

# Manuel du kit QIAamp<sup>®</sup> DSP Virus Spin



Version 1



Pour utilisation en diagnostic in vitro



61704



1062686FR



QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, 40724 Hilden,

ALLEMAGNE

R6



1062686FR



# Technologies d'échantillons et d'analyses QIAGEN

QIAGEN est le premier fournisseur de technologies novatrices d'échantillons et d'analyses, permettant d'isoler et de détecter le contenu de n'importe quel échantillon biologique. Nos produits et services ultramodernes de grande qualité garantissent un succès total, de l'échantillon jusqu'au résultat.

## **QIAGEN fixe les normes en matière de :**

- Purification d'ADN, d'ARN et de protéines ;
- Analyses d'acides nucléiques et de protéines ;
- Recherche micro-ARN et interférence ARN ;
- Automatisation des technologies d'échantillons et d'analyses.

Notre mission est de permettre à notre clientèle de réussir et d'accomplir des progrès décisifs. Pour plus d'informations, visiter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Table des matières

<b>Utilisation prévue</b>	<b>4</b>
<b>Résumé et explication</b>	<b>4</b>
<b>Principes de la procédure</b>	<b>4</b>
Purification automatisée d'acides nucléiques viraux sur le QIAcube	4
<b>Matériel fourni</b>	<b>9</b>
Contenu du kit	9
<b>Matériel nécessaire mais non fourni</b>	<b>10</b>
<b>Avertissements et précautions</b>	<b>11</b>
<b>Conservation et manipulation des réactifs</b>	<b>13</b>
<b>Manipulation et conservation des échantillons</b>	<b>13</b>
<b>Procédure</b>	<b>14</b>
Remarques importantes avant de commencer	14
Manipulation des colonnes QIAamp MinElute	14
Centrifugation	15
Traitement des colonnes QIAamp MinElute en microcentrifugeuse	15
Préparation des réactifs et des tampons	16
<b>Protocole : Purification des acides nucléiques viraux dans le plasma ou le sérum</b>	<b>19</b>
<b>Contrôle qualité</b>	<b>22</b>
<b>Limitations</b>	<b>22</b>
<b>Caractéristiques de performance</b>	<b>22</b>
<b>Références</b>	<b>22</b>
<b>Symboles</b>	<b>23</b>
<b>Coordonnées</b>	<b>24</b>
<b>Annexe</b>	<b>25</b>

## Utilisation prévue

Le kit QIAamp DSP Virus Spin utilise la technologie des membranes de silice (QIAamp) pour l'isolation et la purification des acides nucléiques viraux à partir d'échantillons biologiques.

Le produit est destiné aux utilisateurs professionnels, tels que des techniciens et des médecins, formés aux techniques de la biologie moléculaire.

Le kit QIAamp DSP Virus Spin est destiné au diagnostic in vitro.

## Résumé et explication

Le kit QIAamp DSP Virus Spin utilise une technologie éprouvée de purification simultanée de l'ADN et de l'ARN viraux. Il associe les propriétés de fixation sélective de la membrane de silice à des volumes d'élution variables allant de 20 à 150 µl. La procédure est compatible avec le plasma et le sérum. Les échantillons peuvent être frais ou congelés à condition qu'ils n'aient pas été recongelés après la décongélation (voir page 13). Après élution dans le tampon AVE, les acides nucléiques viraux sont prêts à l'emploi pour les réactions d'amplification ou prêts à la conservation entre -25 °C et -15 °C.

## Principes de la procédure

La procédure QIAamp DSP Virus Spin, qui comprend 4 étapes (lyse, fixation, lavage et élution), est effectuée sur des colonnes QIAamp MinElute® sur une microcentrifugeuse classique ou de manière totalement automatisée sur le QIAcube®. La procédure est conçue pour minimiser le risque de contamination croisée entre échantillons et permettre une manipulation sans danger des échantillons potentiellement infectieux. D'une grande simplicité, la procédure QIAamp DSP Virus Spin convient au traitement simultané de plusieurs échantillons. Le kit QIAamp DSP Virus Spin peut servir à l'isolation d'ARN et d'ADN viraux issus d'une vaste gamme de virus à ARN ou à ADN. Toutefois, les caractéristiques de performance n'ont pas été établies pour toutes les espèces de virus et doivent être validées par l'utilisateur.

## Purification automatisée d'acides nucléiques viraux sur le QIAcube

La purification des acides nucléiques viraux à l'aide du kit QIAamp DSP Virus Spin peut se faire de manière entièrement automatisée sur le QIAcube. Cet automate innovant utilise une technologie de pointe pour traiter les colonnes de centrifugation QIAGEN®, ce qui permet d'intégrer sans faille la préparation automatisée, à faible débit, des échantillons au flux de travail du laboratoire. La procédure de préparation des échantillons avec le QIAcube est identique à la procédure manuelle (c'est-à-dire lyse, fixation, lavage et élution), ce qui permet

d'utiliser le kit QIAamp DSP Virus Spin pour purifier des acides nucléiques viraux de haute qualité.

En cas d'automatisation du kit QIAamp DSP Virus Spin sur l'instrument QIAcube, l'instrument peut traiter moins de 50 échantillons en raison des volumes morts, de l'évaporation et de la consommation supplémentaire de réactifs via le pipetage automatique. QIAGEN ne garantit que 50 préparations d'échantillons avec une utilisation manuelle du kit QIAamp DSP Virus Spin.

Pour en savoir plus sur la procédure automatisée, voir la fiche du protocole correspondant disponible en ligne à l'adresse [www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube). Les fiches de protocole à jour sont téléchargeables gratuitement ou peuvent être obtenues auprès du Service technique QIAGEN (voir page 23).



**Figure 1. Automate QIAcube**

## **Lyse avec la protéase QIAGEN**

La lyse des échantillons s'effectue dans des conditions hautement dénaturantes à des températures élevées. Elle est réalisée en présence de protéase QIAGEN et de tampon AL qui, ensemble, assurent l'inactivation des RNases.

## **Adsorption sur la membrane QIAamp MinElute**

Les conditions de fixation sont ajustées par ajout d'éthanol afin de permettre une fixation optimale des ARN et ADN viraux à la membrane. Les lysats sont alors transférés sur la colonne QIAamp MinElute et les acides nucléiques viraux sont adsorbés sur la membrane en gel de silice tandis que les lysats passent à travers par centrifugation. Les conditions salines et de pH garantissent que les protéines et d'autres contaminants, qui peuvent inhiber l'amplification en chaîne par polymérase et d'autres réactions enzymatiques en aval, ne sont pas retenus par la membrane QIAamp MinElute.

Les tubes de lavage de 2 ml (fournis) contiennent les colonnes QIAamp MinElute pendant les étapes de chargement et de lavage.

## **Élimination des contaminants résiduels**

Les acides nucléiques restent liés à la membrane tandis que les contaminants sont efficacement éliminés au cours de 3 étapes de lavage. En une seule étape,

l'ADN et l'ARN viraux de haute pureté sont élués dans le tampon AVE amené à température ambiante.

### **Élution des acides nucléiques purs**

L'élution est réalisée à l'aide du tampon AVE. Les colonnes QIAamp MinElute sont compatibles avec des volumes d'élution aussi faibles que 20  $\mu$ l. Ce type de volume conduit à des éluats d'acides nucléiques très concentrés.

Dans le cas d'applications en aval qui exigent des volumes de départ faibles (par exemple, certains dosages par PCR et RT-PCR), un éluat plus concentré peut améliorer la sensibilité du dosage.

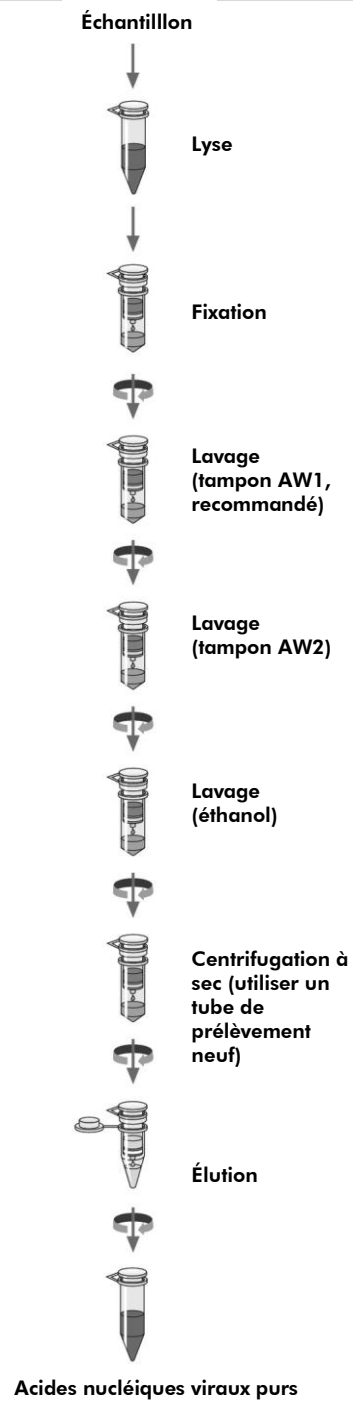
Dans le cas d'applications en aval qui exigent des volumes de départ plus grands, les volumes d'élution peuvent atteindre 150  $\mu$ l. Toutefois, l'augmentation du volume d'élution baisse la concentration de l'éluat en acides nucléiques.

Il est possible de récupérer un volume d'éluat inférieur de 5  $\mu$ l au volume de tampon d'élution déposé sur la colonne. Par exemple, un volume de tampon d'élution de 20  $\mu$ l fournit un éluat d'un volume final > 15  $\mu$ l. Le volume d'éluat récupéré dépend de la nature de l'échantillon.

L'acide nucléique élué est recueilli dans des tubes d'élution (ET, fournis) de 1,5 ml. Il est recommandé de conserver l'ADN et l'ARN à -20 °C.

Les quantités d'acides nucléiques viraux isolés à partir d'échantillons biologiques sont normalement inférieures à 1  $\mu$ g. Il est recommandé de déterminer le rendement par des méthodes d'amplification quantitative. Lors de la quantification des acides nucléiques isolés selon le protocole QIAamp DSP Virus Spin, garder à l'esprit que l'échantillon contient bien plus d'ARN entraîneur que d'ARN viral.

## Procédure QIAamp DSP Virus Spin



Complètement automatisable sur le QIAcube

## **ARN entraîneur**

L'ARN entraîneur est utile à deux titres. Premièrement, il améliore la liaison entre les acides nucléiques viraux et la membrane QIAamp, en particulier si l'échantillon contient très peu de molécules cibles. Deuxièmement, l'ajout de grandes quantités d'ARN entraîneur réduit les risques de dégradation de l'ARN viral dans le rare cas où les RNases ne sont pas dénaturées par les sels chaotropiques et le détergent dans le tampon AL. Si l'ARN entraîneur n'est pas ajouté au tampon AL, la récupération d'ARN ou d'ADN viraux peut être moindre.

Cependant, l'efficacité des systèmes d'amplification varie selon la quantité totale d'acides nucléiques présents dans la réaction. Les éluats obtenus avec ce kit contiennent à la fois des acides nucléiques viraux et de l'ARN entraîneur et la quantité d'ARN entraîneur dans chaque éluat dépasse largement la quantité d'acides nucléiques viraux. Les calculs de la quantité d'éluat à ajouter aux réactions d'amplification en aval doivent par conséquent être basés sur la quantité d'ARN entraîneur ajoutée. Afin d'obtenir les niveaux de sensibilité les plus élevés dans les réactions d'amplification, il peut être nécessaire d'ajuster la quantité d'ARN entraîneur ajoutée au tampon AL.

## **Ajout de témoins internes**









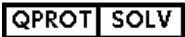



L'utilisation du protocole QIAamp DSP Virus Spin avec des systèmes d'amplification disponibles dans le commerce peut nécessiter l'introduction d'un témoin interne dans la procédure de purification. Les témoins internes d'ARN et d'ADN doivent être ajoutés avec l'ARN entraîneur au tampon de lyse. Pour une purification optimale, les molécules de témoins internes doivent comporter plus de 200 nucléotides car les molécules plus petites ne sont pas récupérées de manière efficace.

Pour déterminer la concentration optimale, voir les consignes du fabricant. L'utilisation d'une concentration différente de celle conseillée peut diminuer l'efficacité de l'amplification.



# Matériel fourni

## Contenu du kit

Kit QIAamp DSP Virus Spin			
Référence			61704
Nombre de préparations			50 <sup>§</sup>
QIAamp MinElute	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (WT) (Colonnes QIAamp MinElute avec tubes de lavage) (2 ml)		50
LT	Lysis Tubes (Tubes de lyse) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Tubes d'élution) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Tubes de lavage) (2 ml)		5 x 50
AL	Lysis Buffer * (Tampon de lyse)		33 ml
AW1	Wash Buffer 1 * (concentrate) (Tampon de lavage 1 [concentré])		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 † (concentrate) (Tampon de lavage 2 [concentré])		13 ml
AVE	Elution Buffer † (purple caps) (Tampon d'élution [bouchons violets])		4 x 2 ml
PS	Protease Solvent † (Solvant pour protéase)		4,4 ml
Carrier	Carrier RNA (red caps) (ARN entraîneur [bouchons rouges])		310 µg
QP	QIAGEN Protease ‡ (Protéase QIAGEN)		1 flacon
	Manuel		1

\* Contient un sel chaotrope. Respecter les mesures de sécurité appropriées et porter des gants lors des manipulations. Incompatible avec des désinfectants contenant un javellisant. Pour plus d'informations, voir page 11.

† Contient de l'azide de sodium comme conservateur.

‡ Voir « Préparation des réactifs et des tampons », page 16.

§ En cas d'automatisation du kit QIAamp DSP Virus Spin sur l'instrument QIAcube, l'instrument peut traiter moins de 50 échantillons en raison des volumes morts, de l'évaporation et de la consommation supplémentaire de réactifs via le pipetage automatique. QIAGEN ne garantit que 50 préparations d'échantillons avec une utilisation manuelle du kit QIAamp DSP Virus Spin.

## Matériel nécessaire mais non fourni

Lors de la manipulation des 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 du produit.

- Éthanol (96 à 100 %) \*
- Pipettes<sup>†</sup> et cônes de pipettes (Pour empêcher la contamination croisée, il est fortement recommandé d'utiliser des cônes de pipettes anti-aérosols.)
- Unité de chauffage <sup>†</sup> pour la lyse des échantillons à 56 °C
- Microcentrifugeuse <sup>†</sup> (avec rotor pour tubes de 1,5 et 2 ml)
- Mixeur Vortex
- Pour des volumes d'échantillon < 200 µl : solution de NaCl à 0,9 %

\* Ne pas utiliser d'alcool dénaturé contenant d'autres substances telles que le méthanol ou le méthyléthylcétone.

<sup>†</sup> Afin de s'assurer du bon traitement des échantillons lors des procédures QIAamp DSP Virus Spin, il est fortement recommandé que les instruments (par exemple pipettes et unités de chauffage) soient étalonnés conformément aux consignes du fabricant.

## Avertissements et précautions

Pour utilisation en diagnostic in vitro

Lors de la manipulation des 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. Elles sont disponibles en ligne au format PDF (pratique et compact) à l'adresse [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) où il est possible de trouver, consulter et imprimer les FDS pour chaque kit et élément de kit QIAGEN.



**ATTENTION : NE JAMAIS verser d'eau de Javel ni de solutions acides directement dans les déchets contenant les tampons AL ou AW1.**

Ces tampons contiennent du chlorhydrate de guanidine qui peut former des composés hautement réactifs lorsqu'ils sont associés à un javellisant. Si le liquide contenant ces tampons est renversé, nettoyer avec un détergent de laboratoire approprié et de l'eau. Si le liquide renversé contient des agents à risque infectieux, nettoyer l'endroit contaminé d'abord avec un détergent et de l'eau, puis avec de l'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v).

Si les flacons des tampons sont endommagés ou fuient, porter des gants et des lunettes de protection lors de la mise au rebut afin d'éviter les blessures à soi-même ou à autrui.

QIAGEN n'a pas testé les déchets liquides générés par la procédure QIAamp DSP Virus Spin pour y détecter les matières infectieuses résiduelles. La contamination des déchets liquides avec des matières infectieuses résiduelles est très improbable mais ne peut pas être complètement exclue. Par conséquent, les déchets liquides doivent être considérés comme infectieux et doivent être manipulés et mis au rebut conformément aux règles de sécurité locales.

Les phrases de risque et de sécurité suivantes s'appliquent aux composants du kit QIAamp DSP Virus Spin :

Les mentions de danger et conseils de prudence suivants s'appliquent aux composants du QIAamp DSP Virus Spin Kit:

### **Tampon AL**



Contient du chlorhydrate de guanidine et de l'acide maléique. Danger ! Peut être nocif en cas d'ingestion ou d'inhalation. Provoque une irritation cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. Peut provoquer une allergie cutanée. Si l'irritation oculaire persiste : Consulter un médecin. Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

### **Tampon AW1**



Contient du chlorhydrate de guanidine. Danger ! Nocif en cas d'ingestion ou d'inhalation. Provoque une irritation cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. Éliminer le contenu/récipient dans une usine de traitement des déchets agréée. Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

### **Protéase QIAGEN**



Contient de la subtilisine. Danger ! Provoque une légère irritation cutanée. Provoque des lésions oculaires graves. Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/ aérosols. Éliminer le contenu/récipient dans une usine de traitement des déchets agréée. En cas de symptômes respiratoires : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. EN CAS D'INHALATION : S'il y a difficulté à respirer, transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Porter un équipement de protection respiratoire.

## Conservation et manipulation des réactifs

Les colonnes QIAamp MinElute doivent être conservées entre 2 et 8 °C dès leur réception.

Tous les tampons doivent être conservés à température ambiante (15 à 25 °C).

L'ARN entraîneur lyophilisé peut être conservé à température ambiante (15 à 25 °C) jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur la boîte du kit. L'ARN entraîneur peut uniquement être dissous dans le tampon AVE. Une fois dissous, il doit être ajouté immédiatement au tampon AL, comme décrit page 16. Cette solution doit être préparée extemporanément. Elle est stable entre 2 et 8 °C pendant un maximum de 48 heures. Le mélange ARN entraîneur dissous dans le tampon AVE non utilisé doit être congelé en aliquotes entre -30 et -15 °C.

La protéase QIAGEN (QP) lyophilisée peut être conservée à température ambiante (15 à 25 °C) jusqu'à la date limite d'utilisation du kit sans altération de ses performances.

La protéase QIAGEN (QP) reconstituée dans le solvant pour protéase (PS) est stable jusqu'à la date limite d'utilisation du kit et pendant un maximum d'un an lorsqu'elle est conservée entre 2 et 8 °C. Il convient d'éviter de garder la solution-mère de protéase QIAGEN à température ambiante pendant des périodes prolongées.

Le tampon de lavage reconstitué 1 (AW1) et le tampon de lavage reconstitué 2 (AW2) sont stables jusqu'à la date limite d'utilisation du kit et pendant un maximum d'un an lorsqu'ils sont conservés à température ambiante (15 à 25 °C).

## Manipulation et conservation des échantillons

Après le prélèvement et la centrifugation, le plasma ou le sérum peuvent être stockés à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant une durée maximale de 6 heures. Pour la conservation à long terme, la congélation à -20 °C ou -80 °C des aliquotes est recommandée. Les échantillons plasmatiques ou sériques congelés ne doivent pas être décongelés puis recongelés. Un processus de congélation/décongélation répété entraîne la dénaturation et la précipitation des protéines, ce qui a pour résultat des titres viraux réduits et, par conséquent, des rendements réduits d'acides nucléiques viraux. En outre, les cryoprécipités formés lors de la congélation et la décongélation obstruent la membrane QIAamp MinElute. Si des cryoprécipités sont visibles, il est possible de les faire sédimenter par centrifugation à environ 6800 g pendant 3 minutes. Le surnageant doit être prélevé et traité immédiatement sans toucher au culot.

# Procédure

## Remarques importantes avant de commencer

- Après réception du kit, vérifier que les composants du kit ne sont pas endommagés. Si les emballages ou les flacons de tampon sont endommagés, contacter les Services techniques de QIAGEN ou votre distributeur local. En cas de renversement de liquide, se référer à la section « Avertissements et précautions » (page 11) Ne pas utiliser de composants du kit qui seraient endommagés, en effet, leur utilisation pourrait entraîner de mauvaises performances du kit.
- Toujours utiliser un équipement sans RNase.
- Toujours changer les cônes de pipette entre chaque étape de transfert de liquide. Pour minimiser la contamination croisée, il est recommandé d'utiliser des cônes de pipette anti-aérosols.
- Toutes les étapes de centrifugation sont effectuées à température ambiante (15 à 25 °C).
- Toujours utiliser des gants jetables et vérifier régulièrement qu'ils ne sont pas contaminés par une substance d'échantillon. Jeter les gants lorsqu'ils sont contaminés.
- Pour minimiser toute contamination croisée, ouvrir un seul tube à la fois.
- Ne pas utiliser de composants de kit provenant d'autres kits avec les kits utilisés actuellement, à moins que les numéros de lot ne soient identiques.
- Éviter toute contamination microbienne des réactifs de kit.
- Pour garantir la sécurité contre toute substance éventuellement infectieuse, il est recommandé de travailler dans des conditions de flux d'air laminaire jusqu'à ce que les échantillons aient été soumis à une lyse.
- Ce kit ne doit être utilisé que par du personnel formé à la pratique de laboratoire des diagnostics in vitro.

## Manipulation des colonnes QIAamp MinElute

En raison de la haute sensibilité des technologies d'amplification d'acides nucléiques, il est nécessaire de prendre les précautions suivantes lors de la manipulation des colonnes QIAamp MinElute afin d'éviter toute contamination croisée entre les préparations des échantillons :

- Transférer avec précaution l'échantillon ou la solution dans la colonne QIAamp MinElute. Déposer l'échantillon à la pipette sur la colonne QIAamp MinElute sans en mouiller le bord.

- Changer les cônes de pipette entre chaque étape de transfert de liquide. Il est recommandé d'utiliser des cônes anti-aérosols.
- Éviter de toucher la membrane QIAamp MinElute avec le cône de pipette.
- Après toutes les étapes d'homogénéisation par impulsions au vortex, centrifuger brièvement les tubes de microcentrifugation afin d'éliminer les gouttes présentes dans le bouchon.
- Porter des gants pendant toute la procédure. En cas de contact des gants avec l'échantillon, les changer immédiatement.

## **Centrifugation**

- Les tubes de lavage et les tubes d'élution nécessaires aux étapes de centrifugation sont fournis dans le kit.
- Les colonnes QIAamp MinElute sont centrifugées à environ 6000 g afin de réduire le bruit émis par la centrifugeuse. La centrifugation des colonnes QIAamp MinElute à la vitesse maximale n'influence pas le rendement d'ADN ou d'ARN.
- Pour la centrifugation à sec prévue à la fin de la procédure de lavage et pour l'élution, il convient de centrifuger à la vitesse maximale.
- Toutes les étapes de centrifugation doivent être effectuées à température ambiante (15 à 25 °C).

## **Traitement des colonnes QIAamp MinElute en microcentrifugeuse**

- Fermer la colonne QIAamp MinElute avant de l'installer dans la microcentrifugeuse. Centrifuger comme décrit.
- Retirer la colonne QIAamp MinElute et le tube de lavage de la microcentrifugeuse.
- Placer la colonne QIAamp MinElute dans un tube de lavage neuf. Éliminer le filtrat et le tube de lavage. Noter que le filtrat peut contenir des déchets dangereux et doit être éliminé de manière appropriée.
- Ouvrir une seule colonne QIAamp MinElute à la fois et prendre garde à ne pas générer d'aérosols.

Pour un traitement efficace de plusieurs échantillons en parallèle, nous recommandons de remplir un portoir avec des tubes de lavage dans lesquels les colonnes de QIAamp MinElute peuvent être transférées après centrifugation. Les tubes de lavage usagés contenant le filtrat peuvent être éliminés et les tubes de lavage neufs contenant les colonnes QIAamp MinElute peuvent être placés directement sur la microcentrifugeuse.

## Préparation des réactifs et des tampons

### ■ Préparation de l'ARN

Pour la préparation de l'ARN viral, lire l'Annexe page 25 avant de commencer et réaliser rapidement les étapes manuelles de la procédure.

### ■ Préparation de la protéase QIAGEN

Verser la totalité du contenu du flacon de 4,4 ml de solvant pour protéase (PS) dans le flacon de protéase QIAGEN (QP) lyophilisée et mélanger soigneusement. Afin d'éviter la formation de mousse, mélanger en retournant le flacon plusieurs fois. Veiller à ce que la protéase QIAGEN (QP) soit complètement dissoute.

**i** Ne pas ajouter directement la protéase QIAGEN (QP) dans le tampon AL.\*

La protéase QIAGEN (QP) reconstituée dans le solvant pour protéase (PS) est stable jusqu'à la date limite d'utilisation du kit et pendant un maximum d'un an lorsqu'elle est conservée entre 2 et 8 °C. Il convient d'éviter de garder la solution-mère de protéase QIAGEN à température ambiante pendant des périodes prolongées.

### ■ Ajout de l'ARN entraîneur au tampon AL \*

Ajouter 310  $\mu$ l de tampon AVE au tube contenant 310  $\mu$ g d'ARN entraîneur lyophilisé pour obtenir une solution à 1  $\mu$ g/ $\mu$ l. Dissoudre entièrement l'ARN entraîneur, le diviser en aliquotes de taille appropriée et le conserver entre -25 °C et -15 °C. Ne pas faire subir aux aliquotes d'ARN entraîneur plus de 3 cycles de congélation/décongélation.

**i** L'ARN entraîneur n'est pas soluble dans le tampon AL. Il doit d'abord être dissous dans le tampon AVE puis ajouté au tampon AL.

Calculer le volume de mélange tampon AL-ARN entraîneur nécessaire par lot d'échantillons en choisissant le nombre d'échantillons à traiter simultanément dans le tableau 1, page 17. Si le nombre d'échantillons est plus élevé, les volumes peuvent être calculés à l'aide de la formule suivante :

\* Contient un sel chaotrope. Respecter les mesures de sécurité appropriées et porter des gants lors des manipulations. Incompatible avec des désinfectants contenant un javellisant. Voir page 11 pour les informations de sécurité.



$$n \times 0,22 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 28 \mu\text{l/ml} = z \mu\text{l}$$

où :  $n$  = nombre d'échantillons à traiter simultanément

$y$  = volume calculé de tampon AL

$z$  = volume de mélange ARN entraîneur–tampon AVE à ajouter au tampon AL

Mélanger doucement en retournant le tube 10 fois. Afin d'éviter la formation de mousse, ne pas passer au vortex.

**Tableau 1. Volumes (Vol.) de tampon AL et de mélange ARN entraîneur–tampon AVE nécessaires pour des nombres ( $n^\circ$ ) spécifiques d'échantillons pour la procédure QIAamp DSP Virus Spin**

Nb d'échantillons	Vol. tampon AL (ml)	Vol. ARN entraîneur-AVE ( $\mu$ l)	Nb d'échantillons	Vol. tampon AL (ml)	Vol. ARN entraîneur-AVE ( $\mu$ l)
1	0,22 ml	6,2 $\mu$ l	13	2,86 ml	80,1 $\mu$ l
2	0,44 ml	12,3 $\mu$ l	14	3,08 ml	86,3 $\mu$ l
3	0,66 ml	18,5 $\mu$ l	14	3,30 ml	92,4 $\mu$ l
4	0,88 ml	24,6 $\mu$ l	16	3,52 ml	98,6 $\mu$ l
5	1,10 ml	30,8 $\mu$ l	17	3,74 ml	104,7 $\mu$ l
6	1,32 ml	37,0 $\mu$ l	18	3,96 ml	110,9 $\mu$ l
7	1,54 ml	43,1 $\mu$ l	19	4,18 ml	117,0 $\mu$ l
8	1,76 ml	49,3 $\mu$ l	20	4,40 ml	123,2 $\mu$ l
9	1,98 ml	55,4 $\mu$ l	21	4,62 ml	129,4 $\mu$ l
10	2,20 ml	61,6 $\mu$ l	22	4,84 ml	135,5 $\mu$ l
11	2,42 ml	67,8 $\mu$ l	23	5,06 ml	141,7 $\mu$ l
12	2,64 ml	73,9 $\mu$ l	24	5,28 ml	147,8 $\mu$ l



La procédure de préparation des échantillons est optimisée pour 5,6  $\mu$ g d'ARN entraîneur par échantillon. Si une quantité inférieure d'ARN entraîneur s'est avérée préférable pour un système d'amplification spécifique, transférer uniquement le volume d'ARN entraîneur dissous requis dans les tubes contenant le tampon AL. Pour chaque microgramme d'ARN entraîneur nécessaire à chaque préparation, ajouter 5  $\mu$ l de mélange tampon AVE–ARN entraîneur dissous par millilitre de tampon AL. L'utilisation de quantités

inférieures d'ARN entraîneur doit être validée pour chaque type d'échantillon et analyse en aval spécifique.

### **Tampon AW1 \***

Ajouter 25 ml d'éthanol (96 à 100 %) à un flacon contenant 19 ml de tampon AW1 concentré, comme indiqué sur le flacon. Cocher la case sur l'étiquette pour indiquer que l'éthanol a été ajouté. Conserver le tampon AW1 reconstitué à température ambiante (15 à 25 °C). Le tampon AW1 reconstitué est stable jusqu'à la date limite d'utilisation du kit et pendant un maximum d'un an lorsqu'il est conservé à température ambiante.

 Toujours mélanger le tampon AW1 reconstitué en agitant le flacon avant le début de la procédure.

### **Tampon AW2 †**

Ajouter 30 ml d'éthanol (96 à 100 %) à un flacon contenant 13 ml de tampon AW2 concentré, comme indiqué sur le flacon. Cocher la case sur l'étiquette pour indiquer que l'éthanol a été ajouté. Conserver le tampon AW2 reconstitué à température ambiante (15 à 25 °C). Le tampon AW2 reconstitué est stable jusqu'à la date limite d'utilisation du kit et pendant un maximum d'un an lorsqu'il est conservé à température ambiante.

 Toujours mélanger le tampon AW2 reconstitué en agitant le flacon avant le début de la procédure.

### **Élution des acides nucléiques**

Le tampon d'élution doit être amené à température ambiante avant de le verser dans la colonne.

\* Contient un sel chaotropique. Respecter les mesures de sécurité appropriées et porter des gants lors des manipulations. Incompatible avec des désinfectants contenant un javellisant. Veuillez vous référer à la page 11 pour les informations de sécurité.

† Contient de l'azide de sodium comme conservateur.

# Protocole : Purification des acides nucléiques viraux dans le plasma ou le sérum

Ce protocole concerne la purification des acides nucléiques viraux dans 200  $\mu$ l de plasma ou de sérum à l'aide du kit QIAamp DSP Virus Spin et d'une microcentrifugeuse. Pour la purification automatisée à l'aide du kit QIAamp DSP Virus Spin et du QIAcube, se reporter au *Manual d'utilisation du QIAcube* et à la fiche de protocole concernée.

## Remarque importante avant de commencer


- Toutes les étapes de centrifugation sont effectuées à température ambiante (15 à 25 °C).

## Avant de commencer

- Amener les échantillons à température ambiante (15 à 25 °C).
- Amener le tampon AVE à température ambiante en vue de l'élution à l'Étape 14.
- Régler une unité de chauffage à une température de 56 °C  $\pm$  3 °C pour l'Étape 4.
- Veiller à ce que le tampon AW1, le tampon AW2 et la protéase QIAGEN (QP) aient été préparés conformément aux consignes des pages 16 à 18.
- Ajouter l'ARN entraîneur reconstitué dans le tampon AVE au tampon AL conformément aux consignes de la page 16.

## Procédure

- 1. Transférer à la pipette 25  $\mu$ l de protéase QIAGEN (QP) dans un tube de lyse (LT).**

 Lire « Préparation des réactifs et des tampons », page 16, pour en savoir plus sur la remise en suspension de la protéase QIAGEN (QP) dans le solvant pour protéase (PS).

- 2. Ajouter 200  $\mu$ l de plasma ou de sérum au tube de lyse (LT).**

Si le volume de l'échantillon est inférieur à 200  $\mu$ l, ajouter le volume approprié de solution de chlorure de sodium à 0,9 % afin que le volume total de protéase et d'échantillon soit de 225  $\mu$ l.

- 3. Ajouter 200  $\mu$ l de tampon AL (contenant 28  $\mu$ g/ $\mu$ l d'ARN entraîneur). Boucher le tube et mélanger au vortex par impulsions pendant au moins 15 secondes.**

Pour garantir l'efficacité de la lyse, il est indispensable que l'échantillon et le tampon AL soient bien mélangés pour former une solution homogène.



Ne pas ajouter directement la protéase QIAGEN (QP) dans le tampon AL.

- 4. Incuber à 56 °C ± 3 °C pendant 15 minutes ± 1 minute sur une unité de chauffage.**
- 5. Centrifuger brièvement le tube de lyse (LT) afin d'éliminer les gouttes présentes dans le bouchon.**
- 6. Ajouter 250 µl d'éthanol (96 à 100 %) à l'échantillon, boucher le tube et mélanger soigneusement au vortex par impulsions pendant au moins 15 secondes. Incuber le lysat dans l'éthanol pendant 5 minutes ± 30 secondes à température ambiante (15 à 25 °C).**



Si la température ambiante dépasse 25 °C, il convient de refroidir l'éthanol sur de la glace avant de l'ajouter au lysat.

- 7. Centrifuger brièvement le tube afin d'éliminer les gouttes présentes dans le bouchon.**
- 8. Déposer avec précaution la totalité du lysat de l'étape 7 sur la colonne QIAamp MinElute sans en mouiller le bord. Boucher la colonne et centrifuger à environ 6000 g pendant plus d'1 minute. Placer la colonne QIAamp MinElute dans un tube de lavage (WT) de 2 ml neuf et éliminer le tube de lavage contenant le filtrat.**

Si la totalité du lysat n'a pas traversé la colonne après centrifugation, recommencer celle-ci à vitesse plus élevée jusqu'à ce que la colonne QIAamp MinElute soit vide.

- 9. Ouvrir avec précaution la colonne QIAamp MinElute et ajouter 500 µl de tampon AW1 sans mouiller le bord. Boucher la colonne et centrifuger à environ 6000 g pendant au moins 1 minute. Placer la colonne QIAamp MinElute dans un tube de lavage (WT) de 2 ml neuf et éliminer le tube de lavage contenant le filtrat.**
- 10. Ouvrir la colonne QIAamp MinElute avec précaution et ajouter 500 µl de tampon AW2 sans mouiller le bord. Boucher la colonne et centrifuger à environ 6000 g pendant plus d'1 minute. Placer la colonne QIAamp MinElute dans un tube de lavage de 2 ml neuf et éliminer le tube de lavage contenant le filtrat.**
- 11. Ouvrir la colonne QIAamp MinElute avec précaution et ajouter 500 µl d'éthanol (96 à 100 %) sans mouiller le bord. Boucher la colonne et centrifuger à environ 6000 g pendant plus d'1 minute. Éliminer le tube de lavage contenant le filtrat.**

L'éthanol résiduel dans l'éluat peut poser problème dans les applications en aval. Certains rotors de centrifugeuse vibrent lors de la décélération, ce

qui entraîne un contact entre l'effluent, qui contient l'éthanol, et la colonne QIAamp MinElute. Le retrait de la colonne QIAamp MinElute et du tube de lavage du rotor peut également entraîner un contact entre l'effluent et la colonne.

**12. Placer la colonne QIAamp MinElute dans un tube de lavage (WT) de 2 ml neuf. Centrifuger à vitesse maximale (environ 20 000 g) pendant 3 minutes  $\pm$  30 secondes pour sécher complètement la membrane.**

**13. Placer la colonne QIAamp MinElute dans un tube de lavage (WT) de 2 ml neuf, déboucher la colonne et incuber l'ensemble à 56 °C  $\pm$  3 °C pendant 3 minutes  $\pm$  30 secondes pour sécher complètement la membrane.**

Cette étape sert à évaporer le liquide résiduel.

**14. Placer la colonne QIAamp MinElute dans un tube d'élution (ET) et éliminer le tube de lavage contenant le filtrat. Ouvrir avec précaution la colonne QIAamp MinElute et ajouter 20 à 150  $\mu$ l de tampon AVE au centre de la membrane. Boucher la colonne et incuber à température ambiante pendant 5 minutes. Centrifuger à vitesse maximale (environ 20 000 g) pendant plus d'1 minute.**



Vérifier que le tampon d'élution a été amené à température ambiante. En cas d'utilisation de faibles volumes d'élution (< 50  $\mu$ l), le tampon d'élution doit être déposé au centre de la membrane afin de permettre une élution complète des ARN et ADN liés.

Le volume d'élution est variable et peut être adapté selon les exigences de l'application en aval. Noter que le volume d'éluat récupéré est inférieur d'environ 5  $\mu$ l au volume de tampon d'élution versé dans la colonne.

## Contrôle qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot de kit QIAamp DSP Virus Spin est testé selon des spécifications prédéterminées afin de garantir une qualité constante du produit.

## Limitations

La performance du système a été établie à l'aide d'échantillons plasmatiques et sériques utilisés pour l'isolation des acides nucléiques viraux.

Il est de la responsabilité des utilisateurs de valider la performance du système pour toutes les procédures utilisées dans leur laboratoire et non couverts par les études de performance QIAGEN.

Afin de fausser le moins possible les résultats diagnostiques, il est nécessaire d'utiliser des témoins adéquats pour les applications en aval. Pour une validation ultérieure, il est conseillé de suivre les recommandations de la Conférence internationale sur l'harmonisation des exigences techniques (ICH) exposées dans ICH Q2A (R1) Validation Of Analytical Procedures : Text And Methodology.

Tous les résultats diagnostiques générés doivent être interprétés conjointement à d'autres résultats cliniques ou de laboratoire.

## Caractéristiques de performance

Voir [www.qiagen.com/goto/QIAampDSPVirusSpinPerformance](http://www.qiagen.com/goto/QIAampDSPVirusSpinPerformance) pour les caractéristiques de performance du kit QIAamp DSP Virus Spin.

## Références

QIAGEN tient à jour une grande banque de données en ligne de publications scientifiques utilisant les produits QIAGEN. Des critères de sélection de recherche aident à trouver les articles à l'aide d'un mot-clé ou en spécifiant l'application, le domaine de recherche, le titre, etc.

Pour une liste complète des références, visiter notre banque de données en ligne « QIAGEN Reference Database » à l'adresse [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp) ou bien contacter les services techniques de QIAGEN ou le distributeur local.

## Symboles



<N>

Contient suffisamment de réactifs pour <N> préparations d'échantillons



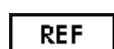
Lire les informations dans le manuel



À utiliser avant



Dispositif médical de diagnostic in vitro



Référence



Remarque importante



Numéro de lot



Numéro de la substance



Composants



Volume



Limitation de température



Fabricant



À l'arrivée



Ouvrir à la livraison. Conserver les colonnes QIAamp MiniElute à une température comprise entre 2 et 8 °C.



Noter la date du jour sur le flacon après avoir ajouté l'éthanol.



Ajouter



Contient

<b>LYOPH</b>	Lyophilisé
<b>RCNS</b>	Reconstitué dans
<b>EtOH</b>	Éthanol
<b>GuHCl</b>	Chlorhydrate de guanidine
<b>MALEIC ACID</b>	Acide maléique
<b>SUBT</b>	Subtilysine
<b>GTIN</b>	Code article international (GTIN)
<b>→</b>	Mène à

## Coordonnées

Chez QIAGEN, nous sommes fiers de la qualité et de la disponibilité de notre support technique. Nos départements du service technique sont composés de scientifiques expérimentés bénéficiant d'un vaste savoir-faire pratique et théorique en ce qui concerne les technologies d'échantillons et d'analyses et l'utilisation des produits QIAGEN. Pour toute question ou en cas de difficultés concernant le kit QIAamp DSP Virus Spin ou les produits QIAGEN en général, nous contacter.

Les clients de QIAGEN constituent une source d'informations majeure relative aux utilisations avancées ou spécialisées de nos produits. Ces informations sont utiles à d'autres scientifiques ainsi qu'aux chercheurs de chez QIAGEN. Par conséquent, ne pas hésiter à nous contacter pour toute suggestion concernant la performance des produits ou de nouvelles applications et techniques.

Pour le support technique et plus d'informations, consulter notre Centre de support technique à l'adresse [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) ou appeler l'un des services techniques de QIAGEN ou des distributeurs locaux (voir quatrième de couverture ou le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, D-40724 Hilden, Allemagne



# **Annexe**

## **Manipulation de l'ARN**

Les ribonucléases (RNases) sont des enzymes très stables et très actives qui ne nécessitent généralement pas de cofacteurs pour être activées. Comme les RNases sont difficiles à inactiver et que de très petites quantités d'enzyme suffisent à détruire les ARN, ne pas utiliser de matériel en plastique ou en verre sans le traiter au préalable contre une contamination possible par les RNases. Prendre garde de ne pas introduire par inadvertance des RNases dans l'échantillon d'ARN tout au long ou après l'isolation. Lors de la manipulation de l'ARN, afin de créer et de maintenir un environnement exempt de RNase, il est important de prendre les précautions suivantes au cours du prétraitement et de l'utilisation des récipients jetables ou non jetables et des solutions.

## **Manipulation générale**

Lors de la préparation des ARN, toujours respecter les principes de techniques aseptiques de microbiologie. Les mains et les particules de poussière peuvent être porteuses de bactéries et de champignons et sont la source la plus fréquente de contaminations par les RNases. Toujours porter des gants en latex ou en vinyle pour travailler avec des réactifs et des échantillons d'ARN afin d'éviter une contamination par les RNases par la peau ou par l'équipement de laboratoire poussiéreux. Changer souvent de gants et fermer les tubes immédiatement après usage.

## **Matériel en plastique réutilisable**

Le matériel en plastique réutilisable doit être traité avant utilisation afin de s'assurer qu'il est exempt de RNase. Le rincer soigneusement avec une solution de NaOH \* 0,1 M, de l'EDTA \* 1 mM puis de l'eau exempte de RNase \* (voir « Solution », page 26). Si le matériel résiste au chloroforme \*, il est également possible de le rincer avec cette substance afin d'inactiver les RNases.

## **Verrerie**

La verrerie doit être traitée avant utilisation afin de s'assurer qu'elle est exempte de RNase. Avant emploi, la verrerie utilisée avec l'ARN doit être nettoyée avec un détergent, rincée soigneusement et passée à l'étuve à une température > 240 °C pendant au moins 4 heures (toute la nuit si cela est plus pratique). L'autoclavage seul ne permet pas d'inactiver totalement les RNases. Non

\* Lors de la manipulation des 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 du produit.

seulement le passage à l'étuve inactive les ribonucléases mais il garantit également qu'aucun autre acide nucléique (tel que des plasmides) reste à la surface de la verrerie. Il est également possible de traiter la verrerie au DEPC \* (diéthylpyrocarbonate). Recouvrir la verrerie de DEPC à 0,1 % dans l'eau et laisser tremper pendant une nuit (12 heures) à 37 °C puis passer à l'autoclave ou chauffer à 100 °C pendant 15 minutes pour éliminer le DEPC résiduel.

**i** Pour les tubes Corex®, l'élimination des RNases doit être réalisée par traitement au DEPC et non pas par passage à l'étuve. Ceci permet de réduire le taux de casse de ce type de tube lors de la centrifugation.

## **Cuves d'électrophorèse**

Les cuves d'électrophorèse doivent être nettoyées avec une solution détergente (par exemple, SDS à 0,5 %) \*, rincées à l'eau, séchées à l'éthanol \*<sup>†</sup> puis remplies d'une solution de peroxyde d'hydrogène \* à 3 %. Au bout de 10 minutes à température ambiante, les cuves doivent être rincées soigneusement avec de l'eau exempte de RNase.

## **Solution**

Les solutions (eau et autres) doivent être traitées avec du DEPC à 0,1 %. Le DEPC réagit avec les amines primaires et ne peut pas être utilisé directement pour traiter les tampons Tris. Le DEPC est très instable en présence de tampons Tris et se décompose rapidement en éthanol et CO<sub>2</sub>. Lors de la préparation des tampons Tris, traiter d'abord l'eau avec le DEPC puis dissoudre le Tris pour obtenir le tampon adapté.

Le DEPC est un inhibiteur puissant mais pas absolu des RNases. Il est couramment employé à la concentration de 0,1 % pour inactiver les RNases présentes sur la verrerie ou le matériel en plastique ou pour rendre des solutions et de l'eau exemptes de RNase. Le DEPC inactive les RNases en modifiant leur liaison covalente. Des quantités à l'état de trace suffisent à modifier la purine résiduelle de l'ARN par carbéthoxylation. Dans les systèmes acellulaires, l'efficacité de traduction de l'ARN carbéthoxylé est très faible. Toutefois, sa capacité à former des hybrides ADN:ARN ou ARN:ARN n'est pas gravement affectée sauf si une forte proportion des purines résiduelles ont été modifiées.

\* Lors de la manipulation des 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 du produit.

<sup>†</sup> Certains plastiques utilisés pour les cuves d'électrophorèse ne sont pas résistants à l'éthanol. Faire preuve de précaution et vérifier les consignes du fabricant.

Le DEPC résiduel doit toujours être éliminé des solutions ou des récipients par autoclavage ou chauffage à  $100\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$  pendant  $15\text{ minutes} \pm 1\text{ minute}$ .

Ajouter 0,1 ml de DEPC à 100 ml de solution à traiter et agiter vigoureusement pour homogénéiser la solution ou laisser la solution incuber pendant plus de 12 heures à  $37\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ . Passer à l'autoclave pendant  $15\text{ minutes} \pm 1\text{ minute}$  pour éliminer toute trace de DEPC. Il peut être souhaitable de rechercher la présence éventuelle de RNases contaminantes dans les sources d'eau dans la mesure où de nombreuses sources d'eau distillée sont exemptes de RNase.

① Les tampons du kit QIAamp DSP Virus Spin ne sont pas rendus exempts de RNase par le traitement au DEPC et ne nécessitent donc aucune décontamination.

Marques de commerce : QIAGEN®, QIAamp® QIAcube®, MinElute® (Groupe QIAGEN); Corex® (Corning, Inc.).

Les noms déposés, les noms de marque, etc. cités dans le présent document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

#### **Accord de licence limité pour le kit QIAamp DSP Virus Spin**

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur du kit QIAamp DSP Virus Spin accepte les conditions suivantes :

1. Le kit QIAamp DSP Virus Spin ne doit être utilisé que conformément au *Manuel du kit QIAamp DSP Virus Spin* et avec les composants fournis à l'intérieur du kit. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce kit avec tout autre composant non fourni dans ce kit, à l'exception de ce qui est stipulé dans le *Manuel du kit QIAamp DSP Virus Spin* et autres protocoles disponibles sur le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
2. Hormis les licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce kit et/ou son(s) utilisation(s) ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce kit et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du kit consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre, de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les termes précédents. QIAGEN peut faire appliquer des interdictions de cet Accord de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de cet Accord de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au kit et/ou à ses composants.

Pour les termes de licence mis à jour, voir [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2015 QIAGEN, tous droits réservés.



---

**www.qiagen.com**

**Australia** ■ techservice-au@qiagen.com

**Austria** ■ techservice-at@qiagen.com

**Belgium** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Brazil** ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

**China** ■ techservice-cn@qiagen.com

**Denmark** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Finland** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**France** ■ techservice-fr@qiagen.com

**Germany** ■ techservice-de@qiagen.com

**Hong Kong** ■ techservice-hk@qiagen.com

**India** ■ techservice-india@qiagen.com

**Ireland** ■ techservice-uk@qiagen.com

**Italy** ■ techservice-it@qiagen.com

**Japan** ■ techservice-jp@qiagen.com

**Korea (South)** ■ techservice-kr@qiagen.com

**Luxembourg** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Mexico** ■ techservice-mx@qiagen.com

**The Netherlands** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Norway** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Singapore** ■ techservice-sg@qiagen.com

**Sweden** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Switzerland** ■ techservice-ch@qiagen.com

**UK** ■ techservice-uk@qiagen.com

