

Mode d'emploi de QIASymphony® DSP Circulating DNA Kit (fiche de protocole)

circDNA_2000_DSP_V2 et circDNA_4000_DSP_V2

Version 2

IVD

Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro

À utiliser avec QIASymphony DSP Circulating DNA Kit

CE

REF

937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne

R1
La fiche de protocole de laboratoire est disponible sous forme électronique et se trouve sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.

Informations générales

Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro.

Ce protocole concerne la purification de l'ADN libre circulant humain à partir de plasma et d'urine humains frais ou congelés, à l'aide de QIASymphony DSP Circulating DNA Kit et de l'instrument QIASymphony SP.

Trousse	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit	
N° de référence	937556	
Échantillon	Plasma humain : <ul style="list-style-type: none">• À partir de tubes de prélèvement sanguin avec stabilisateurs de profil ccfDNA (par exemple, Cell-Free DNA BCT®, Streck®)• à partir de tubes de prélèvement sanguin sans stabilisateurs de profil ccfDNA (par exemple, EDTA) Urine humaine : <ul style="list-style-type: none">• Avec stabilisateurs de profil cfDNA• Sans stabilisateurs de profil cfDNA	
Nom du protocole	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Jeu de contrôles de dosage par défaut	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Volume d'éluion	60 µl	60 µl
Version logicielle requise	Version 4.0 ou plus récente	Version 5.0 ou plus récente
Configuration logicielle requise pour une utilisation IVD	Profil 1 par défaut	Profil 1 par défaut

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, consultez les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur du produit.

Tiroir « Sample » (Échantillon)

Type d'échantillon	Plasma et urine humains (voir « Préparation du matériel d'échantillon »)
Volume d'échantillon	Dépend du type de tube utilisé pour l'échantillon Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com .
Tubes d'échantillon primaires	s.o.
Tubes d'échantillon secondaires	Pour plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com .
Éléments d'insertion	s.o.
Autres	La protéinase K doit être ajoutée dans la fente A (positions 1, 2 et/ou 3)

s.o. = sans objet.

Préparation de la protéinase K dans le tiroir « Sample » (Échantillon)

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

Remarque : Les tubes contenant la protéinase K sont placés dans un porte-tubes. Les tubes contenant la protéinase K doivent être placés en positions 1, 2 et/ou 3 dans la fente A du tiroir « Sample » (échantillon). Pour connaître le type de tube requis, voir la liste du matériel de laboratoire sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com.

Nombre d'échantillons*	circDNA_2000_DSP (µl)	circDNA_4000_DSP (µl)
8	1 980	2 860
24	3 740	6 380
48	6 380	11 660
72	9 020	18 040†
96	11 660	23 320†

* Pour chaque échantillon, les volumes requis sont de 110 µl pour le protocole circDNA_2000_DSP et de 220 µl pour le protocole circDNA_4000_DSP, plus un volume mort supplémentaire de 1 100 µl [(n × 110 ou 220 µl) + 1 100 µl].

† Pour le protocole circDNA_4000_DSP : si plus de 48 échantillons sont traités, utilisez un second tube. Le volume de chargement maximal par tube est de 11,660 µl. Dans le second tube, un volume mort supplémentaire de 1 100 µl est requis.

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

Position A1 et/ou A2	Cartouche de réactif (Reagent Cartridge, RC)
Position B1	s.o.
Portoir pour pointes à embouts 1–18	Embouts à filtre jetables, 200 ou 1500 µl
Support de boîtes d'unités 1–4	Boîtes d'unités contenant des cartouches de préparation de l'échantillon ou des 8-Rod Covers

s.o. = sans objet.

Tiroir « Waste » (Déchets)

Support de boîtes d'unités 1–4	Boîtes d'unités vides
Support pour sac à déchets	Sac à déchets
Support pour flacon à déchets liquides	Flacon à déchets liquides

Tiroir « Eluate » (éluat)

Portoir d'éluat (Nous recommandons d'utiliser la fente 1, position de refroidissement.)

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

Matériel en plastique requis

Protocole circDNA_2000_DSP

Matériel en plastique	Un lot, 24 échantillons*	Deux lots, 48 échantillons*	Trois lots, 72 échantillons*	Quatre lots, 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl†	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†	56	112	168	224
Sample prep cartridges§	15	30	45	60
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* L'utilisation de moins de 24 échantillons par lot réduit le nombre requis d'embouts à filtre jetables par analyse.

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

‡ Le nombre requis d'embouts à filtre correspond à 1 vérification d'inventaire par RC.

§ Il y a 28 cartouches de préparation de l'échantillon par boîte d'unités.

¶ Il y a douze 8-Rod Covers par boîte d'unités.

Protocole circDNA_4000_DSP

Matériel en plastique	Un lot, 24 échantillons*	Deux lots, 48 échantillons*	Trois lots, 72 échantillons*	Quatre lots, 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl†	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†	96	192	288	384
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 d'embouts à filtre jetables par analyse.

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

‡ Le nombre requis d'embouts à filtre correspond à 1 vérification d'inventaire par RC.

§ Il y a 28 cartouches de préparation de l'échantillon par boîte d'unités.

¶ Il y a douze 8-Rod Covers par boîte d'unités.

Remarque : Les nombres indiqués d'embouts à filtre peuvent être différents des nombres affichés sur l'écran tactile en fonction des paramètres, par exemple le nombre de témoins internes utilisés par lot.

Volume d'éluat

Volume d'éluat choisi	Volume d'éluat initial
60 µl	75 µl

Le volume d'éluat est sélectionné sur l'écran tactile. Le volume d'éluat disponible moyen est ≥ 60 µl. Dans certains cas particuliers, le volume d'éluat final pour des échantillons uniques peut être inférieur au volume choisi de 5 µl au maximum (p. ex. 55 µl). Il est recommandé de vérifier le volume d'éluat réel lors de l'utilisation d'un système de préparation automatisée des dosages, qui ne vérifie pas le volume d'éluat avant le transfert.

Conservation des éluats

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 QIASymphony 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.

Il est recommandé de sortir la plaque d'éluat du tiroir « Eluate » (Éluat) dès la fin de l'analyse. Les plaques d'éluat peuvent rester dans le QIASymphony SP après la fin de l'analyse si celle-ci se termine au cours de la nuit (16 heures maximum, durée de l'analyse comprise; conditions environnementales recommandées : 18–26 °C et 20–75 % d'humidité relative). Selon la température et le degré d'humidité, l'éluat peut subir une condensation ou une évaporation.

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. Les éluats congelés ne doivent pas être dégelés plus de 3 fois.

Préparation du matériel d'échantillon

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 QIASymphony 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.

Plasma humain

Lors de l'utilisation de tubes de prélèvement sanguin avec des stabilisateurs de profil ccfDNA, il convient de suivre les instructions du fabricant pour effectuer la préparation du plasma, le stockage, le transport et la manipulation générale. Lors de l'utilisation de tubes de prélèvement sanguin sans stabilisateurs de profil ccfDNA, et si des instructions pour la préparation, le stockage, le transport et la manipulation générale du plasma sont disponibles auprès du fournisseur de la procédure d'examen dédiée, celles-ci doivent être suivies. Pour plus de détails, se référer à la norme ISO 20186-3:2019 (E) Examens de diagnostic moléculaire in vitro – Spécifications des procédés de pré-examen du sang veineux total – Partie 3 : Isolation de l'ADN libre circulant à partir du plasma.

Indépendamment des instructions du fabricant du tube de prélèvement sanguin, les aspects suivants doivent être pris en compte conformément à la norme ISO 20186-3:2019 (E) pour l'extraction automatisée du ccfDNA du plasma à l'aide de QIASymphony DSP Circulating DNA Kit et de l'instrument QIASymphony SP.

Les échantillons de sang sans stabilisateur de profil ccfDNA peuvent être utilisés pour la préparation du plasma (dans un tube de prélèvement sanguin EDTA par exemple). Le plasma préparé à partir de tubes contenant un stabilisateur de profil ccfDNA peut également être utilisé (par exemple Cell-Free DNA BCT de Streck).

Il est recommandé de procéder à la séparation du plasma immédiatement après le don de sang lorsque de l'EDTA ou du citrate est utilisé comme anticoagulant.

Pour certaines applications en aval, il peut être nécessaire d'exclure ou de limiter la présence d'acides nucléiques dans les vésicules. Dans ce cas, il est recommandé de réaliser une étape de centrifugation haute vitesse à 16 000 × g pendant 10 minutes à température ambiante (15–25 °C) après la génération initiale du plasma.

Après prélèvement et centrifugation, le plasma peut être conservé à température ambiante pendant 7 jours maximum et entre 2 et 8 °C pendant 14 jours maximum. Pour une conservation plus longue, jusqu'à 24 mois, il est recommandé de congeler les aliquotes à -20 °C ou -80 °C. Le plasma congelé ne doit pas être dégelé plus de 3 fois. Un processus de congélation/décongélation répété entraîne la dénaturation et la précipitation des protéines, ce qui peut réduire le rendement en acides nucléiques libres circulants. Il est recommandé de décongeler le plasma dans un bain-marie à 30 °C pendant 30 minutes. Si des cryoprécipités sont visibles dans les échantillons, ils doivent être éliminés avant de charger l'échantillon sur l'instrument. Les cryoprécipités peuvent être résolus par vortex de l'échantillon (s'assurer que la mousse, si elle est visible sur le dessus de l'échantillon, est enlevée avant de charger l'échantillon sur l'instrument). Les cryoprécipités peuvent également être éliminés par centrifugation et transfert du surnageant sans perturber le culot dans un tube d'échantillon secondaire (voir la liste de matériel de laboratoire qui se trouve sous l'onglet ressources de la page produit sur www.qiagen.com). Commencez immédiatement la procédure de purification.

Urine humaine

En raison de la dégradation rapide du ccfDNA après le prélèvement d'urine, il est fortement recommandé de stabiliser les échantillons d'urine immédiatement. Des exemples d'applications en aval ont été utilisés pour QIASymphony DSP Circulating DNA Kit afin d'établir des recommandations pour la manipulation et la stabilisation de l'urine. Bien que la trousse soit utilisée comme une interface pour de multiples applications en aval, la manipulation de l'urine doit être établie pour toute procédure de ce type dans le cadre du développement de l'application en aval. Par ailleurs, en cas d'utilisation d'un stabilisateur de profil cfDNA disponible dans le commerce pour l'urine, il convient de suivre les instructions du fabricant.

Urine humaine stabilisée

L'urine stabilisée peut être stockée à température ambiante (15–25 °C) ou à 2–8 °C pendant une durée maximale de 7 jours. Pour une conservation plus longue, jusqu'à 24 mois, il est recommandé de congeler les aliquotes à -20 °C ou -80 °C.

Les échantillons d'urine stabilisée ne requièrent aucun traitement des échantillons. Après stabilisation, il est recommandé de centrifuger les échantillons d'urine à faible vitesse (1 900 × g) pendant 10 minutes à température ambiante (15–25 °C) afin d'éliminer les cellules avant l'extraction du ccfDNA. Si des précipités sont visibles dans les surnageants après la centrifugation, réchauffez les échantillons jusqu'à 25 °C au bain-marie afin de dissoudre les précipités. Avant de débiter une analyse, transférez les échantillons d'urine stabilisés dans un tube d'échantillon secondaire, puis chargez ce tube sur le porte-échantillon (voir la liste de matériel de laboratoire, sous l'onglet Resource (Ressources) de la page des produits sur le site www.qiagen.com).

Urine humaine « non stabilisée »

Avant de commencer un protocole nécessitant du Buffer ATL, vérifiez si un précipité s'est formé dans le Buffer ATL. Le cas échéant, dissolvez 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.

Remarque : Le Buffer ATL (4 x 50 ml, N° de réf. 939016) ne fait pas partie de QIASymphony DSP Circulating DNA Kit et doit être commandé séparément.

Il est recommandé de centrifuger les échantillons d'urine immédiatement après le prélèvement à faible vitesse (1 900 x g) pendant 10 minutes à température ambiante (15–25 °C) afin d'éliminer les cellules. Les échantillons d'urine non stabilisés requièrent un prétraitement.

Important : Équilibrez les échantillons à température ambiante (15–25 °C) avant le début du prétraitement.

Important : La centrifugation et le prétraitement devraient être réalisés dans les 4 heures suivant le prélèvement de l'échantillon d'urine.

- Mélangez 2 500 µl d'urine (circDNA_2000_DSP) ou 4 500 µl d'urine (circDNA_4000_DSP) avec 250 µl ou 450 µl de Buffer ATL, respectivement.
- Incubez les échantillons à température ambiante (15–25 °C) pendant une heure.
- Centrifugez les échantillons à 1 900 x g pendant 10 minutes à température ambiante (15–25 °C).
- Si des précipités sont visibles dans le surnageant après centrifugation, réchauffez les échantillons jusqu'à 25 °C au bain-marie pour dissoudre les précipités.
- Transférez les surnageants dans un tube d'échantillon secondaire, puis chargez ce tube sur le porte-échantillon (voir la liste du matériel de laboratoire, sous l'onglet Resource (Ressources) de la page des produits sur le site www.qiagen.com)

Important : La stabilité et l'intégrité du ccfDNA sont limitées dans l'urine non stabilisée. Il est recommandé de charger au maximum un lot de 24 échantillons par analyse QIASymphony pour minimiser la durée d'insertion des échantillons d'usine.

Points importants avant de charger les échantillons

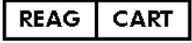
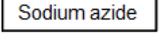
- Évitez la formation de mousse dans ou à la surface des échantillons.
- Les échantillons doivent revenir à température ambiante (15–25 °C) avant le début de l'analyse.

Substances interférentes

Les échantillons de plasma fortement concentrés en gammaglobuline (> 30 g/l) peuvent nuire à la récupération de l'ADN libre circulant.

Symboles

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

Symbole	Définition du symbole
	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
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
	Protéinase K
	Numéro du puits (c.-à-d. puits de la cartouche de réactif)
	Cartouche de réactif
	Azoture de sodium
	Éthanol
	Identifiant unique du dispositif

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'IVDRLe libellé pour la manipulation des échantillons a été mis à jour pour tenir compte de la norme ISO 20186-3:2019 (E) Examens de diagnostic moléculaire in vitro – Spécifications des procédés de pré-examen du sang veineux total – Partie 3 : Isolation de l'ADN libre circulant à partir du plasma

Pour obtenir des informations mises à jour sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques des produits, consultez le manuel de la trousse ou le manuel d'utilisation QIAGEN® approprié. Les manuels des trousse et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles sur www.qiagen.com ou peuvent être demandés aux services techniques QIAGEN ou au distributeur local.

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). 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.
06/2022 HB-3034-S01-001© 2022 QIAGEN, tous droits réservés.