

Mars 2017

# Manuel AdnaTest ProstateCancerSelect et ProstateCancerDetect



12 (réf. n° 395432)

12 (réf. n° 396432)

Pour l'enrichissement des cellules tumorales du sang total de patients atteints de cancer de la prostate et la détection de l'expression de gènes associés au cancer de la prostate dans les cellules tumorales enrichies

Pour utilisation en diagnostic in vitro

Version 1

**IVD**

**CE**

**REF**

395432 (AdnaTest ProstateCancerSelect)  
396432 (AdnaTest ProstateCancerDetect)



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

R1 **MAT**

1106692FR

Sample to Insight



# Contenu

Utilisation prévue .....	4
Résumé et explication .....	4
Principe de la procédure .....	5
AdnaTest ProstateCancerSelect .....	5
AdnaTest ProstateCancerDetect .....	6
Matériel fourni .....	7
Contenu du kit .....	7
Matériel nécessaire, mais non fourni .....	9
AdnaTest ProstateCancerSelect .....	9
AdnaTest ProstateCancerDetect .....	10
Avertissements et précautions .....	11
Informations de sécurité .....	11
Application .....	11
Brevets .....	11
Stockage et manipulation des réactifs .....	12
Stockage .....	12
Manipulation .....	12
Stockage et manipulation des échantillons .....	13
Préparation des échantillons .....	13
Protocole : enrichissement de cellules tumorales avec AdnaTest ProstateCancerSelect .....	14
Protocole : détection de l'expression du gène associé au cancer de la prostate dans les cellules tumorales enrichies avec AdnaTest ProstateCancerDetect .....	18

---

Protocole : PCR multiplexe et monoplexe .....	23
Interprétation des résultats.....	26
Analyse de fragment sur l'Agilent 2100 Bioanalyzer .....	26
Guide de dépannage .....	30
Contrôle qualité.....	30
Limites .....	30
Caractéristiques de performance .....	31
Récupération.....	31
Spécificité.....	31
Reproductibilité .....	32
Précision .....	32
Substances interférentes .....	33
Problèmes de santé interférents .....	34
Études cliniques.....	35
Référence .....	36
Abréviations.....	36
Symboles.....	37
Pour commander .....	38

---

## Utilisation prévue

AdnaTest ProstateCancerSelect est une méthode de diagnostic in vitro conçue pour l'enrichissement immunochimique des cellules tumorales circulantes à partir d'échantillons de sang entier anticoagulé, prélevés sur des patients atteints du cancer de la prostate, à travers une combinaison d'antigènes épithéliaux et associés à la tumeur.

AdnaTest ProstateCancerDetect est un dosage de diagnostic in vitro conçu pour l'analyse des profils d'expression des cellules tumorales par transcription inverse et PCR multiplexe, ainsi qu'une analyse de densitométrie ultérieure des produits amplifiés par PCR à l'aide d'une électrophorèse capillaire automatique avec l'Agilent® 2100 Bioanalyzer.

AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect n'est pas conçu pour le dépistage et ne doit pas être utilisé comme un test de diagnostic servant à confirmer la présence d'un cancer de la prostate.

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

## Résumé et explication

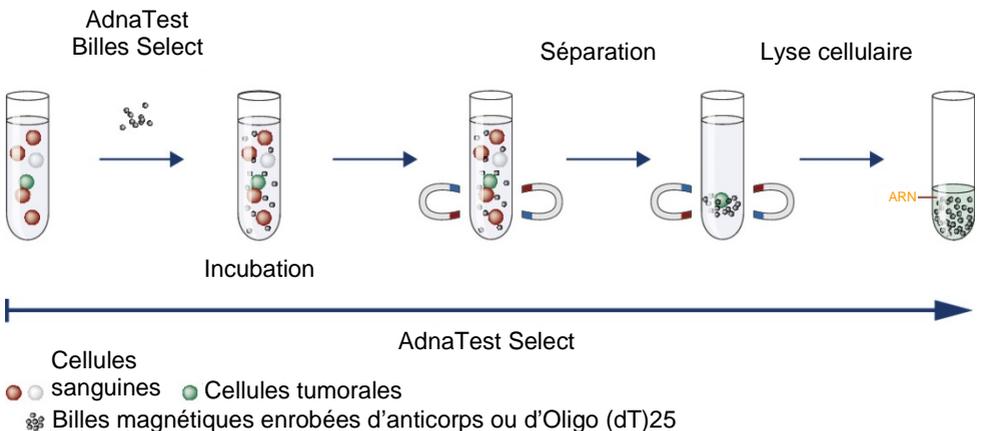
AdnaTest ProstateCancerSelect permet l'enrichissement immunomagnétique de cellules tumorales par le biais d'antigènes épithéliaux et associés à la tumeur. AdnaTest ProstateCancerDetect est utilisé pour l'analyse de l'expression du gène associé au cancer de la prostate dans les cellules tumorales enrichies de manière immunomagnétique par transcription inverse et PCR.

# Principe de la procédure

## AdnaTest ProstateCancerSelect

Les anticorps anti-antigènes épithéliaux et associés à la tumeur sont conjugués à des billes magnétiques pour marquer les cellules tumorales dans le sang total. Les cellules marquées sont extraites par un concentrateur de particules magnétiques (AdnaMag-L et AdnaMag-S) avant d'être lysées (Figure 1).

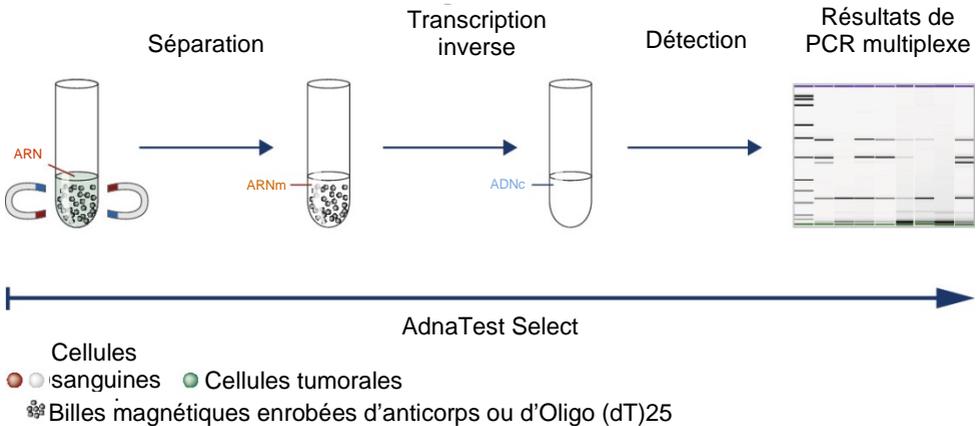
Le lysat cellulaire est utilisé pour une analyse plus approfondie avec AdnaTest ProstateCancerDetect.



**Figure 1. AdnaTest ProstateCancerSelect : sélection cellulaire immunomagnétique avec plusieurs anticorps associés à la tumeur.** Dans la première étape, les cellules tumorales circulantes dans le sang sont enrichies (AdnaTest Select). Ceci est effectué à l'aide de particules magnétiques enrobées d'anticorps (billes). Plusieurs anticorps sont utilisés, qui se lient avec une spécificité et une affinité élevées aux cellules cancéreuses correspondantes. Les cellules enrichies sont lysées puis purifiées plusieurs fois afin d'extraire l'ARNm.

## AdnaTest ProstateCancerDetect

AdnaTest ProstateCancerDetect contient des billes Oligo (dT)<sub>25</sub> permettant d'isoler l'ARNm du lysat de cellules tumorales pré-enrichies. La transcription inverse produit l'ADNc, qui sert ensuite de matrice pour la détection de cellules tumorales et leur caractérisation par PCR multiplexe. AdnaTest PrimerMix ProstateDetect permet d'amplifier trois antigènes associés à la tumeur et un gène contrôle. AdnaTest PrimerMix AR-Detect permet d'amplifier le récepteur des androgènes (RA).



**Figure 2. AdnaTest ProstateCancerDetect : PCR multiplexe de divers marqueurs tumoraux associés au cancer.**

Dans une deuxième étape, les cellules enrichies sont examinées par PCR RT pour détecter les schémas d'expression associés à la tumeur. Les brins d'ARNm font l'objet d'une transcription inverse en ADNc. Ensuite, plusieurs marqueurs tumoraux associés peuvent être amplifiés avec la PCR multiplexe et visualisés.

Les deux AdnaTest PrimerMix génèrent les fragments suivants :

### PrimerMix ProstateDetect

- PSMA : 449 pb
- PSA : 357 pb
- EGFR : 163 pb
- Actine : 120 pb (contrôle interne de la PCR)

### PrimerMix AR-Detect

- RA : 440 pb

**Remarque :** la taille des fragments peut varier légèrement. Assurez-vous d'utiliser les contrôles positifs AdnaTest pour l'affectation des signaux détectés.

## Matériel fourni

### Contenu du kit

<b>AdnaTest ProstateCancerSelect</b>			
<b>Nombre de tests</b>		<b>12</b>	
<b>Numéro de référence</b>		<b>395432</b>	
Tubes de prélèvement	Collection Tubes (Tubes de prélèvement) (15 ml)	<input type="checkbox"/> COL <input type="checkbox"/> TUBE	3 x 5
Tubes de prélèvement	Collection Tubes (Tubes de prélèvement) (1,5 ml)	<input type="checkbox"/> COL <input type="checkbox"/> TUBE	24
Rouge	ProstateSelect Beads (Billes ProstateSelect)	PSB	1,2 ml
Rouge	AdnaTest Lysis/Binding Buffer (Tampon de lyse/liaison)	LBB	2 x 1,2 ml
	Manuel		1

<b>AdnaTest ProstateCancerDetect</b>			
<b>Numéro de référence.</b>		<b>396432</b>	
<b>Nombre de tests</b>		<b>12</b>	
<b>Réactifs ARN AdnaTest</b>			<b>Boîte 1</b>
Rouge	AdnaTest Lysis/Binding Buffer (Tampon de lyse/liaison)	LBB	2 ml
Orange	Oligo(dT)25 Beads (Billes d'Oligo(dT)25)	OdT	280 µl
Blanc	RNA Purification Buffer A (Tampon de purification d'ARN A)	BA	4 ml
Blanc	RNA Purification Buffer B (Tampon de purification d'ARN B)	BB	4 ml
Violet	Tris-HCL Buffer (Tampon Tris-HCL)	TB	2 ml
<b>AdnaTest ProstateCancerDetect</b>			<b>Boîte 2</b>
Bleu	AdnaTest PrimerMix ProstateDetect	PMP	144 µl
Orange	AdnaTest Positive Control Prostate (C+) (Contrôle positif prostate AdnaTest (C+))	<b>CONTROL +</b>	40 µl
Jaune	AdnaTest PrimerMix AR-Detect (Détection RA AdnaTest PrimerMix)	PMA	144 µl
Rose	AdnaTest Positive Control AR (C+) (Contrôle positif RA AdnaTest (C+))	<b>CONTROL +</b>	40 µl
	Manuel		1

Les réactifs AdnaTest ProstateCancerDetect suffisent pour analyser 6 contrôles PCR et 12 échantillons de sang.

# Matériel nécessaire, mais non fourni

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

## AdnaTest ProstateCancerSelect

### Équipement

- Appareil à tourner les tubes de 15 ml et 1,5 ml (par ex. ELMI Ltd., référence IMIX-03)
- Concentrateurs de particules magnétiques
  - AdnaMag-L (référence 399921)
  - AdnaMag-S (référence 399911)

### Matériel

- Tubes AdnaTube (Tubes AdnaTube) (référence 399932), en cas d'utilisation des tubes BD Vacutainer® ACD-A
- Pipettes de 10 ml en verre ou en plastique stériles, exemptes de RNase et pipetteur
- Sterile, RNase-free 1.5 ml reaction tubes (Tubes de réaction de 1,5 ml stériles, exempts de RNase) (par exemple, Sarstedt, référence 72.690)
- Pipettes et pointes de pipettes exemptes de RNase avec filtres anti-aérosols, adaptées pour des volumes de pipetage compris entre 100 µl et 1 000 µl

### Réactifs

- Phosphate buffered saline (PBS) (Solution saline tamponnée au phosphate (PBS)), pH de 7,0 à 7,3 (par exemple Fisher, référence VX14190169, D-PBS)

# AdnaTest ProstateCancerDetect

## Équipement

- Tube rotator for 1.5 ml tubes (Appareil à tourner les tubes de 1,5 ml) (par ex. ELMi Ltd., référence IMIX-03)
- Magnetic particle concentrator AdnaMag-S (Concentrateur de particules magnétiques AdnaMag-S) (référence 399911)
- Bloc chauffant ou bain-marie (65°C)
- Thermocycleur avec couvercle chauffé et vitesse de chauffage de 2 °C/s
- Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies)

## Matériel

- Tubes PCR de 0,2 ml stériles, paroi fine, exempts de RNase
- Sterile, RNase-free 1.5 ml reaction tubes (Tubes de réaction de 1,5 ml stériles, exempts de RNase) (par exemple, Sarstedt, référence 72.690)
- Pipettes et pointes de pipettes exemptes de RNase avec filtres anti-aérosols, adaptées pour des volumes de pipetage compris entre 1 µl et 200 µl

## Réactifs

- Sensiscript® RT Kit (Kit Sensiscript® RT) (QIAGEN, référence 205211, 50 réactions)
  - **Remarque** : le Sensiscript RT Kit (kit Sensiscript RT) (référence 205211) ne permettra d'analyser que 25 échantillons, car un volume double est nécessaire pour chaque réaction.
- Recombinant RNasin, RNase-inhibitor, 2500 U (Promega, référence N2511)
- HotStarTaq® Master Mix Kit (Kit HotStarTaq® Master Mix) (QIAGEN, référence 203443, 250 U)
- Glace pilée

---

# Avertissements et précautions

Pour utilisation en diagnostic in vitro

## Informations de sécurité

En cas de manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Celles-ci sont disponibles en ligne dans un format PDF pratique et compact sur le site [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) répertoriant les FDS imprimables pour chaque kit QIAGEN et chaque composant.

Jeter les échantillons et les tests usagés conformément aux réglementations de sécurité locales.

## Application

Ces tests doivent être réalisés par un personnel qualifié, formé aux techniques de biologie moléculaire.

## Brevets

Des licences de Hoffmann-La Roche AG, Bâle, sont requises pour AdnaTest ProstateCancerDetect. L'achat d'AdnaTest ProstateCancerDetect n'autorise pas l'utilisateur à réaliser la PCR sans licence.

# Stockage et manipulation des réactifs

## Stockage

Le système AdnaTest ProstateCancer est fourni dans trois boîtes. AdnaTest ProstateCancerSelect (référence 395432) et réactif ARN AdnaTest boîte 1 (boîte 1 de référence 396432) doit être conservé à 2–8 °C. Les composants ne doivent pas être utilisés au-delà de la date d'expiration.

AdnaTest ProstateCancerDetect boîte 2 (boîte 2 de référence 396432), contenant les AdnaTest PrimerMix et les contrôles positifs AdnaTest, doivent être conservés séparément entre –30 et –15 °C. Afin d'éviter une contamination éventuelle et des changements de température répétés, aliquoter le mélange d'amorce. N'utiliser aucun composant après sa date de péremption.

## Manipulation

- Les Billes ProstateSelect contiennent de l'azide de sodium comme conservateur. L'azide de sodium est cytotoxique et doit, par conséquent, être éliminé avant l'utilisation des billes. (Reportez-vous à « Protocole : enrichissement de cellules tumorales avec AdnaTest ProstateCancerSelect », page 14.)
- Tous les composants et les réactifs supplémentaires d'autres fournisseurs doivent être conservés conformément aux instructions fournies par ces derniers. Respecter les informations de sécurité des fabricants respectifs.
- Porter des gants de protection pour éviter toute contamination avec de l'ADN, de l'ARN et des RNases.
- Aliquoter les Billes ProstateSelect afin d'éviter toute contamination.
- Le test doit être réalisé dans l'ordre énoncé dans le respect de toutes les spécifications relatives aux temps et températures d'incubation indiquées.

- Jeter les échantillons en cas d'agglutination des billes de sélection lors de l'enrichissement cellulaire.
- Pour éviter toute contamination croisée, réaliser si possible le traitement des échantillons, notamment la transcription inverse et l'analyse ultérieure des produits amplifiés par PCR, dans des pièces différentes.
- L'utilisation de produits de fournisseurs non suggérés est susceptible d'affecter les résultats.
- Respecter les règles de sécurité et d'hygiène du laboratoire (par ex. porter des blouses de laboratoire, des lunettes de protection et des gants).

## Stockage et manipulation des échantillons

### Préparation des échantillons

- Les échantillons de sang doivent être prélevés avant l'application de substances thérapeutiques. Attendre au moins 7 jours après la dernière intervention thérapeutique avant d'utiliser AdnaTest ProstateCancerSelect !
- Prélèvement sanguin : si le transport d'échantillons dure moins de 4 heures, utiliser des tubes contenant l'anticoagulant EDTA (par ex. S Monovette® K3 EDTA, Sarstedt [référence 01.1605.001]) pour prélever au moins 7,5 ml de sang entier.
- Si le transport d'échantillons dure plus de 4 heures, utiliser des tubes BD Vacutainer ACD-A (Becton Dickinson GmbH, référence 366645 [UE] ; 364606 [É-U]) pour prélever au moins 8,5 ml de sang entier. Avant de poursuivre le traitement avec l'AdnaTest, 5 ml de sang ACD-A doivent être transférés dans un tube d'échantillon AdnaTube, référence 399932.
- Le sang doit être conservé immédiatement à une température comprise entre 4 et -8 °C.
- Les échantillons devraient être traités le plus tôt possible, mais pas plus de 4 heures après le prélèvement sanguin en cas d'utilisation de tubes EDTA standard ou dans les 30 heures suivant le prélèvement en cas d'utilisation de tubes de prélèvement sanguin BD Vacutainer en combinaison avec des AdnaTubes.
- L'échantillon de sang ne doit pas être hémolysé.

# Protocole : enrichissement de cellules tumorales avec AdnaTest ProstateCancerSelect

## Points importants avant de commencer

- Avant de commencer la procédure, lisez « Avertissements et précautions » (page 11), « Stockage et manipulation des réactifs » (page 12) et « Stockage et manipulation des échantillons » (page 13).
- Il est nécessaire d'éliminer l'azide de sodium en lavant les Billes ProstateSelect avant de les utiliser, comme décrit ci-dessous dans « Procédure A : préparation des Billes ProstateSelect ».
- Veuillez utiliser les tubes de prélèvement 1,5 ml fournis uniquement pour l'étape du protocole indiquée.

## À effectuer avant de commencer

- Vérifier que le tampon de lyse/liaison AdnaTest a été amené à température ambiante. Si un précipité est observé, laisser le réactif se stabiliser à température ambiante et mélanger jusqu'à ce que le précipité soit complètement dissous.

## Procédure A : préparation des Billes ProstateSelect

1. Remettre les Billes ProstateSelect en suspension soigneusement en pipetant ; ne pas agiter au vortex !
2. Calculer le volume de Billes ProstateSelect nécessaire pour tous les échantillons à traiter (100 µl par échantillon) et transférer le volume obtenu dans un tube de réaction de 1,5 ml (non fourni).  
En cas de traitement de plus de 10 échantillons, utiliser d'autres tubes de réaction de 1,5 ml (non fourni).
3. Placer le tube dans l'AdnaMag-S.

4. Après 1 minute, retirer le surnageant à l'aide d'une pipette.

**Remarque** : ne pas toucher les billes lors du retrait du surnageant !

5. Étapes de lavage :

5a. Retirer la glissière magnétique de l'AdnaMag-S.

5b. Ajouter 1 ml de PBS et remettre les billes en suspension en répétant le pipetage.

5c. Placer la glissière magnétique dans l'AdnaMag-S.

5d. Après 1 minute, retirer complètement le surnageant à l'aide d'une pipette.

5e. Répéter les étapes 5a à 5d deux fois (trois lavages au total).

6. Retirer le tube de l'AdnaMag-S et remettre les billes en suspension dans la PBS pour obtenir le volume initial (100 µl par échantillon). Poursuivre avec « Procédure B : sélection des cellules tumorales » ci-dessous.

#### Procédure B : sélection des cellules tumorales

1. En cas d'utilisation de tubes EDTA standard, pipeter 5 ml d'un échantillon de sang dans un tube de prélèvement de 15 ml.

En cas d'utilisation de sang ACD-A dans un type ACD-A BD Vacutainer, transférer 5 ml de sang dans un AdnaTube.

**Remarque** : les AdnaTubes sont obligatoires en cas d'utilisation de tubes ACD-A BD Vacutainer.

2. Remettre les Billes ProstateSelect (préparées à l'étape 6 de la procédure A) en suspension soigneusement en pipetant et ajouter 100 µl de ces billes dans chaque échantillon de sang.

3. Faire tourner les tubes lentement (environ 5 tr/min) pendant 30 minutes à température ambiante sur un appareil à la fois inclinable et rotatif.

4. Placer les tubes dans l'AdnaMag-L sans glissière magnétique. Retourner l'AdnaMag-L pour libérer les gouttes de sang capturées dans le bouchon.

5. Insérer la glissière magnétique et incuber les tubes dans l'AdnaMag-L pendant 3 minutes à température ambiante.

6. Retirer complètement le surnageant du sang à l'aide d'une pipette de 10 ml sans toucher les billes.

**Remarque** : ne pas toucher les billes lors du retrait du surnageant !

7. Étapes de lavage :

7a. retirer la glissière magnétique de l'AdnaMag-L.

7b. Ajouter 5 ml de PBS. Fermer les tubes et agiter doucement l'AdnaMag-L d'avant en arrière 5 fois pour remettre les complexes cellules/billes magnétiques en suspension.

7c. Retourner l'AdnaMag-L deux fois pour libérer les gouttes capturées dans le bouchon.

7d. Placer la glissière magnétique dans l'AdnaMag-L et incubé pendant 1 minute à température ambiante.

7e. Retirer complètement le surnageant à l'aide d'une pipette.

7f. Répéter les étapes 7a à 7e deux fois (trois lavages au total).

8. retirer la glissière magnétique de l'AdnaMag-L.

9. Remettre les complexes cellules/billes magnétiques en suspension dans 1 ml de PBS et transférer chaque échantillon dans un tube de réaction de 1,5 ml (non fourni).

10. Placer les tubes de réaction dans l'AdnaMag-S avec une glissière magnétique.

**Remarque** : la glissière magnétique de l'AdnaMag-S peut être insérée dans deux positions. Toujours insérer la glissière en positionnant le film plastique blanc vers l'avant de sorte que les aimants soient à côté des tubes de réaction.

11. Après 1 minute, retirer complètement le surnageant à l'aide d'une pipette afin d'optimiser la lyse cellulaire suivante.

12. Retirer la glissière magnétique de l'AdnaMag-S.

13. Ajouter 200 µl de tampon de lyse/liaison AdnaTest (stabilisé à température ambiante) dans chaque tube de réaction. Remettre en suspension en pipetant au moins cinq fois.

14. Placer la glissière magnétique dans l'AdnaMag-S et incubé pendant 1 minute.

15. Transférer le surnageant (lysate cellulaire) dans de nouveaux tubes de réaction de 1,5 ml (fourni).

---

16. Jeter les tubes contenant les billes.

17. Poursuivre avec l'isolation de l'ARNm (voir « Protocole : détection de l'expression du gène associé au cancer de la prostate dans les cellules tumorales enrichies avec AdnaTest ProstateCancerDetect », page 18) immédiatement, ou conserver les lysats cellulaires à  $-20^{\circ}\text{C}$  pendant 2 semaines au maximum.

---

# Protocole : détection de l'expression du gène associé au cancer de la prostate dans les cellules tumorales enrichies avec AdnaTest ProstateCancerDetect

## Points importants avant de commencer

- Avant de commencer la procédure, lire « Avertissements et précautions » (page 11) et « Stockage et manipulation des réactifs » (page 12).
- Les procédures A à C décrivent l'isolation de l'ARNm et la transcription inverse.
- Veuillez utiliser les tubes de prélèvement 1,5 ml fournis uniquement pour l'étape du protocole indiquée.

## À effectuer avant de commencer

- Vérifier que le tampon de lyse/liaison AdnaTest a été amené à température ambiante. Si un précipité est observé, laisser le réactif se stabiliser à température ambiante et mélanger jusqu'à ce que le précipité soit complètement dissous.
- Porter le tampon de purification d'ARN A et le tampon de purification d'ARN B à température ambiante. Poser le tampon Tris-HCL sur de la glace.
- Décongeler 10x tampon RT et dNTP, du kit Sensiscript RT, à température ambiante. Mélanger par vortexage. Centrifuger brièvement et conserver sur de la glace. Décongeler de l'eau sans RNase (incluse dans le kit Sensiscript RT).
- Régler un bloc chauffant ou un bain-marie sur 65 °C.

## Procédure A : Préparation d'Oligo(dT)<sub>25</sub> Beads (Billes d'Oligo(dT)<sub>25</sub>)

1. Remettre les billes d'Oligo(dT)<sub>25</sub> en suspension soigneusement en les pipetant avant de les utiliser ; ne pas agiter au vortex !
2. Calculer le volume de billes nécessaire pour tous les échantillons à traiter (20 µl par échantillon plus 10 %) et transférer le volume obtenu dans un tube de réaction de 1,5 ml exempt de RNase (non fourni).
3. Placer le tube dans l'AdnaMag-S.

**Remarque** : la glissière magnétique de l'AdnaMag-S peut être insérée dans deux positions. Toujours insérer la glissière en positionnant le film plastique blanc vers l'avant de sorte que les aimants soient à côté des tubes de réaction.

4. Après 1 minute, retirer le surnageant à l'aide d'une pipette.
5. Étapes de lavage :
  - 5a. Retirer la glissière magnétique de l'AdnaMag-S.
  - 5b. Ajouter le volume initial (étape 2, page 19) de tampon de lyse/liaison AdnaTest et remettre les billes en suspension par un pipetage répété. Remettre en suspension doucement pour éviter la formation de mousse.
  - 5c. Insérer la glissière magnétique dans l'AdnaMag-S.
  - 5d. Après 1 minute, retirer complètement le surnageant.
  - 5e. Répéter les étapes 5a à 5d une fois (deux lavages au total).
6. Retirer le tube de l'AdnaMag-S et remettre les billes en suspension dans le tampon de lyse/liaison AdnaTest pour obtenir le volume initial (étape 2, page 19). Poursuivre avec « Procédure B : isolation de l'ARNm ».

## Procédure B : isolation de l'ARNm

1. Ajouter 20 µl de billes d'Oligo(dT)<sub>25</sub> (étape 6, ci-dessous) dans chaque tube contenant du lysat cellulaire (étape 15, page 16).
2. Faire tourner les tubes lentement (environ 5 tr/min) pendant 10 minutes à température ambiante sur un appareil à la fois inclinable et rotatif.
3. Placer les tubes dans l'AdnaMag-S sans glissière magnétique. Retourner l'AdnaMag-S pour libérer les billes et le liquide capturés dans le bouchon.
4. Insérer la glissière magnétique et retirer le surnageant après 1 minute.
5. Étage de lavage 1 :
  - 5a. Retirer la glissière magnétique de l'AdnaMag-S.
  - 5b. Ajouter 100 µl de tampon de purification d'ARN A dans chaque tube et remettre les billes en suspension avec un pipetage répété. Pour éviter toute perte de billes, rincer soigneusement le couvercle et la paroi des tubes.
  - 5c. Insérer la glissière magnétique dans l'AdnaMag-S.
  - 5d. Après 1 minute, retirer complètement le surnageant.
  - 5e. Répéter les étapes 5a à 5d une fois (deux lavages au total).
6. Étage de lavage 2 :
  - 6a. Retirer la glissière magnétique de l'AdnaMag-S.
  - 6b. Ajouter 100 µl de tampon de purification d'ARN B dans chaque tube. Remettre les billes en suspension en pipetant et transférer dans de nouveaux tubes de réaction de 1,5 ml (fournis).
  - 6c. Insérer la glissière magnétique dans l'AdnaMag-S.
  - 6d. Après 1 minute, retirer complètement le surnageant. Cette étape doit être réalisée minutieusement (attention au culot), car des billes pourraient glisser et être retirées par erreur.
  - 6e. Répéter les étapes 6a à 6d une fois dans les mêmes tubes de réaction (deux lavages au total).
7. Retirer la glissière magnétique de l'AdnaMag-S.

8. Ajouter 100 µl de tampon Tris-HCL glacé dans chaque tube et remettre les billes en suspension en pipétant.
  9. Insérer la glissière magnétique dans l'AdnaMag-S.
  10. Après 1 minute, retirer complètement le surnageant.
  11. Retirer la glissière magnétique de l'AdnaMag-S.
  12. Remettre le complexe billes/ARNm en suspension dans 14,75 µl d'eau sans RNase.
  13. Transférer les tubes dans un bloc chauffant ou un bain-marie et incuber pendant 5 minutes à 65 °C.
  14. Placer immédiatement les tubes sur de la glace pendant au moins 2 minutes.
  15. Continuer immédiatement (dans les 5 minutes) avec la transcription inverse (procédure C : transcription inverse avec le kit Sensiscript RT).
- Ne pas conserver le complexe billes/ARNm !

#### Procédure C : transcription inverse avec le kit Sensiscript RT

1. Préparer le RT Master Mix sur de la glace. Pour ce faire, suivre les indications fournies dans le Tableau 1 en fonction du nombre d'échantillons.  
Le volume de RT Master Mix devrait être supérieur de 10 % au volume calculé pour le nombre total de réactions de transcription inverse. Une réaction de contrôle négatif sans ajout d'ARNm doit toujours être préparée (contrôle RT).
2. Agiter au vortex le RT Master Mix. Passer brièvement à la centrifugeuse et pipeter 5,25 µl pour chaque réaction dans des tubes PCR de 0,2 ml.
3. Remettre les complexes billes/ARNm (étape 12, page 21) en suspension soigneusement avec une pipette. Transférer le volume total dans le tube de réaction PCR de 0,2 ml contenant le RT Master Mix. Mélanger soigneusement avec un pipetage répété.

**Tableau 1. Configuration de la réaction de transcription inverse**

<b>Composant</b>	<b>Volume</b>
<b>RT Master Mix</b>	
10x Buffer RT (10 × tampons RT)	2,0 µl
Mélange dNTP (5 mM chaque dNTP)	2,0 µl
RNase inhibitor (Inhibiteur de RNase), 40 U/µL (Promega)	0,25 µl
Sensiscript transcriptase inverse	1,0 µl
<b>Matrice d'ARN*</b>	14,75 µl
mRNA/bead complex or RNase free water (Complexe mRNA/billes ou eau sans RNase)	
<b>Volume total</b>	<b>20,0 µl</b>

\* Comme contrôle RT, ajouter 14,75 µl d'eau sans RNase au lieu du complexe billes/ARNm. Le volume du complexe billes/ARNm peut varier légèrement. Dans tous les cas, utiliser le volume total pour la transcription inverse.

4. L'ADNc est synthétisé dans un thermocycleur dans les conditions suivantes (Tableau 2).

**Tableau 2. Programme de transcription inverse**

<b>Température</b>	<b>Durée</b>
37 °C	60 minutes
93 °C	5 minutes
4 °C	∞

5. Placer les tubes de réaction contenant l'ADNc sur de la glace ou les conserver à -20 °C pour une durée n'excédant pas 4 semaines.

Poursuivez avec « Protocole : PCR multiplexe et monoplexe », page 22.

# Protocole : PCR multiplexe et monoplexe

## Point important avant de commencer

- Avant de commencer la procédure, lire « Avertissements et précautions » (page 11) et « Stockage et manipulation des réactifs » (page 12).

## À effectuer avant de commencer

- Décongeler le HotStarTaq Master Mix (QIAGEN), AdnaTest PrimerMix ProstateDetect, AdnaTest Positive Control Prostate, AdnaTest PrimerMix AR-Detect, AdnaTest Positive Control AR et eau sans RNase. Passer au vortex, centrifuger brièvement et conserver sur de la glace.

## Procédure A : PCR multiplexe (AdnaTest ProstateDetect)

1. Le Master Mix PCR se prépare conformément aux indications fournies dans le Tableau 3 en fonction du nombre d'échantillons.

Le calcul du volume du Master Mix PCR doit inclure au moins 10 % de volume en excès. Noter qu'un AdnaTest Positive Control Prostate, de l'eau sans RNase comme contrôle négatif et le Contrôle RT doivent toujours être inclus.

2. Pour chaque préparation, déposer 21,0 µl du Master Mix PCR dans des tubes de réaction PCR de 0,2 ml. Remettre le mélange billes/ADNc en suspension en pipetant et en ajouter 4,0 µl dans chaque tube de réaction.

**Remarque** : comme contrôle négatif, ajouter 4,0 µl d'eau sans RNase au lieu de l'ADNc.

**Tableau 3. Préparation de la PCR multiplexe**

Composant	Volume
<b>Multiplex PCR Master Mix</b>	
HotStarTaq Master Mix	12,5 µl
RNase-free water (Eau exempte de RNase)	4,5 µl
PrimerMix ProstateDetect	4,0 µl
ADNc ou Contrôle RT ou Contrôle négatif (eau sans RNase) ou Contrôle positif (C+) chacun :	4,0 µl
<b>Volume total</b>	<b>25,0 µl</b>

3. Un thermocycleur suivant le programme décrit dans le Tableau 4 est utilisé pour la PCR. Utiliser le thermocycleur sur une pente de chauffe de 2 °C/seconde. La PCR est réalisée avec 42 cycles au total.

**Tableau 4. Programme de cycle de PCR**

	Température	Durée
<b>Étape d'activation initiale</b>	95 °C	15 minutes
<b>Cycle en 3-étapes</b>		
Dénaturation :	94 °C	30 secondes
Hybridation :	61 °C	30 secondes
Extension :	72 °C	30 secondes
Nombre de cycles :	42	
<b>Extension finale :</b>	72 °C	10 minutes
<b>Refroidissement :</b>	4 °C	∞

## Procédure B : PCR monoplexe (AdnaTest AR-Detect)

1. Le Master Mix PCR se prépare conformément aux indications fournies dans le Tableau 5 en fonction du nombre d'échantillons.

Le calcul du volume du Master Mix PCR doit inclure au moins 10 % de volume en excès. Noter qu'un AdnaTest Positive Control, de l'eau sans RNase comme contrôle négatif et le Contrôle RT doivent toujours être inclus.

- Pour chaque préparation, déposer 21,0 µl du Master Mix PCR dans des tubes de réaction PCR de 0,2 ml. Remettre le mélange billes/ADNc en suspension en pipetant et en ajoutant 4,0 µl dans chaque tube de réaction.

**Remarque** : comme contrôle négatif, ajouter 4,0 µl d'eau sans RNase au lieu de l'ADNc.

**Tableau 5. Préparation de la PCR monoplexe**

Composant	Volume
<b>Singleplex PCR Master Mix</b>	
HotStarTaq Master Mix	12,5 µl
RNase-free water (Eau exempte de RNase)	4,5 µl
PrimerMix AR-Detect	4,0 µl
ADNc ou Contrôle RT ou Contrôle négatif (eau sans RNase) ou Contrôle positif (C+) chacun :	4,0 µl
<b>Volume total</b>	<b>25,0 µl</b>

- Un thermocycleur suivant le programme décrit dans le Tableau 6 est utilisé pour la PCR. Utiliser le thermocycleur sur une pente de chauffe de 2 °C/seconde. La PCR est réalisée avec 35 cycles au total.

Tableau 6. Programme de cycle de PCR

	Température	Durée
<b>Étape d'activation initiale</b>	95 °C	15 minutes
<b>Cycle en 3 étapes (35 cycles)</b>		
Dénaturation :	94 °C	30 secondes
Hybridation :	60 °C	30 secondes
Extension :	72 °C	60 secondes
Nombre de cycles :	35	
<b>Extension finale :</b>	72 °C	10 minutes
<b>Refroidissement :</b>	4 °C	∞

## Interprétation des résultats

### Analyse de fragment sur l'Agilent 2100 Bioanalyzer

L'analyse est réalisée avec l'Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) sur un DNA 1000 LabChip®. Suivre les instructions fournies dans le manuel du DNA 1000 LabChip et veiller à ce qu'aucune bille ne soit transférée dans le LabChip. La présence de billes magnétiques dans le gel peut entraîner des résultats non valides.

1. Lancer le logiciel Bioanalyzer **2100 expert**. Sélectionner « **Instrument** » (instrument) dans « **Contexts** » (contextes), puis cliquez sur le bouton « **Assay** » (dosage) à côté de « **Assay Selection** » (sélection de dosage).
2. Sélectionner « **Electrophoresis** » (électrophorèse) > **DNA 1000 Series II.xsy**. Préparer la puce et lancer l'analyse.

3. Configurer un seuil de détection pour l'évaluation des résultats :
  - 3a. Sélectionner « **Data** » (données) dans « **Contexts** », puis cliquez sur l'onglet « **Assay Properties** » (propriétés de dosage). Sélectionner « **Global** » (global) et « **Normal** » (normal) dans le menu déroulant à droite.
  - 3b. Sélectionner « **Sample Setpoints > Integrator > height threshold (FU)** » (Points de consigne des échantillons > Intégrateur > Seuil de hauteur (FU)) et régler cette valeur sur **0** (la valeur par défaut est de **20**) pour détecter tous les signaux.

### Analyse des résultats d'AdnaTest ProstateDetect

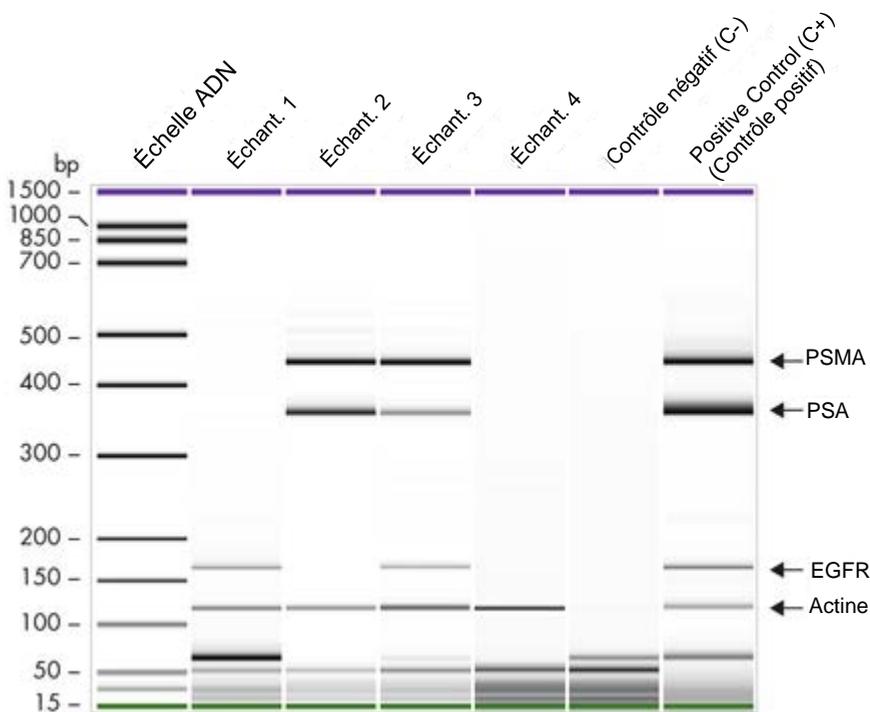
Le test est considéré positif si un fragment PCR d'au moins un transcrite associé à la tumeur (PSMA, PSA ou EGFR) est clairement détecté.

Avec l'Agilent 2100 Bioanalyzer, les pics ayant une concentration de  $\geq 0,10$  ng/ $\mu$ l sont positifs (Figure 3).

Le fragment du gène d'actine de contrôle doit être détecté dans tous les échantillons de patients (contrôle PCR interne). Un signal d'actine fournit un contrôle positif pour la réussite de la séparation cellulaire, de la transcription inverse et de la PCR multiplexe. Les échantillons de contrôle négatif et de contrôle RT ne doivent pas être associés à des bandes supérieures à 80 paires de bases (dimères d'amorces).

Un fragment supérieur à 900 pb indique une contamination par de l'ADN génomique. Le processus de séparation a échoué et les résultats sont invalides dans ce cas.

**IMPORTANT : si le protocole n'est pas respecté avec précision, cela peut donner des résultats faux négatifs ou faux positifs.**



**Figure 3. AdnaTest ProstateCancerDetect, résultats d'échantillons de PCR multiplexes analysés avec un Agilent 2100 Bioanalyzer.** La première colonne montre la taille d'ADN standard (échelle ADN). L'échantillon 1 est positif pour l'EGFR, l'échantillon 2 est positif pour le PSMA et le PSA, et l'échantillon 3 est positif pour le PSMA, le PSA et l'EGFR. L'échantillon 4 est négatif. L'actine est détectée dans les échantillons 1 à 4. Le contrôle négatif (C-) et le Contrôle positif (C+) de la PCR apparaissent dans les deux dernières colonnes.

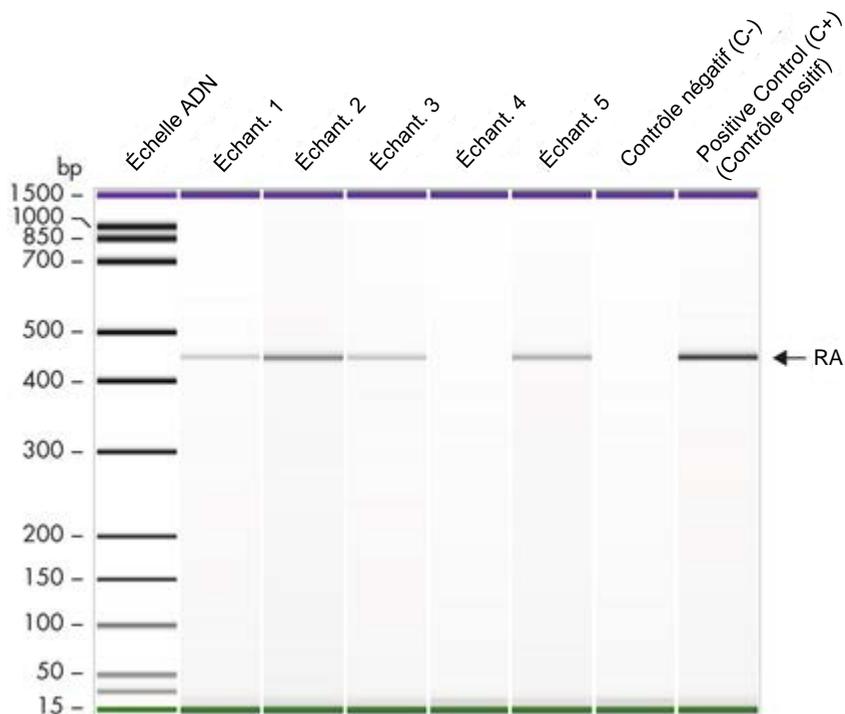
### Analyse des résultats d'AdnaTest AR-Detect

Avec l'Agilent 2100 Bioanalyzer, les pics ayant une concentration de  $\geq 0,15$  ng/ $\mu$ l pour AR sont positifs (Figure 4).

Le fragment du gène d'actine de contrôle doit être détecté dans tous les échantillons de patients (contrôle PCR interne). Un signal d'actine fournit un contrôle positif pour la réussite de la séparation cellulaire, de la transcription inverse et de la PCR monoplexe.

Les échantillons de contrôle négatif et de contrôle RT ne doivent pas être associés à des bandes supérieures à 80 paires de bases (dimères d'amorces).

**IMPORTANT : si le protocole n'est pas respecté avec précision, cela peut donner des résultats faux négatifs ou faux positifs.**



**Figure 4. Résultats AdnaTest ProstateCancerDetect d'échantillons de PCR monoplexe.** La première colonne montre la taille d'ADN standard (échelle ADN). Les échantillons 1 à 3 et l'échantillon 5 sont positifs pour le RA. L'échantillon 4 est négatif. Le contrôle négatif (C-) et le Contrôle positif (C+) de la PCR apparaissent dans les deux dernières colonnes.

---

## Guide de dépannage

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

## Contrôle qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot d'AdnaTest ProstateCancerSelect et AdnaTest ProstateCancerDetect est testé selon des spécifications prédéterminées afin de garantir une qualité constante du produit.

## Limites

Tous les réactifs ne peuvent être utilisés que dans le cadre de diagnostics in vitro.

L'utilisation de ce produit est réservée à un personnel spécialement formé aux procédures de diagnostic in vitro.

L'utilisateur doit impérativement lire attentivement la notice d'instructions avant d'utiliser le système.

Il faut se conformer strictement à la notice d'instructions pour obtenir des résultats de PCR optimaux.

Vérifier les dates de péremption imprimées sur les boîtes et les étiquettes de tous les composants. Ne pas utiliser de composants au-delà de leur date d'expiration.

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

## Caractéristiques de performance

### Récupération

Deux cellules de cancer de la prostate LnCap en culture ont été inoculées dans des échantillons de sang de donneurs sains afin de déterminer les taux de récupération obtenus avec l'AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect (Tableau 7).

**Tableau 7. Taux de récupération de cellules tumorales inoculées dans des échantillons de sang de donneurs sains de l'AdnaTest ProstateCancer**

	Nombre de positifs	Nombre total d'échantillons
Deux cellules tumorales inoculées dans 5 ml de sang	38 (95 %)	40

Le taux de récupération est de 95 % pour la détection de deux cellules tumorales inoculées dans 5 ml de sang de donneurs sains.

### Spécificité

L'AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect a été utilisé pour analyser 40 donneurs sains afin de déterminer le taux de faux positifs au seuil donné (concentration de fragments de 0,10 ng/µl pour chaque profil génétique inclus, sauf l'actine).

**Tableau 8. Détermination de la spécificité**

Contrôles	Nombre total d'échantillons	Nombre de faux positifs	Spécificité (%)
Donneurs sains	40	0 (0 %)	100

Les résultats ont démontré une spécificité de 100 % pour l'AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect (Tableau 8).

## Reproductibilité

Vingt échantillons de sang de donneurs sains ont été dopés avec 10 cellules de cancer de la prostate LnCap par échantillon. Afin de déterminer la reproductibilité du test, ces échantillons sanguins ont été analysés par deux utilisateurs avec l'AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect. La reproductibilité intratest et intertest était de 100 % (Tableau 9).

**Tableau 9. Reproductibilité de l'AdnaTest ProstateCancer Select/Detect**

Utilisateur	Résultat AdnaTest positif/échantillons	Reproductibilité intratest (%)	Reproductibilité intertest (%)
A	10/10	100	100
B	10/10	100	100

## Précision

Afin de déterminer la précision, des aliquots d'ADNc ont été rassemblés en pool et analysés avec l'AdnaTest ProstateCancerDetect. Deux utilisateurs ont analysé 30 échantillons d'ADNc, en réalisant 3 mesures indépendantes de 10 échantillons. La précision intratest et intertest était de 100 % (Tableau 10).

**Tableau 10. Précision de l'AdnaTest ProstateCancerDetect**

Utilisateur	Résultat AdnaTest positif/échantillons	Précision intratest (%)	Précision intertest (%)
A	30/30	100	100
B	30/30	100	100

## Substances interférentes

### Anticoagulants

Lors du prélèvement et du transport de sang, l'utilisation d'anticoagulants est obligatoire. Cependant, l'héparine et le citrate entraînent la formation d'agrégats après l'ajout des billes immunomagnétiques de l'AdnaTest, ce qui peut fausser les résultats ou en empêcher l'obtention. Néanmoins, l'EDTA et l'ACDA (solution A de citrate, dextrose et adénine) sont compatibles avec les billes immunomagnétiques de l'AdnaTest.

### Hémolyse

L'hémolyse dans les échantillons de sang (la fraction plasmatique devient rouge) est, dans la plupart des cas, due à de mauvaises conditions de transport ou de conservation. Ces échantillons risquent de donner des faux négatifs et devraient être éliminés.

### Agents chimiothérapeutiques, thérapies ciblées et traitements anti-hormonaux

Les agents chimiothérapeutiques (taxanes, cisplatine, oxaliplatine, 5-FU, anthracycline, irinotécan, etc.) sont de puissantes cytotoxines et entraînent des dommages ou une mort cellulaire rapide dans un échantillon sanguin. Cela se traduit par un risque élevé de faux négatifs lors de l'utilisation des billes immunomagnétiques de l'AdnaTest. Après l'administration de ces substances, le corps humain met environ 5 à 7 jours à les détoxifier (Tableau 11). Les échantillons de sang prélevés lors de cette période ne doivent pas être utilisés avec les billes immunomagnétiques de l'AdnaTest.

**Tableau 11. Demi-vie des agents chimiothérapeutiques**

Médicament	Demi-vie	Référence
5-Fluorouracil	Jusqu'à 20 minutes	<a href="http://www.drugs.com/pro/fluorouracil-injection.html">www.drugs.com/pro/fluorouracil-injection.html</a>
Docetaxel	Jusqu'à 11,1 heures	<a href="http://www.drugs.com/pro/docetaxel.html">www.drugs.com/pro/docetaxel.html</a>
Cisplatine	Jusqu'à 30 minutes	<a href="http://www.drugs.com/pro/cisplatin.html">www.drugs.com/pro/cisplatin.html</a>
Carbo-platinum	Jusqu'à 5,9 heures	<a href="http://www.drugs.com/pro/carboplatin.html">www.drugs.com/pro/carboplatin.html</a>
Paclitaxel	Environ 25,4 heures	<a href="http://www.drugs.com/pro/paclitaxel.html">www.drugs.com/pro/paclitaxel.html</a>

Les mêmes précautions sont recommandées pour les thérapies ciblées telles que les anticorps (Herceptin<sup>®</sup>, bévacizumab, cétuximab, etc.), les inhibiteurs des protéines tyrosine kinases (olaparib, Iressa<sup>®</sup>, Erbitux<sup>®</sup>, lapatinib etc.) et les traitements anti-hormonaux (tamoxifène, abiratérone, enzalutamide, etc.), administrés seuls ou en association avec des agents chimiothérapeutiques.

Dans les essais cliniques montrant la valeur pronostique des cellules tumorales circulantes identifiées et caractérisées à l'aide des billes immunomagnétiques AdnaTest, aucune interférence négative des agents chimiothérapeutiques, des thérapies ciblées ou des traitements anti-hormonaux n'a été observée lorsqu'une période d'attente d'au moins 7 jours après l'administration du médicament était respectée. En outre, il est peu probable que les médicaments concomitants couramment utilisés (aspirine, ibuprofène, aprépitant, stéroïdes, etc.) aient un impact négatif, mais celui-ci est surveillé.

## Problèmes de santé interférents

### Coagulation sanguine

Dans le cadre des essais cliniques, nous avons observé une coagulation sanguine après l'incubation avec des billes immunomagnétiques *AdnaTest*, le plus souvent dans des échantillons de sang de patients à un stade avancé de la maladie. Les échantillons sanguins qui contiennent des caillots sont difficiles à traiter lors du déroulement de l'*AdnaTest* en raison de leur plus grande viscosité et ils sont difficiles à pipeter. Ils contiennent également

---

une quantité trop élevée de leucocytes contaminants, ce qui entraîne des faux positifs. Ces échantillons doivent être éliminés.

## Maladie organique bénigne et maladies inflammatoires chroniques

Les maladies organiques bénignes et les maladies inflammatoires chroniques, telles que l'arthrite, l'hyperplasie bénigne de la prostate, la maladie de Crohn, etc., n'entraînent pas de faux positifs à l'AdnaTest.

## Allergie aiguë

En cas d'allergie aiguë, on observe un nombre accru de leucocytes contaminants après l'enrichissement des cellules tumorales circulantes avec les billes immunomagnétiques AdnaTest. Les faux positifs ne peuvent par conséquent pas être totalement exclus.

## Études cliniques

Au total, 12 patients atteints d'un cancer de la prostate métastasé résistant à la castration ont été suivis pendant un traitement par docétaxel. Un premier échantillon a été analysé à l'inclusion dans l'étude puis deux autres échantillons ont été analysés lors du suivi.

En ce qui concerne l'activation RA, il a été clairement démontré que l'activation et la désactivation des récepteurs des androgènes étaient fortement corrélées au taux d'élimination des cellules tumorales circulantes due à l'intervention thérapeutique. Toutefois, le taux de positivité aux cellules tumorales circulantes a chuté pendant le traitement, passant de 70 % lors de l'analyse initiale à ~ 35 % pendant le suivi et le taux de positivité aux RA a reculé de 55 % à ~11 %. En raison du traitement, les sous-clones de cellules tumorales circulantes positives pour les RA sont davantage affectés par le traitement par docétaxel que les cellules tumorales circulantes négatives pour les RA. Ces résultats rejoignent ceux de Darshan et coll. dans leur étude de 2011, dans lesquels une inhibition du signal et du transport nucléaire des RA induite par les taxanes avait été observée.

Ces résultats indiquent la détection spécifique et sensible des cellules tumorales circulantes dans les échantillons cliniques de cancer de la prostate ainsi qu'une évaluation des profils génétiques liés aux cibles thérapeutiques.

## Référence

Darshan, M.S. et al. (2011) Taxane-Induced Blockade to Nuclear Accumulation of the Androgen Receptor Predicts Clinical Responses in Metastatic Prostate Cancer. *Cancer Res.* 2011 Sep 15; **71(18)**: 6019–6029. Publié en ligne, le 28 juillet 2011, DOI : 10.1158/0008-5472.CAN-11-1417.

## Abréviations

AdnaMag-L	Concentrateur de particules magnétiques (-grand)
AdnaMag-S	Concentrateur de particules magnétiques (-petit)
RA	Récepteur des androgènes
pb	Paires de bases
C+	Contrôle positif
C-	Contrôle négatif
ADNc	Acide désoxyribonucléique complémentaire
ADN	Acide désoxyribonucléique
dNTPs	Désoxynucléotides triphosphates
EGFR	Récepteur du facteur de croissance épidermique
kb	kilobases
ARNm	Acide ribonucléique messenger
PCR	Polymerase chain reaction (Réaction d'amplification par polymérisation)
PSA	Antigène spécifique de la prostate
PSMA	Antigène membranaire spécifique de la prostate
RNase	Ribonucléase
tr/min	Tours par minute
RT	Transcription inverse

# Symboles



Contient des réactifs pour <N> tests



À utiliser avant



Limite de température



Numéro de référence



Lire les informations dans le manuel



Fabricant



Dispositif médical de diagnostic in vitro



Numéro de matériel



Code article international (GTIN)

# Pour commander

Produit	Contenu	N° réf.
AdnaTest ProstateCancerSelect	Pour l'isolation des cellules tumorales circulantes et l'extraction consécutive de l'ARNm du sang entier humain pour 12 préparations	395432
AdnaTest ProstateCancerDetect	Kit RT-PCR pour la détection de l'expression génétique associée au cancer de la prostate dans des cellules tumorales enrichies	396432
<b>Produits connexes</b>		
AdnaTubes	12 tubes d'échantillons contenant de l'EDTA. Utiliser uniquement avec du sang anticoagulé dans des tubes de prélèvement sanguin A-CDA de BD	399932
AdnaMag-L	Pour 8 tubes, 15 ml	399921
AdnaMag-S	Pour 8 tubes, 1,5 ml	399911
Sensiscript RT Kit (50)	Pour 50 réactions de transcription inverse :* Sensiscript transcriptase inverse, 150 µl 10x tampon RT, 100 µl mélange dNTP (contient 5 mM chacun de dNTP), 1,1 ml d'eau sans RNase	205211
HotStarTaq Master Mix Kit (250 U)	3 x 0,85 ml HotStarTaq Master Mix (contient 250 unités HotStarTaq ADN polymérase, tampon PCR avec 3 mM MgCl <sub>2</sub> et 400 µM de chacun dNTP) et 2 x 1,7 ml d'eau sans RNase	203443

\* Le kit Sensiscript RT (50) ne permettra d'analyser que 25 échantillons avec AdnaTest ProstateCancerDetect, car un volume double est nécessaire pour chaque réaction.



Pour obtenir des informations actualisées et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des kits et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse **www.qiagen.com** ou peuvent être demandés auprès des Services techniques QIAGEN ou de votre distributeur local.

**Accord de licence limité pour AdnaTest ProstateCancerSelect et AdnaTest ProstateCancerDetect**

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

1. Le produit ne doit être utilisé que conformément aux protocoles fournis et à ce manuel et uniquement avec les composants contenus dans ce 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 les protocoles fournis avec le produit, dans ce manuel et dans d'autres protocoles disponibles sur le site **www.qiagen.com**. Parmi ces protocoles supplémentaires, certains ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour des utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne saurait être tenu responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce kit et/ou son ou ses utilisations 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 les 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 les 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).

Marques déposées : QIAGEN<sup>®</sup>, Sample to Insight<sup>®</sup>, HoStarTaq<sup>®</sup>, Sensiscript<sup>®</sup> (groupe QIAGEN) ; Agilent<sup>®</sup> (Agilent Technologies, Inc.) ; ERBITUX<sup>®</sup> (ImClone LLC., une filiale en propriété exclusive d'Elis Lilly and Company) ; Herceptin<sup>®</sup> (Genentech, Inc.) ; IRESSA<sup>®</sup> (groupe AstraZeneca) LabChip<sup>®</sup> (Caliper Life Sciences, Inc.) ; Sarstedt<sup>®</sup>, S-Monovette<sup>®</sup> (Sarstedt AG and Co.) ; Vacutainer<sup>®</sup> (Becton Dickinson and Company).

HB-2396-001 © 2017 QIAGEN, tous droits réservés.

---

Cette page est intentionnellement laissée vierge

---

Cette page est intentionnellement laissée vierge

---

Cette page est intentionnellement laissée vierge

---

Pour commander [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Support technique [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site Web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)