

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

circDNA_1000_DSP_V1, circDNA_2000_DSP_V3 et circDNA_4000_DSP_V3

Version 2



Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro

À utiliser avec QIASymphony DSP Circulating DNA Kit



REF

937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne

R2

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

Informations générales

Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro.

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

Trousse	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		
N° de référence	937556		
Type d'échantillon	Plasma humain : <ul style="list-style-type: none">À partir de tubes de prélèvement sanguin avec stabilisateurs de profil ccfDNA (par exemple, Cell-Free DNA BCT®, Streck®)à partir de tubes de prélèvement sanguin sans stabilisateurs de profil ccfDNA (par exemple, EDTA) Urine humaine : <ul style="list-style-type: none">Avec stabilisateurs de profil cfDNASans stabilisateurs de profil cfDNA		
Nom du protocole	circDNA_1000_DSP_V1	circDNA_2000_DSP_V3	circDNA_4000_DSP_V3
Jeu de contrôles de dosage par défaut	ACS_circDNA_1000_DSP_V1	ACS_circDNA_2000_DSP_V3	ACS_circDNA_4000_DSP_V3
Volume d'éluion	60 µl	60 µl	60 µl
Version logicielle requise	Version 5.0 ou plus récente	Version 4.0 ou plus récente	Version 5.0 ou plus récente
Configuration logicielle requise pour une utilisation IVD	Profil 1 par défaut	Profil 1 par défaut	Profil 1 par défaut

Lorsque vous manipulez des produits chimiques, vous devez toujours porter un sarrau de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour obtenir plus d'informations, consultez les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur du produit.

Tiroir « Sample » (Échantillon)

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

s.o. = sans objet.

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

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

Remarque : N'utilisez pas des flacons de protéinase K provenant de lots de trousse différents. Utilisez uniquement la solution de protéinase K fournie dans la trousse correspondante.

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

Nombre d'échantillons*	circDNA_1000_DSP (µl)	circDNA_2000_DSP (µl)	circDNA_4000_DSP (µl)
8	1580	1980	2860
24	2540	3740	6380
48	3980	6380	11 660
72	5420	9020	18 040 [†]
96	6860	11 660	23 320 [†]

* Pour chaque échantillon, 60 µl pour le protocole circDNA_1000_DSP, 110 µl pour le protocole circDNA_2000_DSP et 220 µl pour le protocole circDNA_4000_DSP est requis, plus un volume mort supplémentaire de 1 100 µl [(n × 60, 110 ou 220 µl) + 1 100 µl].

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

Tiroir « Reagents and Consumables » (Réactifs et consommables)

Position A1 et/ou A2	Cartouche de réactif (Reagent Cartridge, RC)
Position B1	s.o.
Support de portoir à embouts 1–18	Embouts à filtre jetables, 200 ou 1 500 µl
Support de boîtes 1–4	Boîtes contenant des cartouches de préparation d'échantillons ou 8-Rod Covers

s.o. = sans objet.

Tiroir « Waste » (Déchets)

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

Tiroir « Eluate » (Éluat)

Portoir d'éluat (il est recommandé d'utiliser la fente 1, position de refroidissement)	Pour obtenir plus d'informations, voir la liste du matériel de laboratoire sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur www.qiagen.com .
--	---

Matériel en plastique requis

Protocole circDNA_1000_DSP

Matériel en plastique	Un lot 24 échantillons*	Deux lots 48 échantillons*	Trois lots 72 échantillons*	Quatre lots 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl††	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1 500 µl††	64	120	176	232
Sample prep cartridges§	15	30	45	60
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

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

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

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

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

¶ Il y a douze 8-Rod Covers/boîte.

Protocole circDNA_2000_DSP

Matériel en plastique	Un lot 24 échantillons*	Deux lots 48 échantillons*	Trois lots 72 échantillons*	Quatre lots 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl††	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1 500 µl††	64	120	176	232
Sample prep cartridges§	15	30	45	60
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

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

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

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

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

¶ Il y a douze 8-Rod Covers/boîte.

Protocole circDNA_4000_DSP

Matériel en plastique	Un lot 24 échantillons*	Deux lots 48 échantillons*	Trois lots 72 échantillons*	Quatre lots 96 échantillons*
Disposable filter-tips, 200 µl††	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1 500 µl††	104	200	298	394
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

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

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

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

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

¶ Il y a douze 8-Rod Covers/boîte.

Remarque : Le nombre d'embouts à filtre fournis peut être différent du nombre affiché sur l'écran tactile, en fonction des paramètres (p. ex., le nombre de témoins internes utilisés par lot).

Volume d'élution

Volume d'élution choisi

60 μ l

Volume d'élution initial

75 μ l

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

Conservation des éluats

Remarque : La stabilité de l'éluat dépend fortement de plusieurs facteurs et de l'application spécifique effectuée en aval. Elle a été établie pour QIASymphony DSP Circulating DNA Kit en conjonction avec des applications exemplaires en aval. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de consulter le mode d'emploi de l'application spécifique en aval utilisée dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail pour établir les conditions de stockage appropriées.

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

Après la préparation des échantillons, les éluats peuvent être conservés de 2–8 °C jusqu'à 1 mois et à –20 °C ou à –80 °C jusqu'à 2 mois. Les éluats congelés ne doivent pas être dégelés plus de 3 fois.

Préparation de l'échantillon

Remarque : La stabilité de l'échantillon dépend fortement de plusieurs facteurs et de l'application spécifique en aval. Elle a été établie pour QIASymphony DSP Circulating DNA Kit en conjonction avec des applications exemplaires en aval. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de consulter le mode d'emploi de l'application spécifique en aval utilisée dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail pour établir les conditions de stockage appropriées.

Plasma humain

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

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

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

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

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

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

Urine humaine

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

Urine humaine stabilisée

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

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

Urine humaine « non stabilisée »

Avant de commencer un protocole nécessitant du Buffer ATL, vérifiez si un précipité s'est formé dans le Buffer ATL. Le cas échéant, dissolvez ce précipité en le chauffant à 70 °C et en l'agitant délicatement dans un bain-marie. Aspirez les bulles à la surface du Buffer ATL.

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

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

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

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

- Mélangez 1 500 µl d'urine (circDNA_1000_DSP), 2 500 µl d'urine (circDNA_2000_DSP) ou 4 500 µl d'urine (circDNA_4000_DSP) avec 150 µl, 250 µl ou 450 µl de Buffer ATL, respectivement.
- Incubez les échantillons à température ambiante (15–25 °C) pendant une heure.
- Centrifugez les échantillons à 1 900 x g pendant 10 minutes à température ambiante (15–25 °C).
- Si des précipités sont visibles dans le surnageant après centrifugation, réchauffez les échantillons jusqu'à 25 °C au bain-marie pour dissoudre les précipités.
- Transférez les surnageants dans un tube d'échantillon secondaire, puis chargez ce tube sur le porte-échantillon (voir la liste du matériel de laboratoire, sous l'onglet Resource (Ressources) de la page des produits sur le site www.qiagen.com)

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

Points importants avant de charger les échantillons


















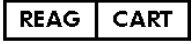
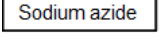


- Évitez la formation de mousse dans ou à la surface des échantillons.
- Amener tous les échantillons à température ambiante (15–25 °C) avant de lancer le cycle.

Substances interférentes

Les échantillons de plasma présentant une concentration élevée de gammaglobuline (> 30 g/l) peuvent nuire à la récupération de l'ADN libre circulant.

Symboles

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

Symbole	Définition du symbole
	Contient des volumes suffisants de réactifs 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
	Numéro de référence
	Numéro de lot
	Numéro de matériel (c.-à-d. étiquette de composant)
	Composants
	Contient
	Nombre
	Code d'article international (Global Trade Item Number, GTIN)
Rn	R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision
	Limites de température
	Fabricant
	Consulter le mode d'emploi
	Avertissement/mise en garde
	Protéinase K
	Numéro du puits (c.-à-d. puits de la cartouche de réactif)
	Cartouche de réactif
	Azoture de sodium
	Éthanol
	Identifiant unique du dispositif

Historique des révisions

Révision	Description
R1, Juin 2022	Version 2, révision 1 <ul style="list-style-type: none">Mise à jour à la version 2 par conformité aux exigences de l'IVDRLe libellé pour la manipulation des échantillons a été mis à jour pour tenir compte de la norme ISO 20186-3:2019 (E) Examens de diagnostic moléculaire in vitro – Spécifications des procédés de pré-examen du sang veineux total – Partie 3 : Isolation de l'ADN libre circulant à partir du plasma
R2, Janvier 2023	Version 2, Révision 2 <ul style="list-style-type: none">Mise à jour pour ajout de BioScript pour un volume d'échantillon de 1 ml (circDNA_1000_DSP)Mise à jour à V3 pour circDNA_2000 et circDNA_4000

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

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group) ; Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Les marques déposées, marques de commerce et autres marques citées dans ce document doivent être considérées comme protégées par la loi, même si elles ne sont pas spécifiquement signalées comme telles.

01/2023 HB-3034-S01-002© 2022 QIAGEN, tous droits réservés.