte-tubes et poursuivre le protocole Complex400_V4_DSP avec le matériel de laboratoire FIX requis.

Échantillons visqueux ou muqueux

Certains échantillons peuvent être visqueux et nécessiter une liquéfaction pour pouvoir être pipetés. Les échantillons de faible viscosité ne nécessitent aucune préparation supplémentaire. Les échantillons de viscosité moyenne à élevée doivent être préparés comme suit :

1. Diluer l'échantillon à 1:1 avec du dithiothréitol (DTT) à 0,3% (M/V).

Remarque : la solution de DTT à 0,3 % (M/V) peut être préparée à l'avance et conservée en aliquotes à -20 °C. Mettre les aliquotes décongelées au rebut après utilisation.

2. Incuber à 37 °C jusqu'à obtenir une viscosité d'échantillon adaptée au pipetage.
3. Transférer au moins 500 µl d'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 ml (n° de réf. 72.693 ou 72.694). Traiter l'échantillon avec le protocole Complex400_V4_DSP.

Liquides organiques et sécrétions sur écouvillons séchés

1. Plonger l'embout sec de l'écouvillon dans 750 µl de Buffer ATL (ATL) (n° de réf. 939016) et incuber à 56 °C pendant 15 minutes, en mélangeant sans cesse. S'il n'est pas possible de mélanger, passer au vortex avant et après l'incubation pendant au moins 10 secondes.
2. Sortir l'écouvillon et éliminer l'excédent de liquide en appuyant l'extrémité contre la paroi du tube.
3. Transférer au moins 500 µl d'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 ml (n° de réf. 72.693 ou 72.694). Traiter l'échantillon avec le protocole Complex400_V4_DSP.

Remarque : ce protocole est optimisé pour les écouvillons en coton ou en polyéthylène. Si d'autres types d'écouvillons sont utilisés, il peut être nécessaire d'ajuster le volume de Buffer ATL (ATL) pour être sûr d'avoir au moins 500 µl d'échantillon.

Échantillons respiratoires ou urogénitaux sur écouvillons

Les échantillons urogénitaux sur écouvillons (dans un milieu de transport, p. ex. PreservCyt, UTM, eNAT) et les échantillons respiratoires sur écouvillons (écouvillons séchés ou dans un milieu de transport, p. ex. UTM, eNAT) peuvent être conservés entre 2 et 8 °C jusqu'à 6 heures. Pour une conservation plus longue, il est recommandé de les congeler à -20 °C ou -80 °C.

Les milieux de conservation pour les échantillons respiratoires ou urogénitaux sur écouvillons peuvent s'utiliser sans prétraitement. Si l'écouvillon n'a pas été retiré, l'appuyer contre la paroi du tube pour en extraire le liquide. Tout excédent de glaire dans l'échantillon doit alors être retiré par prélèvement sur écouvillon. Tout liquide résiduel des glaires ou de l'écouvillon doit être extrait en appuyant l'écouvillon contre la paroi du tube. Enfin, l'écouvillon et les glaires doivent être retirés puis mis au rebut. Si les échantillons sont visqueux, procéder à une liquéfaction (voir la section « Viscous or mucous samples ») avant le transfert d'échantillon dans le QIASymphony SP. Si la quantité d'échantillon de départ est insuffisante, pipeter du Buffer ATL (ATL) dans le milieu de transport pour obtenir le volume de départ minimal requis et vortexer l'échantillon dans le tube pendant 15 à 30 secondes (si le milieu de transport contient l'écouvillon, effectuer cette étape avant de retirer l'écouvillon). Transférer l'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 ml (n° de réf. 72.693 ou 72.694) puis placer l'échantillon dans le porte-tubes. Il est également possible d'utiliser des tubes primaires. Le volume de départ minimal requis peut varier en fonction du tube primaire utilisé. Pour connaître les tubes primaires et secondaires compatibles ainsi que le volume de départ minimal requis pour chaque protocole, voir la liste de matériel de laboratoire sous l'onglet Ressources, sur la page du produit sur www.qiagen.com.

Limitations et substances interférentes

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

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

Conservation des éluats

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

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

Symboles

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

Symbole	Définition du symbole
	Ce produit est conforme aux exigences de la réglementation européenne 2017/746 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Numéro de référence
Rn	R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision
	Fabricant

Historique des révisions

Révision

Description

R1, juin 2022

Version 2, révision 1

- Mise à jour vers la version 2 pour la conformité IVDR
- Extension de la section Preparation of sample material
- Ajout de la section Limitations and interfering substances
- Ajout de la section Storage of eluates
- Ajout de la section Symbols

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) ; BD™ (Becton Dickinson and Company) ; eNAT™ (Copan Italia S.P.A.) ; PreservCyt® (Hologic, Inc.) ; Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Les noms déposés, marques de commerce, etc. cités dans ce document doivent être considérés comme protégés par la loi, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels.
06/2022 HB-3028-S03-001© 2022 QIAGEN, tous droits réservés.