

Mode d'emploi du QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit

IVD

Pour une utilisation en diagnostic in vitro

Ce mode d'emploi s'applique aux produits suivants :

**REF****Version**

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

50

61104

3



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

Table des matières

1. Utilisation prévue	4
2. Utilisateur prévu	4
3. Description et principe	5
3.1. Principe de la procédure	5
3.2. Résumé et explications	12
4. Matériel fourni	13
4.1. Contenu du kit	13
4.2. Composants du kit	14
5. Matériel nécessaire, mais non fourni	15
5.1. Réactifs supplémentaires	15
5.2. Consommables	15
5.3. Équipement	15
6. Avertissements et précautions	17
6.1. Informations de sécurité	17
6.2. Précautions	19
7. Mise au rebut	20
8. Stockage et manipulation	21
8.1. Stockage et manipulation des réactifs	21
8.2. Conservation et manipulation des échantillons	22
9. Remarques importantes avant de commencer	25
10. Protocole : extraction et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang à l'aide d'une microcentrifugeuse ou d'une purification automatisée sur le QIAcube Connect MDx	32
10.1. Étapes préliminaires	32
11. Protocole : extraction et purification de l'ADN génomique à partir d'échantillons d'aspirat de moelle osseuse à l'aide d'une microcentrifugeuse	37
11.1. Étapes préliminaires	37

12. Protocole : Extraction et purification de l’ADN génomique des échantillons de sang à l’aide d’un système de vide 41

 12.1. Étapes préliminaires 41

13. Limitations 46

14. Caractéristiques de performances 47

15. Références 48

16. Guide de résolution de problèmes 49

17. Symboles 54

18. Coordonnées 57

19. Informations sur les commandes 58

20. Historique des révisions du document 60

1. Utilisation prévue

Le QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit est un système utilisant une technologie de membrane de silice (technologie QIAamp) pour l'extraction et la purification de l'ADN génomique à partir d'échantillons biologiques.

Le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit est destiné au diagnostic in vitro.

2. Utilisateur prévu

Ce produit est destiné à l'usage des professionnels, tels que les techniciens et les médecins formés aux techniques de la biologie moléculaire.

3. Description et principe

Chaque procédure du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit comprend 4 étapes :

- Lyse des cellules dans l'échantillon
- Fixation de l'ADN génomique du lysat cellulaire sur la membrane d'une colonne de centrifugation QIAamp Mini
- Lavage de la membrane
- Éluion de l'ADN génomique fixé sur la membrane

Ce manuel contient des protocoles pour 2 variantes de la procédure du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit :

- La procédure de centrifugation, qui nécessite une centrifugeuse ou peut être automatisée sur le QIAcube® Connect MDx (Figure 1), et
- La procédure sous vide, qui nécessite une centrifugeuse et un système de vide.

Veuillez vous reporter à l'organigramme « Procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini avec centrifugation et aspiration sous vide » page 9 pour plus de détails.

3.1. Principe de la procédure

Lyse des échantillons

La lyse des échantillons s'effectue dans des conditions hautement dénaturantes à des températures élevées. La lyse est réalisée en présence de QIAGEN® Protease (QP) et de tampon de lyse (AL).

Fixation de l'ADN génomique sur la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini

De l'éthanol est d'abord ajouté aux lysats pour optimiser la liaison de l'ADN génomique à la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini. Chaque lysat est ensuite transféré

dans une colonne de centrifugation QIAamp Mini. L'ADN génomique est adsorbé sur la membrane de silice alors que le lysat passe à travers la membrane sous l'effet de la pression du vide ou de la force centrifuge.

Élimination des contaminants résiduels

Tandis que l'ADN génomique reste fixé sur la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, les contaminants sont éliminés de manière efficace par lavage, d'abord avec le tampon de lavage 1 (AW1), puis avec le tampon de lavage 2 (AW2).

Élution de l'ADN génomique purifié

L'ADN génomique est élué de la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini à l'aide de 50 à 200 µl de tampon d'élution (AE). Le volume d'élution dépend de l'application en aval et doit être établi et validé par l'utilisateur.

L'ADN élué est prêt à l'emploi pour différentes applications en aval, dont diverses applications diagnostiques in vitro effectuées en aval. Le tampon d'élution (AE) doit être amené à température ambiante (15–25 °C) avant d'être déposé sur la colonne.

En raison du tampon d'élution résiduel retenu par la membrane de la colonne après centrifugation, le volume d'éluat récupéré peut être inférieur au volume de tampon d'élution (AE) appliqué sur la colonne. En outre, le volume d'éluat obtenu dépend de la nature de l'échantillon.

L'ADN élué est collecté dans des tubes d'élution (ET) et peut être stocké pour une utilisation ultérieure.

Remarque : la stabilité de l'éluat dépend fortement de divers facteurs et est liée à l'application en aval spécifique. Elle a été évaluée pour le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit en association avec des exemples d'applications en aval. L'utilisateur est responsable de consulter le mode d'emploi de l'application en aval spécifique utilisée dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail afin de déterminer les conditions de stockage appropriées.

Rendement et qualité de l'ADN génomique

Le rendement en ADN dépend du type d'échantillon et de la qualité du matériel de départ. L'élution dans des volumes plus petits augmente la concentration finale d'ADN dans l'éluat mais réduit légèrement le rendement global en ADN. Le volume d'élution doit être choisi selon les besoins de l'application en aval.

Le rendement et la qualité de l'ADN génomique isolé sont adaptés aux procédures de détection en aval en diagnostic moléculaire, telles que la PCR. Les tests de diagnostic doivent être effectués conformément aux instructions des fabricants.

Purification automatisée sur le QIAcube Connect MDx

Le QIAcube Connect MDx effectue de façon automatisée l'extraction et la purification des acides nucléiques. Il peut traiter jusqu'à 12 échantillons par cycle d'exécution.

La préparation des échantillons avec le QIAcube Connect MDx suit les mêmes étapes que la procédure manuelle (à savoir : lyse, fixation, lavage et élution), ce qui vous permet de continuer à utiliser le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit pour la purification d'ADN de haute qualité.

En cas d'automatisation du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sur le QIAcube Connect MDx, l'instrument peut traiter moins de 50 échantillons en raison des volumes morts, de l'évaporation et de la consommation supplémentaire de réactifs liée au pipetage automatisé. QIAGEN garantit uniquement 50 préparations d'échantillons dans le cadre d'une utilisation manuelle du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

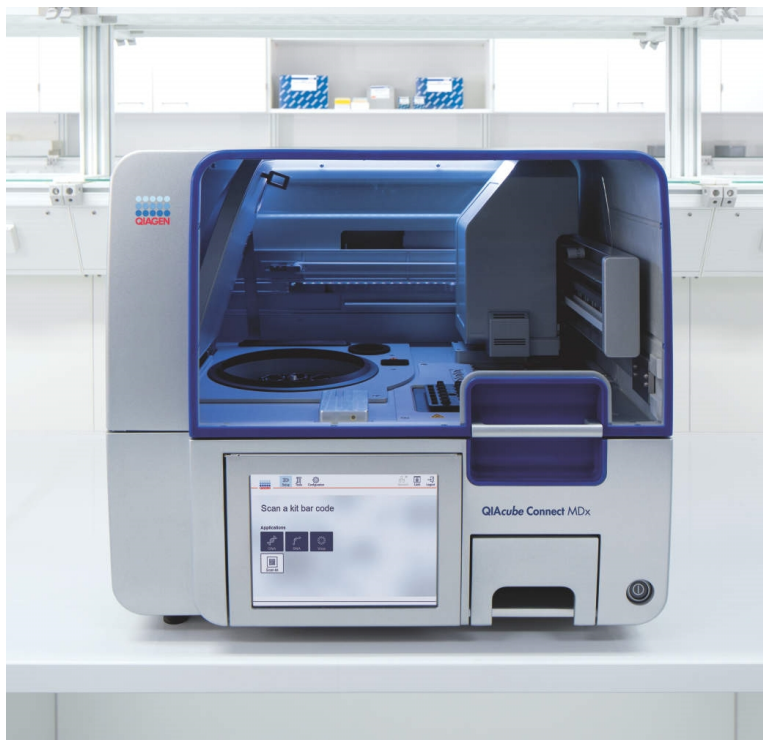


Figure 1. Le QIAcube Connect MDx.

Procédure QIAamp avec centrifugation



Lyse

Liaison

Lavage (Buffer AW1)

Lavage (Buffer AW2)

Élution

Procédure QIAamp avec aspiration sous vide



Lyse

Vide

Vide

Vide

Vide

Lire attentivement les protocoles ("Protocole : extraction et purification de l'ADN génomique à partir d'échantillons d'aspirat de moelle osseuse à l'aide d'une microcentrifugeuse" à la page 37 et "Protocole : Extraction et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang à l'aide d'un système de vide" à la page 41) avant de commencer.

Dans le tube LT, ajouter 20 µl de QP, 200 µl d'échantillon et 200 µl de tampon AL.

Vortexer pendant 15 s.

Incuber à 56 °C pendant 10 min.

Ajouter 200 µl d'éthanol.

Vortexer pendant 15 s.

Transférer le lysat dans une colonne de centrifugation QIAamp Mini.

Procédure de centrifugation

Centrifuger pendant 1 min à 6 000 × g.

Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de collecte, ajouter 500 µL de tampon AW1 et centrifuger pendant 1 min à 6 000 × g

Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube WT, ajouter 500 µL de tampon AW2 et centrifuger pendant 1 min à vitesse maximale (environ 20 000 × g ou 14 000 tr/min).

Procédure avec aspiration sous vide

Appliquer le vide.

Ajouter 750 µl d'AW1 et appliquer le vide.

Ajouter 750 µL de tampon AW2 et appliquer le vide.

Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube WT.

Centrifuger pendant 3 min à vitesse maximale (environ 20 000 × g ou 14 000 tr/min).

Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube ET.

Ajouter 50–200 µL de tampon AE, puis incuber pendant 1 min.

Centrifuger pendant 1 min à $6\,000 \times g$.

3.2. Résumé et explications

Le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit exploite une technologie éprouvée qui permet d'extraire et de purifier rapidement et facilement l'ADN génomique à partir de 200 µl de sang total.

Les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit, qui ont été développées pour le traitement simultané de plusieurs échantillons, permettent d'obtenir de l'ADN purifié prêt à l'emploi. Ces procédures peuvent être utilisées avec des échantillons de sang total, frais ou congelé, et de sang traité à l'EDTA ou au citrate.

Le protocole d'extraction manuelle à l'aide d'une microcentrifugeuse peut être utilisé pour l'extraction de l'ADN génomique à partir d'échantillons d'aspirat de moelle osseuse en association avec l'*ipsogen*® IDH1 RGQ PCR Kit.

Il n'est pas nécessaire de séparer les leucocytes au préalable. Ces procédures ne nécessitent ni extraction au phénol/chloroforme ni précipitation à l'alcool, et elles ne demandent qu'un nombre restreint d'interventions de l'utilisateur, permettant la manipulation en toute sécurité des échantillons potentiellement infectieux. Ces procédures sont conçues pour limiter la contamination croisée entre les échantillons. L'ADN purifié est prêt à l'emploi pour la PCR ou autres applications. Il peut également être stocké pour une utilisation ultérieure. L'utilisateur est responsable de consulter le mode d'emploi de l'application en aval spécifique utilisée dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail afin de déterminer les conditions de stockage appropriées.

Les procédures QIAamp DSP avec centrifugation et aspiration sous vide permettent le traitement simultané de plusieurs échantillons. Pour les échantillons de sang, certaines procédures de centrifugation QIAamp peuvent être entièrement automatisées sur le QIAcube Connect MDx pour favoriser la normalisation et simplifier l'utilisation (voir section 10). « Protocole : extraction et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang à l'aide d'une microcentrifugeuse ou d'une purification automatisée sur le QIAcube Connect MDx »).

Pour la procédure avec aspiration sous vide, le protocole requiert un collecteur à vide (par exemple, le QIAvac 24 Plus avec le QIAvac Connecting System) et une pompe à vide capable de produire un vide d'environ 800 à 900 mbar (par exemple, QIAGEN Vacuum Pump). Un Vacuum Regulator (inclus dans le QIAvac Connecting System) doit être utilisé pour faciliter la surveillance de la pression du vide et l'arrêt du vide.

4. Matériel fourni

4.1. Contenu du kit

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			61104 50*
N° de référence			
Nombre de préparations			
	Nom	Symboles	Quantité
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (colonnes de centrifugation QIAamp Mini avec tubes de lavage) (WT) (2 ml)	COL	50
ET	Tubes d'élution (1,5 ml)	ELU TUBE	50
VC	VacConnectors	VAC CON	50
LT	Tubes de lyse (1,5 ml)	LYS TUBE	50
WT	Tubes de lavage (2 ml)	WASH TUBE	3 x 50
AL†	Lysis Buffer (tampon de lyse)	LYS BUF	12 ml
AW1†§	Wash Buffer 1 (tampon de lavage 1) (concentré)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2†§	Wash Buffer 2 (tampon de lavage 2) (concentré)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
EI†	Elution buffer (tampon d'élution)	ELU BUF	25 ml
PS†	Protease Solvent (solvant pour protéase)	QPROT SOLV	2 ml
QP§	QIAGEN Protease	QPROT	1 flacon

* En cas d'automatisation du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sur le QIAcube Connect MDx, l'instrument peut traiter moins de 50 échantillons en raison des volumes morts, de l'évaporation et de la consommation supplémentaire de réactif par pipettage automatisé. QIAGEN ne garantit que 50 préparations d'échantillons avec l'utilisation manuelle du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

† Contient du chlorhydrate de guanidine. Non compatible avec les désinfectants contenant de l'eau de Javel. Pour plus d'informations, reportez-vous à la section 6. « Avertissements et précautions »

‡ Contient de l'azoture de sodium comme agent de conservation.

§ Consulter la section 9 pour le "Préparation des réactifs et tampons" à la page 26.

4.2. Composants du kit

Les principaux composants du kit contenant des principes actifs sont expliqués ci-dessous.

Tableau 1. Ingrédients actifs dans les réactifs fournis

Réactif	Ingrédients actifs	Concentration (p/p) [%]
QIAGEN Protease	Subtilisine	≥ 0 à ≤ 100
AL	Chlorhydrate de guanidine	≥ 30 à < 50
	Acide maléique	$\geq 0,1$ à < 1
AW1	Chlorhydrate de guanidine	≥ 50 à < 70

Contrôles et étalons

Afin de limiter les risques d’impact négatif sur les résultats diagnostiques, des contrôles appropriés doivent être utilisés pour les applications en aval.

5. Matériel nécessaire, mais non fourni

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

5.1. Réactifs supplémentaires

- Éthanol (96-100 %) *

5.2. Consommables

- Embouts de pipettage (pour éviter toute contamination croisée, il est fortement recommandé d'utiliser des embouts de pipettage avec dispositif anti-aérosols)

5.3. Équipement

Avant utilisation, s'assurer que les instruments ont été vérifiés et étalonnés conformément aux recommandations du fabricant.

- Pipettes (réglables)
- Bloc chauffant pour la lyse des échantillons à 56 °C (pour les microtubes à essai de 1,5 ml)
- Microcentrifugeuse
- Éprouvette graduée (50 ml)
- Vortex

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

Pour la procédure avec aspiration sous vide uniquement

- Système d'aspiration QIAvac 24 Plus (réf. cat. 19413) ou équivalente
- En option : VacValves (réf. cat. 19408)
- QIAvac Connecting System (réf. cat. 19419) ou équivalente
- Pompe à vide (réf. cat. 84020 ou 9003250) ou pompe équivalente capable de produire un vide de –800 à –900 mbar

Pour la procédure automatisée uniquement

- Instrument QIAcube Connect MDx (réf. cat. 9003070)
- Adaptateurs de rotor (réf. cat. 990394)
- Support d'adaptateur de rotor (réf. cat. 990392)
- Tubes d'échantillon CB (réf. cat. 990382 ; tube d'introduction d'échantillons)
- Broches du portoir de l'agitateur (réf. cat. 9017854)
- Flacons de réactif, 30 ml (réf. cat. 990393)
- Pointes à filtre, 1 000 µl (réf. cat. 990352)
- Embouts à filtre, 200 µl (réf. cat. 990332)
- SafeSeal Tube, 1,5 ml (Sarstedt®, réf. cat. 72.706)

6. Avertissements et précautions

Veillez noter que vous pouvez être tenu de consulter les réglementations locales pour signaler les incidents graves survenus en relation avec l'instrument au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité réglementaire dans laquelle l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Pour une utilisation en diagnostic in vitro.

Lire attentivement toutes les instructions avant d'utiliser la trousse.

6.1. Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter un sarrau de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, veiller à 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, où il est possible de trouver, de consulter et d'imprimer les FDS de chaque kit et composant de kit QIAGEN.

AVERTISSEMENT

Risque de blessure



NE PAS ajouter d'eau de Javel ou de solutions acides directement aux déchets de préparation des échantillons.

- Le tampon de lyse (AL) et le tampon de lavage 1 (AW1) contiennent du chlorhydrate de guanidine, qui peut former des composés hautement réactifs au contact de l'eau de Javel. En cas de déversement de liquide contenant ce type de tampons, nettoyer à l'eau et à l'aide d'un détergent de laboratoire approprié. Si le liquide déversé contient des agents potentiellement infectieux, nettoyer dans un premier temps la zone concernée à l'eau accompagnée d'un détergent de laboratoire, puis à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v).

- Si les flacons de tampons fuient ou sont abîmés, porter des gants et des lunettes de protection au moment de les jeter afin d'éviter tout risque de blessure personnelle ou à autrui.
- Les échantillons sont potentiellement infectieux et doivent être manipulés et éliminés conformément à vos procédures de sécurité locales.
- QIAGEN n'a pas testé les déchets liquides générés par les procédures du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit pour détecter d'éventuelles matières infectieuses résiduelles. Par conséquent, des précautions universellement reconnues (port de gants, blouses et protections oculaires) pour la manipulation de matériel source d'origine humaine potentiellement infectieux doivent être respectées lors de l'utilisation de ce produit, et les déchets liquides doivent être considérés comme dangereux et éliminés conformément aux règles de sécurité locales.

Informations d'urgence

CHEMTREC

Aux États-Unis et au Canada 1-800-424-9300

En dehors des États-Unis et du Canada +1 703-527-3887

6.2. Précautions

Les mentions de risque et de sécurité suivantes s'appliquent aux composants du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Tampon de lyse (AL)



Contient : chlorhydrate de guanidine et acide maléique. Avertissement ! Peut être nocif en cas d'ingestion ou d'inhalation. Provoque une irritation cutanée. Peut provoquer une allergie cutanée. Provoque une grave irritation oculaire. Porter des gants/des vêtements/des lunettes/un masque de protection. Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. Mettre le contenu/récipient au rebut dans un centre de traitement des déchets agréé.

Buffer AW1



Contient du chlorhydrate de guanidine. Avertissement ! Nocif par ingestion ou par inhalation. Provoque une irritation cutanée. Provoque une grave irritation oculaire. Porter des gants/des vêtements/des lunettes/un masque de protection. Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. Mettre le contenu/récipient au rebut dans un centre de traitement des déchets agréé.

QIAGEN Protease



Contient de la subtilisine. Danger ! Nocif en cas d'ingestion. Provoque une irritation cutanée. Provoque des lésions oculaires graves. Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. Peut irriter les voies respiratoires. Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. Porter des gants/des vêtements/des lunettes/un masque de protection. Porter un équipement de protection respiratoire. 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. Poursuivre le rinçage. EN CAS d'exposition ou de préoccupation : appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Transporter la victime à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.

7. Mise au rebut

Les déchets contiennent des échantillons et des réactifs. Ceux-ci peuvent contenir des matières toxiques ou infectieuses et doivent être mis au rebut de manière appropriée. Reportez-vous aux règles de sécurité en vigueur concernant les procédures de mise au rebut.

8. Stockage et manipulation

8.1. Stockage et manipulation des réactifs

Prêter attention aux dates de péremption et aux conditions de stockage imprimées sur l'emballage. Ne pas utiliser de composants périmés ou mal stockés.

Le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit est expédié à température ambiante. Dès réception, les colonnes de centrifugation QIAamp Mini doivent être conservées entre 2 et 8 °C dans leur emballage d'origine. Afin de s'assurer que les composants des différents kits ne sont pas mélangés, penser à étiqueter les colonnes de centrifugation QIAamp Mini avec le numéro de lot du kit respectif. Tous les autres composants du kit (tampons, QIAGEN Protease (QP) lyophilisée et consommables en plastique) doivent être conservés à température ambiante (15–25 °C).

Lorsqu'il est conservé correctement, le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit est utilisable jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'emballage extérieur. Dans ces conditions, les composants sont stables pendant 2 ans tant qu'ils ne sont pas ouverts, sans présenter de diminution de performance ou de qualité.

Ne pas utiliser si elles ont été stockées en dehors des spécifications, si l'emballage a été endommagé ou si d'autres signes de détérioration ou de dysfonctionnement sont visibles.

Stabilité à l'utilisation

QIAGEN Protease (QP) reconstitué est stable pendant une durée maximale de 1 an lorsqu'il est stocké entre 2 et 8 °C, ou jusqu'à la date de péremption du kit, la période la plus courte étant retenue. Éviter de conserver la solution mère QIAGEN Protease (QP) à température ambiante pendant des périodes prolongées.

Le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué et le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué peuvent être stockés à température ambiante (15–25 °C) jusqu'à 1 an, ou jusqu'à la date de péremption du kit, la période la plus courte étant retenue.

Pour la préparation des tampons dans le cadre de la procédure automatisée, suivre les instructions du *Manuel d'utilisation QIAcube Connect MDx* (disponible dans l'onglet Resource (Ressource) sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com).

8.2. Conservation et manipulation des échantillons

Le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit est destiné à être utilisé avec les types d'échantillons énumérés à la section 13. « Limitations ». Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux. La stabilité des échantillons et les performances de l'extraction des acides nucléiques dépendent fortement de divers facteurs, tels que le dispositif et la méthode de prélèvement des échantillons, la température de stockage, les cycles de gel-dégel et les conditions de transport, et sont liées à l'application spécifique en aval. Elle a été établie pour le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit en association avec des méthodes et des dispositifs de prélèvement d'échantillons et des applications en aval exemplaires. L'utilisateur est responsable de consulter le mode d'emploi du dispositif de prélèvement d'échantillons spécifique et de l'application en aval spécifique utilisés dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail afin de déterminer les conditions appropriées.

8.2.1. Prélèvement des échantillons

Pour les recommandations générales de prélèvement, de transport et de stockage, consulter la consigne du CLSI MM13-A *Prélèvement, 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.

Indépendamment des consignes du fabricant du tube de prélèvement sanguin, la norme ISO 20186-2:2019 (E) doit être prise en compte pour l'extraction d'ADN génomique à partir de sang total veineux.

On peut utiliser des échantillons de sang total traités avec de l'EDTA ou de l'ACD (citrate), frais ou congelé.

Remarque : pour les échantillons d'aspirat de moelle osseuse, consulter le *Manuel de l'ipsogen IDH1 RGQ PCR Kit*.

8.2.2. Manipulation des prélèvements

Le rendement et la qualité de l'ADN purifié dépendent des conditions de stockage de l'échantillon. La congélation-décongélation des échantillons peut avoir un impact sur le rendement et la qualité de l'ADN. Il faut décongeler les échantillons de sang congelés au bain-marie à 37 °C en les agitant doucement pour garantir un bon mélange, puis les laisser s'équilibrer à température ambiante avant de commencer la procédure. Si vous utilisez des échantillons de sang frais en tubes primaires, mélangez bien les échantillons sanguins (par exemple, en retournant les tubes plusieurs fois) avant de transférer l'échantillon. 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 transvaser l'échantillon sans caillots.

Les cryoprécipités formés au cours de la décongélation des échantillons congelés risquent d'obstruer la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini ou peut perturber la procédure automatisée sur le QIAcube Connect MDx. Si des cryoprécipités sont visibles, éviter de les aspirer.

Substances interférentes dans les échantillons

Conformément à la norme ISO 20186-2:2019(E), l'héparine présente dans les tubes de prélèvement sanguin peut avoir un impact sur la pureté des acides nucléiques isolés et qu'un éventuel transfert dans les éluats pourrait provoquer des inhibitions dans certaines applications en aval. Il est donc recommandé d'utiliser des échantillons sanguins traités avec de l'EDTA ou du citrate comme anticoagulant.

9. Remarques importantes avant de commencer

- Après réception du kit, vérifier que les composants du kit ne sont pas endommagés. Si les emballages blister ou les flacons de tampon sont endommagés, contacter les services techniques QIAGEN ou le distributeur local. En cas de déversement de liquide, consulter la section 6.1. « Informations de sécurité ». Ne pas utiliser de composants de kit endommagés. Leur utilisation risque de nuire aux performances du kit et provoquer des blessures à l'utilisateur ou un endommagement de l'instrument.
- Changer systématiquement les embouts de pipettage entre les transferts de liquide. Afin de limiter la contamination croisée, il est recommandé d'utiliser des embouts de pipettage équipés d'un dispositif anti-aérosols.
- Toujours utiliser des gants jetables pendant l'intégralité de la procédure et s'assurer régulièrement qu'ils ne sont pas contaminés par l'échantillon. Jeter les gants s'ils sont contaminés.
- Pour limiter les risques de contamination croisée, ouvrir un seul tube à la fois.
- Après toutes les étapes de passage au vortex par impulsions, centrifuger brièvement les tubes de microcentrifugation afin d'éliminer les gouttes présentes dans les couvercles. L'utilisateur doit s'assurer de garantir la traçabilité des échantillons tout au long de la procédure.
- Toutes les étapes de centrifugation sont effectuées à température ambiante.
- L'utilisateur doit veiller à garantir la traçabilité des échantillons tout au long de la procédure.
- Chez QIAGEN, les procédures de contrôle qualité intègrent des tests fonctionnels de validation des kits pour chaque lot de kit donné. Il convient donc de ne pas mélanger des réactifs provenant de lots de kits différents et de ne pas combiner des réactifs provenant de lots de réactifs différents.
- Éviter toute contamination microbienne des réactifs du kit.

- Afin de limiter les risques d'infection par des matières potentiellement infectieuses, il est recommandé de travailler sous un flux d'air laminaire jusqu'à ce que les échantillons soient lysés.
- Pour l'automatisation, suivre les instructions sur l'interface utilisateur (QIAcube Connect MDx) et consulter le *Manuel d'utilisation du QIAcube Connect MDx*, www.qiagen.com/HB-2794
- Pour des informations générales sur le système QIAvac 24 Plus, consulter le *Manuel du QIAvac 24 Plus*, www.qiagen.com/HB-0496
- Ce kit doit être utilisé uniquement par du personnel formé aux pratiques d'un laboratoire de diagnostic in vitro.

Préparation des réactifs et tampons

• Préparation de QIAGEN Protease

Ajouter 1,2 ml de solvant pour protéase (PS) au flacon de QIAGEN Protease (QP) lyophilisé et mélanger soigneusement. Afin d'éviter la formation de mousse, mélanger en retournant le flacon plusieurs fois. Vérifier que QIAGEN Protease (QP) est entièrement dissoute.

Ne pas ajouter QIAGEN Protease (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).

Remarque : la protéase QIAGEN (QP) reconstituée est stable jusqu'à 1 an lorsqu'elle est conservée à 2-8 °C, ou jusqu'à la date de péremption du kit, la période la plus courte étant retenue. Éviter de garder la solution mère QIAGEN Protease (QP) à température ambiante pendant des périodes prolongées.

- **Préparation du tampon de lavage 1 ***

Ajouter 25 ml d'éthanol (96–100 %)† au flacon contenant 19 ml de tampon de lavage 1 (AW1) concentré, comme indiqué sur le flacon. Indiquer sur l'étiquette que de l'éthanol a été ajouté. Conserver le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué à température ambiante.

Avant de démarrer la procédure, toujours mélanger le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué en retournant plusieurs fois le flacon.

- **Préparation du tampon de lavage 2 †**

Ajouter 30 ml d'éthanol (96–100 %)‡ au flacon contenant 13 ml de tampon de lavage 2 (AW2) concentré, comme indiqué sur le flacon. Indiquer sur l'étiquette que de l'éthanol a été ajouté. Conserver le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué à température ambiante (15–25 °C).

Avant de démarrer la procédure, toujours mélanger le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué en retournant plusieurs fois le flacon.

*Contient un sel de guanidine. Respecter les mesures de sécurité appropriées du laboratoire et porter des gants lors des manipulations. Non compatible avec les désinfectants contenant de l'eau de Javel. Voir section 6.1 « Informations de sécurité ».

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

‡Contient de l'azoture de sodium comme agent de conservation.

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

- **Préparation du tampon d'élution**

Un flacon de tampon d'élution (AE) est fourni dans le kit. Afin d'éviter toute contamination du tampon d'élution (AE), il est vivement recommandé d'utiliser des embouts de pipettage avec dispositif anti-aérosols lors du pipettage du tampon d'élution (AE) depuis le flacon et de remettre le bouchon sur le flacon tout de suite après.

Le tampon d'élution (AE) contient de l'azoture de sodium comme conservateur, qui présente une absorbance à 260 nm. Par conséquent, vérifier que le blanc contient la même concentration d'azoture de sodium que l'éluat lors de la quantification de l'ADN dans l'éluat par mesure de l'absorbance à 260 nm, lors de la détermination de la pureté de l'ADN dans l'éluat par mesure de l'absorbance à 260 nm et 280 nm ou lors du balayage de l'absorbance dans une gamme de 220 nm à 350 nm. Par exemple, si vous préparez l'éluat pour les mesures d'absorbance en diluant 50 µl d'éluat avec 100 µl d'eau, vous devez ensuite préparer le blanc en diluant 50 µl de tampon d'élution (AE) avec 100 µl d'eau. Pour les dilutions, utiliser de l'eau fraîche et distillée.

Manipulation des colonnes de centrifugation QIAamp Mini

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

- Transférer avec précaution l'échantillon ou la solution dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini. Déposer l'échantillon à l'aide d'une pipette dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans mouiller le bord de la colonne.
- Changer systématiquement les embouts de pipettage entre chaque transfert de liquide. Il est recommandé d'utiliser des embouts de pipettage équipés d'un dispositif anti-aérosols.
- Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec l'embout de pipettage.
- Ouvrir une seule colonne de centrifugation QIAamp Mini à la fois, et prendre garde à ne pas générer d'aérosols.

Configuration du système de vide QIAvac 24 Plus

Pour des informations générales sur le système QIAvac 24 Plus, veuillez consulter le manuel spécifique.

Veiller à bien assembler la colonne de centrifugation QIAamp Mini, le VacConnector (VC) et la VacValve (voir Figure 2).

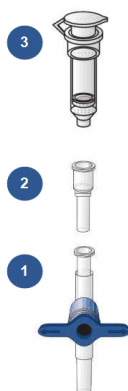


Figure 2. Assemblage des composants du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit pour le traitement des échantillons sous vide.

(1) VacValve, (2) VacConnector (VC) et colonne de centrifugation (3) QIAamp Mini.

En cas d'application de la procédure avec aspiration sous vide à l'aide du système de vide QIAvac 24 Plus, il est recommandé de marquer les tubes de lyse (LT), les tubes d'élution (ET) et les colonnes de centrifugation QIAamp Mini conformément au schéma de la Figure 3 afin d'éviter de confondre les échantillons. Cette figure peut être photocopiée et étiquetée avec les noms des échantillons. Il est recommandé d'utiliser un schéma semblable en cas d'utilisation d'autres systèmes de vide ou de la procédure avec centrifugation.

Date : _____

Opérateur : _____

ID du cycle d'exécution : _____

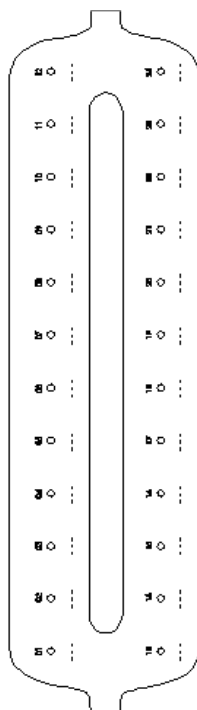


Figure 3. Schéma de marquage des tubes de lyse (LT), des tubes d'élution (ET) et des colonnes de centrifugation QIAamp Mini utilisés sur le système de vide QIAvac 24 Plus.

10. Protocole : extraction et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang à l'aide d'une microcentrifugeuse ou d'une purification automatisée sur le QIAcube Connect MDx

Pour l'extraction et la purification de l'ADN génomique des échantillons de 200 µl de sang total traité à l'EDTA ou au citrate à l'aide d'une microcentrifugeuse ou de façon automatisée sur le QIAcube Connect MDx.

Points importants avant de commencer

- La procédure ci-dessous indique les consignes pour le traitement d'un seul échantillon de sang. Néanmoins, il est possible de traiter simultanément plusieurs échantillons, le nombre d'échantillons dépendant de la capacité de la microcentrifugeuse utilisée.
- Le traitement automatisé de 2 à 10 ou 12 échantillons peut être effectué sur l'instrument QIAcube Connect MDx.
- Pour l'automatisation, suivre les instructions sur l'interface utilisateur (QIAcube Connect MDx) et consulter le *Manuel d'utilisation du QIAcube Connect MDx*, www.qiagen.com/HB-2794

10.1. Étapes préliminaires

- Amener les échantillons de sang à température ambiante, et vérifier qu'ils sont bien mélangés.
- S'assurer que tous les réactifs et les colonnes de centrifugation QIAamp Mini (dans des emballages blisters scellés) sont équilibrés à température ambiante.

- Préchauffer un bloc chauffant à 56 °C pour l'étape 4 (nécessaire pour la procédure manuelle et la procédure automatique avec la lyse manuelle en dehors de l'instrument).
- Vérifier que le tampon de lavage 1 (AW1) le tampon de lavage 2 (AW2) et le QIAGEN Protease (QP) ont bien été préparés suivant les consignes de la section 9 « Préparation des réactifs et tampons ». « Remarques importantes avant de commencer ».
- Si un précipité s'est formé dans le tampon de lyse (AL), le dissoudre par incubation à 56 °C.
- Chez QIAGEN, les procédures de contrôle qualité intègrent des tests fonctionnels de validation des kits pour chaque lot de kit donné. Il convient donc de ne pas mélanger des réactifs provenant de lots de kits différents et de ne pas combiner des réactifs provenant de lots de réactifs différents.

Procédure

- Pour la procédure manuelle avec une microcentrifugeuse, suivez les étapes 1 à 17.
 - Cette procédure peut être automatisée dans 3 versions différentes :
 - Volume d'élution : 100 µl entièrement automatisé (début de l'automatisation à partir de l'étape 1)
 - Volume d'élution : 200 µl entièrement automatisé (début de l'automatisation à partir de l'étape 1)
 - Lyse manuelle : partiellement automatisée avec lyse en dehors de l'instrument et volumes d'élution de 100 à 200 µl par incrément de 10 µl (début de l'automatisation après l'étape 5)
1. Transférer à l'aide d'une pipette 20 µl de QIAGEN Protéase (QP) dans un tube de lyse (LT).
 - ① Vérifier la date de péremption de la protéase reconstituée avant utilisation.
 2. Ajouter 200 µl de sang dans le tube de lyse (LT).

3. Ajouter 200 µl de tampon de lyse (AL) au tube de lyse (LT), fermer le couvercle et mélanger ≥ 15 s par passage au vortex par impulsions.

❶ Afin de garantir l'efficacité de la lyse, il est essentiel que l'échantillon et le tampon de lyse (AL) soient bien mélangés pour former une solution homogène.

❶ Le tampon de lyse (AL) présentant une viscosité élevée, s'assurer d'ajouter le volume adéquat de tampon de lyse (AL) en pipetant avec le plus grand soin.

❶ Ne pas ajouter QIAGEN Protease (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).

4. Incuber à 56 °C pendant 10 min sur un bloc chauffant.
5. Centrifuger ≥ 5 s le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour récupérer les gouttelettes accumulées dans le couvercle.

Remarque : si la lyse manuelle (étapes 1–5) a été effectuée en dehors de l'instrument, les étapes suivantes (étapes 6–17) peuvent être automatisées sur le QIAcube Connect MDx à l'aide du protocole pour la lyse manuelle.

6. Ajouter 200 µl d'éthanol (96–100 %) au tube de lyse (LT), fermer le couvercle et bien mélanger par vortexage par impulsions pendant ≥ 15 s.
7. Centrifuger ≥ 5 s le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour récupérer les gouttelettes accumulées dans le couvercle.
8. Déposer avec précaution la totalité du lysat de l'étape 7 dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec l'embout de pipetage.

Remarque : en cas de traitement de plusieurs échantillons, n'ouvrir qu'un tube de lyse (LT) à la fois et veiller à ne pas générer d'aérosols.

9. Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini et centrifuger à environ 6 000 x g pendant 1 minute. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.

- a. Si le lysat n'est pas complètement passé à travers la membrane après centrifugation à $6\,000 \times g$ (8 000 tr/min), recentrifuger à vitesse maximale (jusqu'à $20\,800 \times g$) pendant 1 min.
 - b. Si le lysat n'est toujours pas passé à travers la membrane lors de la centrifugation, jeter la colonne de centrifugation QIAamp Mini et répéter la procédure avec un nouvel échantillon.
10. Ouvrir avec précaution la colonne de centrifugation QIAamp Mini et ajouter 500 µl de tampon de lavage 1 (AW1) sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec l'embout de pipetage.
 11. Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini et centrifuger à environ $6\,000 \times g$ pendant 1 minute. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.
 12. Ouvrir avec précaution la colonne de centrifugation QIAamp Mini et ajouter 500 µl de tampon de lavage 2 (AW2) sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec l'embout de pipetage.
 13. Fermer le couvercle de la colonne de centrifugation QIAamp Mini puis centrifuger à pleine vitesse (environ $20\,000 \times g$ ou 14 000 tr/min) pendant 1 minute. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.
 14. Centrifuger à pleine vitesse (environ $20\,000 \times g$ ou 14 000 tr/min) pendant 3 minutes afin de sécher entièrement la membrane.
- Remarque :** l'absence de centrifugation de séchage peut entraîner une inhibition de l'application en aval.
15. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube d'élution (ET) propre et jeter le tube de lavage (WT) contenant le filtrat. Ouvrir le couvercle de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et déposer 50 à 200 µl de tampon d'élution (AE) (en fonction de l'application en aval) au centre de la membrane.

① Utiliser un nouveau tube d'élution (ET) afin d'éviter une contamination avec les tampons de lavage résiduels qui peut entraîner une inhibition de l'application en aval.

① Pour les volumes d'élution plus faibles, déposer le tampon d'élution (AE) au centre de la membrane afin d'assurer une récupération optimale des acides nucléiques et du tampon d'élution (AE).

① Le volume d'élution doit être choisi selon les besoins de l'application en aval. Dans le flux de travail automatisé, des volumes d'élution de 100–200 µl par incréments de 10 µl sont possibles. Noter que le volume d'éluat obtenu peut être inférieur au volume de tampon d'élution appliqué à la colonne en raison du tampon d'élution restant retenu par la membrane de la colonne de centrifugation après la centrifugation.

① Veiller à ce que le tampon d'élution soit stabilisé à température ambiante.

16. Fermer le couvercle et incubé à température ambiante pendant 1 minute.

17. Placer le tube d'élution (ET) dans la centrifugeuse. Orienter les couvercles de façon à ce qu'ils pointent dans la direction opposée à la rotation du rotor (par exemple, si le rotor tourne dans le sens des aiguilles d'une montre, orienter les couvercles dans le sens inverse). Centrifuger à environ 6 000 x g (8 000 tr/min) pendant 1 min pour éluer l'ADN.

Remarque : pour toutes les procédures automatisées, veiller à retirer les éluats de l'instrument immédiatement après la fin du cycle d'exécution et à les conserver pour une utilisation ultérieure.

11. Protocole : extraction et purification de l'ADN génomique à partir d'échantillons d'aspirat de moelle osseuse à l'aide d'une microcentrifugeuse

Pour l'extraction et la purification de l'ADN génomique à partir d'échantillons d'aspirat de moelle osseuse de 200 µl collectés avec des tubes de prélèvement sanguin K2-EDTA à l'aide d'une microcentrifugeuse.

Remarque : se reporter également aux *Instructions d'utilisation (Manuel) de l'ipsogen IDH1 RGQ PCR Kit*.

Points importants avant de commencer

- La procédure ci-dessous indique les consignes pour le traitement d'un seul échantillon d'aspirat de moelle osseuse. Néanmoins, il est possible de traiter simultanément plusieurs échantillons, le nombre d'échantillons dépendant de la capacité de la microcentrifugeuse utilisée.

11.1. Étapes préliminaires

- Amener les échantillons à température ambiante et vérifier qu'ils sont bien mélangés.
- S'assurer que tous les réactifs et les colonnes de centrifugation QIAamp Mini (dans des emballages blisters scellés) sont équilibrés à température ambiante.
- Régler un bloc chauffant à 56 °C pour l'utiliser à l'étape 4.
- Vérifier que le tampon de lavage 1 (AW1) le tampon de lavage 2 (AW2) et le QIAGEN Protease (QP) ont bien été préparés suivant les consignes de la section 9 « Préparation des réactifs et tampons ». « Remarques importantes avant de commencer ».

- Si un précipité s'est formé dans le tampon de lyse (AL), le dissoudre par incubation à 56 °C.
- Chez QIAGEN, les procédures de contrôle qualité intègrent des tests fonctionnels de validation des kits pour chaque lot de kit donné. Il convient donc de ne pas mélanger des réactifs provenant de lots de kits différents et de ne pas combiner des réactifs provenant de lots de réactifs différents.

Procédure

1. Transférer à l'aide d'une pipette 20 µl de QIAGEN Protéase (QP) dans un tube de lyse (LT).

Vérifier la date de péremption de la protéase reconstituée avant utilisation.

2. Ajouter 200 µl d'échantillon dans le tube de lyse (LT).
3. Ajouter 200 µl de tampon de lyse (AL) au tube de lyse (LT), fermer le couvercle et mélanger ≥ 15 s par passage au vortex par impulsions.

❗ Afin de garantir l'efficacité de la lyse, il est essentiel que l'échantillon et le tampon de lyse (AL) soient bien mélangés pour former une solution homogène.

❗ Le tampon de lyse (AL) présentant une viscosité élevée, s'assurer d'ajouter le volume adéquat de tampon de lyse (AL) en pipetant avec le plus grand soin.

❗ Ne pas ajouter QIAGEN Protease (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).

4. Incuber à 56 °C pendant 10 min sur un bloc chauffant.
5. Centrifuger ≥ 5 s le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour récupérer les gouttelettes accumulées dans le couvercle.
6. Ajouter 200 µl d'éthanol (96–100 %) au tube de lyse (LT), fermer le couvercle et bien mélanger par vortexage par impulsions pendant ≥ 15 s.
7. Centrifuger ≥ 5 s le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour récupérer les gouttelettes accumulées dans le couvercle.

8. Déposer avec précaution la totalité du lysat de l'étape 7 dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec l'embout de pipetage.

Remarque : en cas de traitement de plusieurs échantillons, n'ouvrir qu'un tube de lyse (LT) à la fois et veiller à ne pas générer d'aérosols.

9. Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini et centrifuger à environ $6\,000 \times g$ pendant 1 min. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.
 - a. Si le lysat n'est pas complètement passé à travers la membrane après centrifugation à $6\,000 \times g$ (8 000 tr/min), recentrifuger à vitesse maximale (jusqu'à $20\,800 \times g$) pendant 1 min.
 - b. Si le lysat n'est toujours pas passé à travers la membrane lors de la centrifugation, jeter la colonne de centrifugation QIAamp Mini et répéter la procédure avec un nouvel échantillon.
10. Ouvrir avec précaution la colonne de centrifugation QIAamp Mini et ajouter 500 µl de tampon de lavage 1 (AW1) sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec l'embout de pipetage.
11. Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini et centrifuger à environ $6\,000 \times g$ pendant 1 minute. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.
12. Ouvrir avec précaution la colonne de centrifugation QIAamp Mini et ajouter 500 µl de tampon de lavage 2 (AW2) sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec l'embout de pipetage.
13. Fermer le couvercle de la colonne de centrifugation QIAamp Mini puis centrifuger à pleine vitesse (environ $20\,000 \times g$ ou 14 000 tr/min) pendant 1 minute. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.

14. Centrifuger à pleine vitesse (environ $20\,000 \times g$ ou $14\,000$ tr/min) pendant 3 min afin de sécher complètement la membrane.

Remarque : l'absence de centrifugation de séchage peut entraîner une inhibition de l'application en aval.

15. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube d'élution (ET) propre et jeter le tube de lavage (WT) contenant le filtrat. Ouvrir le couvercle de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et déposer $200\ \mu\text{l}$ de tampon d'élution (AE) au centre de la membrane.

① Utiliser un nouveau tube d'élution afin d'éviter une contamination avec des tampons de lavage résiduels pouvant entraîner une inhibition de l'application en aval.

① Pour les volumes d'élution plus faibles, déposer le tampon d'élution (AE) au centre de la membrane afin d'assurer une récupération optimale des acides nucléiques et du tampon d'élution (AE).

① Le volume d'élution doit être choisi selon les besoins de l'application en aval. Noter que le volume d'élut obtenu peut être inférieur au volume de tampon d'élution appliqué à la colonne en raison du tampon d'élution restant retenu par la membrane de la colonne de centrifugation après la centrifugation.

① Veiller à ce que le tampon d'élution soit stabilisé à température ambiante.

16. Fermer le couvercle et incubé à température ambiante pendant 1 minute.
17. Placer le tube d'élution (ET) dans la centrifugeuse. Orienter les couvercles de façon à ce qu'ils pointent dans la direction opposée à la rotation du rotor (par exemple, si le rotor tourne dans le sens des aiguilles d'une montre, orienter les couvercles dans le sens inverse). Centrifuger à environ $6\,000 \times g$ ($8\,000$ tr/min) pendant 1 minute afin d'éluer l'ADN.

12. Protocole : Extraction et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang à l'aide d'un système de vide

Pour l'extraction et la purification de l'ADN génomique des échantillons de 200 µl de sang total traité à l'EDTA ou au citrate à l'aide d'un système de vide tel que le système de vide QIAvac 24 Plus.

Remarque préliminaire importante

La procédure ci-dessous indique les consignes pour le traitement d'un seul échantillon de sang. Il est toutefois possible de traiter jusqu'à 24 échantillons simultanément sur le système de vide QIAvac 24 Plus.

12.1. Étapes préliminaires

- Amener les échantillons de sang à température ambiante, et vérifier qu'ils sont bien mélangés.
- S'assurer que tous les réactifs et les colonnes de centrifugation QIAamp Mini (dans des emballages blisters scellés) sont équilibrés à température ambiante.
- Régler un bloc chauffant à 56 °C pour l'utiliser à l'étape 4.
- Vérifier que le tampon de lavage 1 (AW1) le tampon de lavage 2 (AW2) et le QIAGEN Protease (QP) ont bien été préparés suivant les consignes de la section 9 « Préparation des réactifs et tampons ». « Remarques importantes avant de commencer ».
- Si un précipité s'est formé dans le tampon de lyse (AL), le dissoudre par incubation à 56 °C.
- Pour limiter la contamination croisée, insérer un VacConnector (VC) dans chaque adaptateur Luer du système de vide.

- Vérifier que le flacon à déchets du système de vide est vide et que tous les raccords sont bien connectés.
- Chez QIAGEN, les procédures de contrôle qualité intègrent des tests fonctionnels de validation des kits pour chaque lot de kit donné. Il convient donc de ne pas mélanger des réactifs provenant de lots de kits différents et de ne pas combiner des réactifs provenant de lots de réactifs différents.

Procédure

1. Déposer à l'aide d'une pipette 20 µl de QIAGEN Protease (QP) dans un tube de lyse (LT).
 ⓘ Vérifier la date de péremption de la protéase reconstituée avant utilisation.
2. Ajouter 200 µl de sang dans le tube de lyse (LT).
3. Ajouter 200 µl de tampon de lyse (AL) au tube de lyse (LT), fermer le couvercle et mélanger ≥ 15 s par passage au vortex par impulsions.
 ⓘ Afin de garantir l'efficacité de la lyse, il est essentiel que l'échantillon et le tampon de lyse (AL) soient bien mélangés pour former une solution homogène.
 ⓘ Le tampon de lyse (AL) présentant une viscosité élevée, s'assurer d'ajouter le volume adéquat de tampon de lyse (AL) en pipetant avec le plus grand soin.
 ⓘ Ne pas ajouter QIAGEN Protease (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).
4. Incuber à 56 °C pendant 10 min sur un bloc chauffant.
5. Centrifuger le tube de lyse (LT) pendant ≥ 5 s à vitesse maximale afin d'éliminer les gouttes présentes dans le couvercle.
6. Ajouter 200 µl d'éthanol (96 à 100 %) au tube de lyse (LT), fermer le couvercle et bien mélanger ≥ 15 s par passage au vortex par impulsions.
7. Centrifuger le tube de lyse (LT) pendant ≥ 5 s à vitesse maximale afin d'éliminer les gouttes présentes dans le couvercle.
8. Insérer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans le VacConnector (VC) du système de vide. S'assurer que la vanne de dépression principale (entre le système de vide et le

collecteur de vide) et la vanne du bouchon à vis (sur le collecteur de vide) sont fermées. Mettre la Vacuum Pump sous tension.

9. Jeter le tube de lavage (WT) (2 ml) dans lequel la colonne de centrifugation QIAamp Mini est placée dans le blister.

Remarque : le vide est appliqué uniquement au système de connexion (le cas échéant), et non au collecteur de vide.

10. Déposer avec précaution la totalité du lysat de l'étape 7 dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec l'embout de pipetage.

Remarque : en cas de traitement de plusieurs échantillons, n'ouvrir qu'un tube de lyse (LT) à la fois et veiller à ne pas générer d'aérosols.

11. Ouvrir la vanne de dépression principale. Une fois le lysat passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la vanne de dépression principale et ouvrir la vanne du bouchon à vis du collecteur de vide pour la remise à pression atmosphérique du collecteur. Fermer la vanne du bouchon à vis après l'évacuation du vide du collecteur.

Une fois la vanne de dépression principale fermée, le vide est appliqué uniquement au système de connexion (le cas échéant), et non au collecteur de vide.

i Utiliser la vanne du bouchon à vis du collecteur de vide pour évacuer rapidement le vide.

Remarque : pour traiter plusieurs colonnes de centrifugation QIAamp Mini à la fois, il est recommandé de fermer la VacValve de chaque colonne une fois le lysat passé, afin de réduire la durée de cette étape.

- a. Si le lysat n'est pas entièrement passé à travers la membrane au bout de 10 min, placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube de lavage (WT) propre, fermer le couvercle et centrifuger à $6\,000 \times g$ (8 000 tr/min) pendant 3 min ou jusqu'à ce que le lysat soit complètement passé à travers la membrane. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un autre tube de lavage (WT) propre et passer à l'étape 12

- b. Si le lysat n'est toujours pas passé à travers la membrane lors de la centrifugation, jeter la colonne de centrifugation QIAamp Mini et répéter la procédure avec un nouvel échantillon.
12. Déposer 750 µl de tampon de lavage 1 (AW1) dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec l'embout de pipettage. Laisser le couvercle de la colonne ouvert et ouvrir la vanne de dépression principale. Une fois le tampon de lavage 1 (AW1) passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la vanne de dépression principale et ouvrir la vanne du bouchon à vis afin de permettre la remise à pression atmosphérique du collecteur. Fermer la vanne du bouchon à vis après l'évacuation du vide du collecteur.
13. Déposer 750 µl de tampon de lavage 2 (AW2) dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec l'embout de pipettage. Laisser le couvercle de la colonne ouvert et ouvrir la vanne de dépression principale. Une fois le tampon de lavage 2 (AW2) passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la vanne de dépression principale et ouvrir la vanne du bouchon à vis afin de permettre la remise à pression atmosphérique du collecteur. Fermer la vanne du bouchon à vis après l'évacuation du vide du collecteur.
14. Fermer le couvercle de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, la retirer du système de vide et jeter le VacConnector (VC). Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube de lavage (WT) propre et centrifuger à vitesse maximale (environ 20 000 × *g*, ou 14 000 tr/min) pendant 3 min pour sécher complètement la membrane.
- Remarque :** l'absence de centrifugation de séchage peut entraîner une inhibition de l'application en aval.
15. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube d'élution (ET) propre et jeter le tube de lavage (WT) contenant le filtrat. Ouvrir le couvercle de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et déposer 50 à 200 µl de tampon d'élution (AE) au centre de la membrane.

① Utiliser un nouveau tube d'élution afin d'éviter une contamination avec des tampons de lavage résiduels pouvant entraîner une inhibition de l'application en aval.

① Pour les volumes d'élution plus faibles, déposer le tampon d'élution (AE) au centre de la membrane afin d'assurer une récupération optimale des acides nucléiques et du tampon d'élution (AE).

① Le volume d'élution doit être choisi selon les besoins de l'application en aval. Noter que le volume d'éluat obtenu peut être inférieur au volume de tampon d'élution appliqué à la colonne en raison du tampon d'élution restant retenu par la membrane de la colonne de centrifugation après la centrifugation.

① Veiller à ce que le tampon d'élution soit stabilisé à température ambiante.

16. Fermer le couvercle et incubé à température ambiante pendant 1 minute.

17. Placer le tube d'élution (ET) dans la centrifugeuse. Orienter les couvercles de façon à ce qu'ils pointent dans la direction opposée à la rotation du rotor (par exemple, si le rotor tourne dans le sens des aiguilles d'une montre, orienter les couvercles dans le sens inverse). Centrifuger à environ $6\,000 \times g$ (8 000 tr/min) pendant 1 minute afin d'éluer l'ADN.

Suivre la procédure de maintenance du système de vide après avoir effectué ce protocole (voir www.qiagen.com/HB-0496 pour plus d'informations).

13. Limitations

- Les performances du système ont été établies à l'aide de sang total pour l'extraction d'ADN génomique.
- Le protocole d'extraction manuelle a été validé pour l'extraction de l'ADN génomique à partir d'échantillons d'aspirat de moelle osseuse en conjonction avec l'*ipsogen* IDH1 RGQ PCR Kit et le protocole à l'aide d'une microcentrifugeuse.
- **Important** : l'ADN génomique isolé à partir d'échantillons d'aspirat de moelle osseuse à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ne doit pas être utilisé à d'autres fins qu'en association avec l'*ipsogen* IDH1 RGQ PCR Kit. Noter que l'*ipsogen* IDH1 RGQ PCR Kit peut ne pas être disponible dans votre pays. Il incombe à l'utilisateur de s'assurer de la conformité aux exigences réglementaires locales.
- Les informations sur l'utilisation du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit se trouvent à la section 3. « Description et principe ». La procédure automatisée est détaillée dans la section 10. « Protocole : extraction et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang à l'aide d'une microcentrifugeuse ou d'une purification automatisée sur le QIAcube Connect MDx ».
- L'utilisateur est responsable de la validation des performances du système pour toutes les procédures utilisées dans son laboratoire qui ne sont pas couvertes par les études de performances de QIAGEN.
- Afin de limiter les risques d'impact négatif sur les résultats diagnostiques, des contrôles appropriés doivent être utilisés pour les applications en aval. Pour une validation plus approfondie, il est conseillé de suivre la directive « International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) » dans *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology* (2).
- Tous les résultats diagnostiques générés doivent être interprétés à la lumière des autres observations cliniques ou résultats biologiques disponibles.

14. Caractéristiques de performances

Les caractéristiques de performances applicables sont disponibles sous l'onglet Resources, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

15. Références

1. Institut des normes cliniques et de laboratoire. (2020). *Prélèvement, transport, préparation et conservation des échantillons pour les méthodes moléculaires* (document CLSI MM13-A).
2. Conférence internationale sur l'harmonisation des exigences techniques pour l'enregistrement des produits pharmaceutiques à usage humain. (2005). *Directive tripartite harmonisée de l'ICH: Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1)*.

16. Guide de résolution de problèmes

Ce guide de résolution de problèmes peut vous aider à résoudre les problèmes qui pourraient se poser. Pour de plus amples informations, consulter également la page de la Foire Aux Questions dans notre Centre d'assistance technique à l'adresse suivante : www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Les scientifiques des services techniques QIAGEN seront ravis de répondre à toutes les questions sur les informations et/ou protocoles figurant dans ce manuel ou sur les technologies d'échantillons et de dosage (pour les coordonnées, visiter le site www.qiagen.com).

Commentaires et suggestions

Manipulation générale

- | | |
|--|---|
| a) Obstruction des embouts de pipettage pendant le transfert d'échantillon | Mélanger soigneusement les échantillons (par exemple, en retournant les tubes plusieurs fois) avant le transfert d'échantillon. Il faut décongeler 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 avant de commencer la procédure.

Essayer d'éviter la formation de caillots dans les échantillons et transvaser l'échantillon sans caillots. Les cryoprécipités formés au cours de la décongélation des échantillons congelés risquent d'obstruer la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini ou peut perturber la procédure automatisée sur le QIAcube Connect MDx. |
|--|---|

- b) Colonne de centrifugation
QIAamp Mini obstruée

Pour le flux de travail avec centrifugation :

Si le lysat n'est pas complètement passé à travers la membrane après centrifugation à $6\,000 \times g$ ($8\,000 \text{ tr/min}$), recentrifuger à vitesse maximale (jusqu'à $20\,800 \times g$) pendant 1 min.

Si le lysat ne passe toujours pas à travers la membrane pendant la centrifugation, mettre l'échantillon au rebut et répéter l'isolation et la purification avec un nouvel échantillon, en commençant par l'étape 1.

Pour le flux de travail avec aspiration sous vide :

Si le débit est réduit, le temps d'application du vide peut être allongé.

Une autre solution consiste à fermer la VacValve, si elle est utilisée, et à retirer soigneusement l'ensemble VacConnector-VacValve de la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans perdre de lysat.

Retirer la colonne de centrifugation QIAamp Mini du collecteur à vide, la placer dans un tube de lavage de

2 ml et la centrifuger à vitesse maximale jusqu'à ce que l'échantillon soit complètement passé à travers la membrane. Remettre en place l'ensemble VacConnector-VacValve contenant le lysat restant. Allumer la Vacuum Pump, ouvrir la VacValve et continuer de charger le lysat restant.

Répéter la procédure ci-dessus si la colonne de centrifugation QIAamp Mini continue de s'obstruer.

Si le lysat ne passe toujours pas à travers la membrane pendant la centrifugation, mettre l'échantillon au rebut et répéter l'isolation et la purification avec un nouvel échantillon, en commençant par l'étape 1.

Informations générales

Des cryoprécipités ont pu se former à cause des congélations et décongélations répétées. Ceux-ci risquent de bloquer la colonne de centrifugation QIAamp Mini et peuvent perturber la procédure automatisée sur le QIAcube Connect MDx. Il faut décongeler 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 avant de commencer la procédure.

Si des cryoprécipités sont visibles, éviter de les aspirer.

- c) Un précipité s'est formé
dans le tampon de lyse (AL)

Dissoudre par incubation du tampon de lyse (AL) à 56°C .

- d) Volumes d'élution variables Le volume d'éluat obtenu dépend de la nature du type d'échantillon.
- En raison du tampon d'élution (AE) restant retenu par la membrane de la colonne de centrifugation après la centrifugation, le volume d'éluat obtenu peut être inférieur au volume du tampon d'élution déposé sur la colonne.
- Déposer le tampon d'élution (AE) au centre de la membrane. La distribution du tampon d'élution (AE) au centre de la membrane est particulièrement importante pour les volumes d'élution les plus faibles afin de garantir une récupération optimale des acides nucléiques et du tampon d'élution (AE).
- e) Pression du vide d'environ 800 à 900 mbar non atteinte **Le collecteur à vide n'est pas bien fermé.** Appuyer sur le couvercle du collecteur à vide après l'activation du vide. Vérifier que la pression négative est atteinte.
- Le joint du couvercle QIAvac est utilisé.** Contrôler visuellement l'étanchéité du collecteur et remplacer le joint si nécessaire.
- Les VacValves sont usées.** Retirer toutes les VacValves et insérer des VacConnectors (VC) directement dans les extensions Luer. Insérer des colonnes de centrifugation QIAamp Mini dans les VacConnectors (VC), fermer le couvercle des colonnes et activer le vide. Vérifier que la pression négative est atteinte. Remplacer les VacValves si nécessaire.
- La connexion à la pompe à vide présente une fuite.** Fermer toutes les extensions Luer avec des bouchons Luer et allumer la Vacuum Pump. Vérifier que la pression négative est stable après le démarrage de la pompe (et la fermeture de la vanne du Vacuum Regulator). Remplacer les raccords entre la pompe et le collecteur à vide si nécessaire.
- Si la pression négative ne peut toujours pas être atteinte, remplacer la Vacuum Pump par un modèle plus puissant.
- f) Pour les problèmes dans le flux de travail automatisé Se reporter au manuel d'utilisation du QIAcube Connect MDx (disponible dans l'onglet Resource sur la page du produit à l'adresse www.qiagen.com).

Faible rendement d'ADN

a) Lyse d'échantillon incomplète

Si la QIAGEN Protease (QP) a été soumise à des températures élevées pendant une période prolongée, elle peut perdre son activité. Répéter la procédure avec de nouveaux échantillons et du QIAGEN Protease (QP) frais.

Prendre soin de dissoudre la QIAGEN Protease (QP) avec le solvant pour protéase (PS) en suivant les instructions ci-dessous. Afin d'éviter la formation de mousse, mélanger en retournant le flacon plusieurs fois. Vérifier que QIAGEN Protease (QP) est entièrement dissoute. Ne pas ajouter QIAGEN Protease (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).

Afin de garantir l'efficacité de la lyse, il est essentiel que l'échantillon et le tampon de lyse (AL) soient bien mélangés pour former une solution homogène. Le tampon de lyse (AL) présentant une viscosité élevée, s'assurer d'ajouter le volume adéquat de tampon de lyse (AL) en pipetant avec le plus grand soin à l'aide d'une pipette appropriée.

b) Faible pourcentage d'éthanol utilisé au lieu de 96 à 100 %

Répéter la procédure de purification avec de nouveaux échantillons et de l'éthanol à 96–100 %.

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

c) Tampons AW1 ou AW2 préparés de manière incorrecte

S'assurer que les concentrés de Buffer AW1 et Buffer AW2 ont été dilués dans le bon volume d'éthanol à 96–100 % et mélangés en retournant le flacon plusieurs fois avant de commencer la procédure.

d) Les échantillons n'ont pas été stockés correctement

Le rendement et la qualité de l'ADN purifié dépendent des conditions de stockage de l'échantillon. La congélation-décongélation des échantillons peut avoir un impact sur le rendement et la qualité de l'ADN. L'utilisateur est responsable de consulter le mode d'emploi de l'application en aval spécifique utilisée dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail afin de déterminer les conditions de stockage appropriées.

e) Les échantillons congelés ont été mal mélangés après décongélation

Il faut décongeler 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 avant de commencer la procédure.

L'ADN ne réagit pas bien dans les réactions en aval

a) Peu ou pas d'ADN dans l'éluat

Voir « Faible rendement d'ADN » ci-dessus pour des motifs possibles. Si possible, augmenter la quantité d'éluat ajoutée à la réaction enzymatique.

Commentaires et suggestions

- | | |
|---------------------------------------|---|
| b) Volume d'élution utilisé incorrect | Le volume d'élution doit être choisi selon les besoins de l'application en aval. L'élution avec des volumes de tampon AE plus faibles donne des concentrations en acides nucléiques plus élevées, mais peut entraîner une diminution du rendement total. |
| c) Volume d'ADN insuffisant | Quantifier l'ADN purifié par mesure spectrophotométrique de l'absorbance à 260 nm. |
| d) Trop d'ADN utilisé | Un excès d'ADN peut inhiber certaines réactions enzymatiques. Quantifier l'ADN purifié par mesure spectrophotométrique de l'absorbance à 260 nm. |
| e) Transfert possible d'inhibiteur | Veiller à effectuer l'étape de centrifugation de séchage avant l'élution afin d'éviter une inhibition potentielle de l'application en aval. Il est important d'utiliser un nouveau tube d'élution (ET) afin d'éviter une contamination avec les tampons de lavage résiduels qui peut entraîner une inhibition de l'application en aval. |

17. Symboles

Les symboles suivants peuvent figurer dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et les étiquettes :

Symbole	Définition du symbole
	Contient des réactifs suffisants pour <N> réactions
	Date limite d'utilisation
	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
	À réception
	Ouvrir à la livraison ; conserver les colonnes de centrifugation QIAamp Mini entre 2 et 8 °C
	Numéro de référence
	Lot number (Numéro de lot)
	Numéro de matériel (c.-à-d., étiquette de composant)
	Composants
	Contient
	Numéro
	Code article international

Symbole	Définition du symbole
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
	Volume
	Noter la date du jour sur le flacon après avoir ajouté l'éthanol
	Ajouter
	Lyophilisé
	Reconstituer dans
	Éthanol
	Chlorhydrate de guanidine
	Mène à
	Remarque importante
	Identifiant unique du dispositif
	Acide maléique
	Avertissement/Attention

Symbole	Définition du symbole
	Corrosif
	Dangereux
	Danger pour la santé

18. Coordonnées

Pour bénéficier d'une assistance technique et obtenir plus d'informations, consulter notre Centre d'assistance technique à l'adresse support.qiagen.com.

19. Informations sur les commandes

Produit	Contenu	Réf. cat.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Pour 50 préparations : colonnes de centrifugation QIAamp Mini, tampons, réactifs, tubes, VacConnectors	61104
Produits connexes		
QIAcube Connect MDx*	Instrument	9003070
QIAvac 24 Plus system [†]	Collecteur de vide pour le traitement de 1 à 24 colonnes de centrifugation : inclut le QIAvac 24 Plus vacuum manifold, bouchons Luer, raccords rapides	19413
Vacuum Pump (230 V, 50 Hz) [†]	Vacuum Pump universelle	84020 ou 9003250
VacConnectors (500) [†]	500 raccords jetables pour utilisation avec les colonnes de centrifugation QIAamp sur les raccords Luer	19407
VacValves (24) [†]	24 vannes à utiliser avec le QIAvac 24 et le QIAvac 24 Plus	19408
QIAvac Connecting System [†]	Système pour raccorder le collecteur à vide à la pompe à vide : inclut plateau, flacons à déchets, tuyaux, raccords, vanne, jauge et 24 VacValves	19419
Rotor Adapters (10 x 24)	Pour 240 préparations : 240 adaptateurs pour rotor jetables et 240 tubes d'élution (1,5 ml), à utiliser avec le QIAcube Connect MDx	990394
Rotor Adapter Holder	Support pour 12 adaptateurs pour rotor jetables, à utiliser avec le QIAcube Connect MDx	990392
Sample Tubes CB (2 ml)	1 000 tubes à bouchon à vis coniques sans collerette (2 ml), à utiliser avec le QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Pour le chargement du portoir de l'agitateur QIAcube Connect MDx	9017854
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Flacons de réactif (30 ml) avec couvercles ; paquet de 6 pour utilisation avec le QIAcube Connect MDx	990393
Filter-Tips, 1 000 µl (1 024)	Emboutis à filtre jetables, sur portoirs (8 x 128). À utiliser avec le QIAcube Connect MDx	990352

Produit	Contenu	Réf. cat.
Filter-Tips, 1 000 µl, wide-bore (1 024)	Embouts à filtre jetables, grand diamètre, sur portoir ; (8 × 128) ; non requis pour tous les protocoles. À utiliser avec le QIAcube Connect MDx	990452
Filter-Tips, 200 µl (1 024)	Embouts à filtre jetables, sur portoirs (8 × 128). Pour utilisation avec le QIAcube Connect MDx et les instruments QIAsymphony SP/AS	990332

* Le QIAcube Connect MDx n'est pas disponible dans tous les pays. Pour plus d'informations, contacter les services techniques QIAGEN.

† Pour utilisation avec les protocoles sous vide.

Pour obtenir des informations actualisées sur les licences et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consulter le mode d'emploi des kits QIAGEN respectifs. Les modes d'emploi des kits QIAGEN sont disponibles sur le site www.qiagen.com ou peuvent être demandés aux services techniques QIAGEN ou à votre distributeur local.

20. Historique des révisions du document

Révision	Description
R1, juin 2022	Version 3, Révision 1 • Mise à jour de la version 3 du Kit pour respecter l'IVDR • Mise à jour de la section « Description et principe » • Mise à jour des sections « Matériel fourni » (ajout des ingrédients actifs) et « Matériel nécessaire, mais non fourni » • Mise à jour de la section « Avertissements et précautions » (Ajout d'informations d'urgence et de la section « Mise au rebut ») • Mise à jour de la section « Stockage et manipulation des réactifs » • Mise à jour de la section « Prélèvement, stockage et manipulation des échantillons » • Mise à jour des sections « Remarques importantes » et « Procédure » • Mise à jour de la section « Limitations » • Mise à jour de la section « Caractéristiques de performances » • Mise à jour de la section « Symboles » • Mise à jour de la section « Informations sur les commandes »

Révision	Description
R2, mai 2026	Version 3, révision 2 • Description et principe : ajout d'informations sur les aspirats de moelle osseuse et modifications éditoriales • Mise à jour des sections « Matériel fourni » et « Matériel nécessaire, mais non fourni » • Mise à jour de la section « Avertissements et précautions » • Mise à jour de la section « Stockage et manipulation des réactifs » • Prélèvement, conservation et manipulation des échantillons : mise à jour des informations sur les échantillons de sang, ajout d'informations sur les aspirats de moelle osseuse et modifications éditoriales • Section Procédure : protocole supplémentaire pour les aspirats de moelle osseuse et modifications éditoriales • Limites : ajout d'informations sur les aspirats de moelle osseuse • Mise à jour du Guide de résolution de problèmes • Mise à jour de la section « Symboles » • Mise à jour de la section « Informations sur les commandes »

Contrat de licence limitée pour le QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit doit être utilisé uniquement avec les composants du panel, conformément aux protocoles fournis avec le produit et à ce mode d'emploi. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce panel avec tout autre composant non fourni dans ce panel, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, dans ce mode d'emploi et dans d'autres protocoles disponibles sur le site www.qiagen.com. Certains de ces protocoles supplémentaires ont été fournis par les utilisateurs de QIAGEN pour les utilisateurs de QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été testés de manière approfondie ni optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne les garantit pas et ne garantit pas qu'ils ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce panel et/ou sa ou ses utilisations ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce panel 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 les autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du panel consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de ce Contrat de licence limité par tout tribunal et pourra recouvrir tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de Contrat de licence limité ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au panel et/ou à ses composants.

Pour consulter les mises à jour de la licence, consulter www.qiagen.com.

Marques commerciales : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube® (QIAGEN Group) ; Sarstedt® (Sarstedt AG and Co. KG). Les noms déposés, les marques de commerce, 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.

05/2026 HB-3030-002 R2 © 2026 QIAGEN, tous droits réservés.

Pour connaître les dernières informations sur les licences et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel de la trousse ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des trousse et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des services techniques de QIAGEN ou du distributeur local.

Marques commerciales : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.); Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH);. Les noms déposés, les marques de commerce, 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.

05/2026 HB-3030-D01-002 © 2026 QIAGEN, tous droits réservés.