

MANUEL TECHNIQUE

# Maxwell® CSC DNA FFPE Kit

Mode d'emploi du produit  
**AS1350**

**Mise en garde :** manipulez les cartouches avec précautions ;  
les bords d'étanchéité peuvent être coupants.



MODE D'EMPLOI DU  
PRODUIT  
**AS1350**



  
**PROMEGA**  
2800 Woods Hollow Rd.  
Madison, WI USA



MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hanovre, Allemagne

# Maxwell® CSC DNA FFPE Kit

Toute la littérature technique est disponible sur : [www.promega.com/protocols/](http://www.promega.com/protocols/)  
Consultez le site Internet pour vérifier que vous utilisez bien la version la plus récente de ce manuel technique.  
Si vous avez des questions concernant l'utilisation de ce système, envoyez un e-mail  
à Promega Technical Services : [techserv@promega.com](mailto:techserv@promega.com)

1. Description.....	2
2. Composants du produit, conditions de stockage et légende des symboles .....	3
3. Destination/Usage prévu du produit .....	5
4. Limites d'utilisation du produit.....	5
5. Avant de commencer .....	6
5.A. Préparation d'échantillons FFPE .....	6
5.B. Préparation des Maxwell® CSC DNA FFPE Cartridges .....	7
6. Fonctionnement de l'appareil.....	9
7. Après la purification.....	11
8. Évaluation des performances analytiques.....	11
8.A. Amplificabilité.....	12
8.B. Reproductibilité .....	15
8.C. Inhibition (substances interférentes).....	17
8.D. Contamination croisée .....	17
9. Évaluation des performances cliniques .....	17
9.A. Amplificabilité de l'ADN .....	18
9.B. Reproductibilité .....	19
9.C. Contamination croisée .....	19
10. Dépannage .....	20
11. Références.....	21
12. Produits apparentés .....	21
13. Récapitulatif des modifications.....	22

Le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit n'est disponible que dans certains pays.

## 1. Description

Le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit<sup>(a)</sup> est utilisé en association avec les appareils Maxwell® Instrument spécifiés au Tableau 1 pour permettre la purification automatisée, efficace et aisée d'ADN génomique (ADNg) à partir d'échantillons de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE). Les appareils Maxwell® CSC Instrument sont conçus pour être utilisés avec des cartouches de réactifs pré-dispensés et des réactifs supplémentaires fournis dans le kit avec des méthodes de purification préprogrammées, pour une simplicité et une facilité d'emploi maximales. Les appareils Maxwell® CSC Instrument peuvent traiter d'un au nombre maximum autorisé d'échantillons en 45 minutes environ et l'ADN purifié peut être utilisé directement dans les essais d'amplification ultérieurs tels que la PCR.

**Tableau 1. Appareils pris en charge.**

Appareil	Cat.#	Manuel technique
Maxwell® CSC	AS6000	TM457
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623

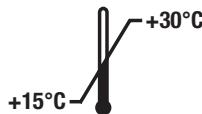
**Principe de la méthode :** le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit purifie l'acide nucléique à l'aide de particules paramagnétiques, qui fournissent une phase solide mobile pour optimiser le prélèvement d'échantillons, le lavage et la purification de l'ADNg. Les appareils Maxwell® CSC Instrument sont des appareils magnétiques de traitement des particules. Ce système permet la fixation efficace de l'ADNg aux particules paramagnétiques dans le premier puits d'une cartouche préremplie et déplace l'échantillon dans les puits de la cartouche. Cette approche de la capture magnétique évite des problèmes courants, tels que le colmatage des cônes ou des transferts partiels de réactifs, qui entraînent une purification sous-optimale par d'autres systèmes automatiques courants.

**Considérations relatives aux échantillons :** la purification de l'ADN à partir d'échantillons de tissus FFPE peut être complexe en raison des caractéristiques des tissus telles que la fibrosité, la composition en lipides, les niveaux de nuclease et le nombre de cellules disponibles dans la section des tissus. De plus, les écarts dans la gestion des tissus avant et pendant la fixation, notamment la durée pendant laquelle les tissus sont exposés à la formaline pendant le processus de fixation des tissus, influencent fortement le niveau de réticulation et de fragmentation des acides nucléiques dans les tissus FFPE. Tous ces attributs peuvent influencer la qualité et la quantité d'acides nucléiques amplifiables qui peuvent être purifiés à partir de sections de tissus FFPE. Au cours du développement, le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit a été évalué avec différents types et formats de tissus FFPE humains (ex : sections de tissus FFPE sur des glissières ou sans section) afin d'assurer une purification optimale de l'ADN amplifiable disponible.

## 2. Composants du produit, conditions de stockage et légende des symboles

PRODUIT	TAILLE	CAT.#
<b>Maxwell® CSC DNA FFPE Kit</b>	<b>48 préparations</b>	<b>AS1350</b>

Pour diagnostic in vitro. Usage professionnel uniquement. Suffisant pour 48 isolements automatisés à partir des échantillons FFPE. Les Maxwell® FFPE Cartridges sont à usage unique.



Inclut :

- 25 ml Huile minérale
- 20 ml Tampon de lyse
- 2 × 1 ml Protéinase K (PK)
- 100 µl Blue Dye
- 1 ml RNase A
- 48 Maxwell® FFPE Cartridges
- 50 Plongeurs CSC/RSC
- 50 Tubes d'élution (0,5 ml)
- 25 ml Nuclease-Free Water

**Conditions de stockage :** stockez le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit à une température comprise entre +15 °C et +30 °C.



**Informations relatives à la sécurité :** les cartouches contiennent de l'éthanol et de l'isopropanol. Ces substances doivent être considérées comme inflammables, nocives et irritantes.



Les composants du Maxwell® CSC DNA FFPE Kit sont conçus pour être utilisés avec des substances potentiellement infectieuses. Portez des équipements de protection individuelle appropriés (ex : gants et lunettes de sécurité) lors de la manipulation de substances potentiellement infectieuses. Suivez les directives de votre établissement concernant la manipulation et l'élimination de toute substance potentiellement infectieuse utilisée en conjonction avec ce système.

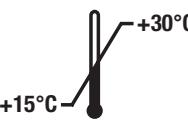


**Mise en garde :** manipulez les cartouches avec précautions ; les bords d'étanchéité peuvent être coupants.

**Informations supplémentaires :** les composants du Maxwell® CSC DNA FFPE Kit sont homologués et ont passé des tests de contrôle qualité pour fonctionner ensemble. Il n'est pas recommandé de mélanger les composants du kit entre différents lots. Utilisez uniquement les composants fournis dans le kit. N'utilisez pas de cartouches reçues avec un joint endommagé.

## 2. Composants du produit, conditions de stockage et légende des symboles (suite)

### Légende des symboles

Symbol	Explication	Symbol	Explication
<b>IVD</b>	Dispositif médical de diagnostic in vitro	<b>EC REP</b>	Représentant agréé
	Stocker à une température comprise entre +15 °C et +30 °C.		Fabricant
	Mise en garde		Irritant
	Danger pour la santé		Contenu suffisant pour « n » tests
<b>CE</b>	Conformité Européenne		Avertissement. Risque biologique.
	Avertissement. Risque de pincement.	<b>REF</b>	Référence
<b>LOT</b>	Numéro de lot		Ne pas réutiliser

### 3. Destination/Usage prévu du produit

Le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit est conçu pour être utilisé en conjonction avec les appareils Maxwell® CSC Instrument et la méthode de purification Maxwell® CSC DNA FFPE comme dispositif médical de diagnostic in vitro (IVD) pour isoler l'ADN automatiquement à partir d'échantillons de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE). L'ADN purifié est adapté aux essais de diagnostic in vitro fondés sur l'amplification.

Le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit est destiné à être utilisé à une température comprise entre 15 °C et 30 °C. Toute utilisation en dehors de cette plage de température peut produire des résultats sous-optimaux.

Les échantillons FFPE préparés à l'aide de formaline neutre à 10 % peuvent être utilisés avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit.

Le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit est destiné à un usage professionnel uniquement. Les résultats de diagnostic obtenus à l'aide d'ADN purifié avec ce système doivent être interprétés avec d'autres données cliniques ou de laboratoire.

### 4. Limites d'utilisation du produit

Le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit est conçu uniquement pour être utilisé avec des échantillons de tissus FFPE. Il n'est pas conçu pour être utilisé avec des échantillons de tissus non FFPE, tels que les échantillons de tissus frais ou congelés. Le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit n'est pas conçu pour être utilisé avec d'autres types d'échantillons, notamment de tissus non humains, ou pour la purification de l'ARN.

Le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit n'est pas conçu pour être utilisé avec des échantillons de tissus qui ont été préparés avec d'autres fixatifs que la formaline neutre à 10 %.

Les performances du Maxwell® CSC DNA FFPE Kit ont été évaluées en isolant l'ADN des échantillons de tissus FFPE de taille comprise entre 0,02–2,0 mm<sup>3</sup>.

L'utilisateur est tenu de valider la performance des acides nucléiques purifiés dans les applications de diagnostic en aval. Des contrôles appropriés doivent être prévus lors des applications de diagnostic en aval utilisant de l'ADN purifié avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit.

## 5. Avant de commencer

### Matériel à fournir par l'utilisateur

- microcentrifugeuse
- pipettes et cônes de pipettes pour le prétraitement du transfert d'échantillons dans des cartouches de réactifs préremplies
- tubes de 1,5–2,0 ml pour l'incubation des échantillons (ex : microtubes, 1,5 ml [Cat.# V1231])
- blocs chauffants réglés à 56 °C et à 80 °C (**Remarque** : des blocs chauffants réglés à 56 °C et à 70 °C sont nécessaires en cas de réalisation de l'incubation d'une nuit facultative.)
- échantillons FFPE avec un volume total de tissus allant jusqu'à 2,0 mm<sup>3</sup> (**Remarque** : les échantillons doivent être stockés à température ambiante [15–30 °C].)
- lames de rasoir (**Remarque** : soyez prudent lors de l'utilisation de lames de rasoir pour racler l'échantillon sur la glissière.)



### 5.A. Préparation d'échantillons FFPE

#### Prétraitement des échantillons de section

1. Placez la section dans le tube microcentrifuge de 1,5 ml. Si vous utilisez des sections de tissus montées sur glissière, raclez la section de la glissière à l'aide d'une lame de rasoir propre.
2. Ajoutez 300 µl d'huile minérale aux tubes d'échantillon. Vortexez pendant 10 secondes.
3. Chauffez les échantillons à 80 °C pendant 2 minutes. Placez les échantillons à température ambiante pendant la préparation du master mix.
4. Préparez un master mix de tampon de lyse, de Protéinase K et de Blue Dye comme illustré ci-dessous.

Réactions			
Réactif	Quantité/Réaction	(nombre à réaliser + 1)	Total
Tampon de lyse	224 µl	n + 1	224 × (n + 1) µl
Protéinase K	25 µl	n + 1	25 × (n + 1) µl
Blue Dye	1 µl	n + 1	1 × (n + 1) µl

5. Ajoutez 250 µl de master mix à chaque tube d'échantillon et vortexez pendant 5 secondes.
6. Centrifugez à 10 000 × g pendant 20 secondes pour séparer les couches. Si un agglomérat est présent dans la couche aqueuse (couche bleue inférieure), mélangez délicatement la phase aqueuse avec une pipette.
7. Transférez les tubes d'échantillon vers le bloc chauffant à 56 °C et laissez incuber pendant 30 minutes.

8. Choisissez l'un des temps d'incubation et l'une des températures ci-dessous :
  - a. **Méthode standard** : transférez les tubes d'échantillon vers le bloc chauffant à 80 °C et laissez incuber pendant 4 heures.
  - b. **Méthode facultative** : faites incuber l'échantillon une nuit à 70 °C pendant 14–18 heures.

**Remarque :** pour les volumes d'entrée d'échantillon inférieurs (moins de 0,1 mm<sup>3</sup>), l'incubation d'une nuit facultative à 70 °C peut ne pas être optimale. Utilisez la méthode standard de 4 heures à 80 °C si l'incubation d'une nuit ne parvient pas à purifier une concentration d'ADN suffisante pour les échantillons de volume d'entrée inférieurs.
9. Transférez les tubes d'échantillon sur la paillasse et laissez l'échantillon redescendre à température ambiante pendant 5 minutes.
10. Ajoutez 10 µl de RNase A à la phase aqueuse bleue de chaque tube d'échantillon. Mélangez en pipetant.
11. Incubez pendant 5 minutes à température ambiante (15–30 °C). Pendant cette incubation, préparez les cartouches comme indiqué à la Section 5.B.
12. Centrifugez à pleine vitesse dans une microcentrifugeuse pendant 5 minutes.
13. Transférez immédiatement la phase aqueuse bleue contenant l'ADN dans le puits n°1 d'une Maxwell® CSC DNA FFPE Cartridge.

#### 5.B. Préparation des Maxwell® CSC DNA FFPE Cartridges

1. Changez de gants avant de manipuler les Maxwell® FFPE Cartridges, les plongeurs CSC/RSC et les tubes d'élution. Les cartouches sont installées dans le ou les plateaux en dehors de l'appareil et dans le ou les plateaux contenant les cartouches. Les échantillons sont alors transférés dans l'appareil pour être purifiés. Placez chaque cartouche dans le plateau avec le puits n°1 (le plus grand puits de la cartouche) le plus éloigné des tubes d'élution (Figure 2). Appuyez sur la cartouche vers le bas pour bien la mettre en place. Veillez à ce que les deux extrémités de la cartouche soient bien en place dans le plateau. Retirez délicatement le joint afin de retirer tout le joint du haut de la cartouche. Veillez à ce que toute la bande d'étanchéité et tout résidu d'adhésif soient retirés de la cartouche.



**Mise en garde :** manipulez les cartouches avec précaution. Les bords d'étanchéité peuvent être coupants.

2. Placez un plongeur dans le puits n°8 de chaque cartouche.
3. Placez un tube d'élution vide à la position du tube d'élution pour chaque cartouche dans le ou les plateaux.

**Remarque :** utilisez uniquement les tubes d'élution fournis dans le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit. Les autres tubes d'élution ne sont pas forcément compatibles avec les appareils Maxwell® CSC Instrument et peuvent affecter les performances de purification de l'ADN.

### 5.B. Préparation des Maxwell® CSC DNA FFPE Cartridge (suite)

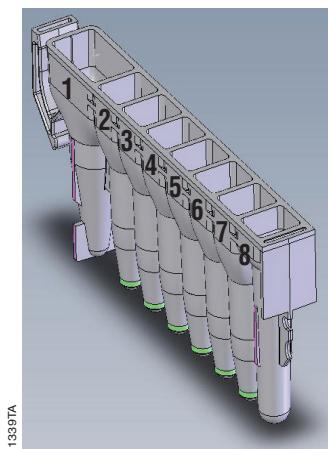
- Ajoutez 50 µl de Nuclease-Free Water au fond de chaque tube d'élution.

**Remarque :** utilisez uniquement la Nuclease-Free Water fournie dans le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit. L'utilisation d'autres tampons d'élution peut impacter la purification de l'ADN.

#### Notes de préparation des Maxwell® CSC DNA FFPE Cartridge



Les échantillons ou réactifs renversés sur toute partie du plateau doivent être nettoyés avec une solution d'eau et de détergent, puis une lingette ou un spray bactéricide et enfin de l'eau. N'utilisez de l'eau de Javel sur aucune partie de l'appareil.



#### Contenu du puits ajouté par l'utilisateur :

- Échantillon prétraité
- Plongeur CSC/RSC



## 6. Fonctionnement de l'appareil

La méthode Maxwell® CSC DNA FFPE pour le Maxwell® CSC Instrument peut être téléchargée depuis le site Web Promega : [www.promega.com/resources/software-firmware/maxwell-maxprep/maxwell-cscsoftware-firmware-methods/](http://www.promega.com/resources/software-firmware/maxwell-maxprep/maxwell-cscsoftware-firmware-methods/). La méthode Maxwell® CSC DNA FFPE pour le Maxwell® CSC 48 Instrument peut être téléchargée depuis le site Web Promega : [www.promega.com/resources/software-firmware/maxwell-maxprep/maxwell-csc-48-methods/](http://www.promega.com/resources/software-firmware/maxwell-maxprep/maxwell-csc-48-methods/)

1. Démarrez le Maxwell® Instrument et la tablette. Connectez-vous à la tablette et démarrez le logiciel Maxwell® en mode IVD en touchant deux fois l'icône sur le bureau. L'appareil réalise un autotest et place toutes les pièces mobiles en position de repos.
2. Sélectionnez **Démarrer** sur l'écran d'Accueil.
3. Scannez ou saisissez le code barres dans l'angle supérieur droit de l'étiquette du Maxwell® CSC DNA FFPE Kit et touchez **OK** pour sélectionner automatiquement la méthode à utiliser (Figure 3).

**Remarque :** le code barres de méthode du Maxwell® CSC DNA FFPE Kit est requis pour la purification de l'ADN sur les appareils Maxwell® CSC Instrument. L'étiquette du kit contient deux codes barres. Le code barres de la méthode est indiqué à la Figure 3. S'il n'est pas possible de scanner le code barres, contactez Promega Technical Services.



**Figure 3. Étiquette de kit indiquant le code barres à scanner.** Scannez le code barres affiché dans la zone rouge en haut à droite de l'étiquette du kit pour lancer un cycle de purification.

4. Sur l'écran « Configuration des cartouches », touchez les positions de cartouches pour sélectionner/désélectionner toute position à utiliser pour ce cycle d'extraction. Entrez toute information de suivi des échantillons requise et touchez le bouton **Poursuivre**.

**Remarque :** lors de l'utilisation du Maxwell® CSC 48 Instrument, touchez le bouton **Avance** ou **Recul** pour sélectionner ou désélectionner les positions des cartouches sur chaque plateau.

## 6. Fonctionnement de l'appareil (suite)

5. Une fois la porte ouverte, confirmez que tous les éléments de la liste de contrôle d'extraction ont été réalisés. Vérifiez que les échantillons prétraités ont été ajoutés au puits n°1 des cartouches, que les cartouches sont chargées sur l'appareil, que des tubes d'élution débouchés sont présents avec le tampon d'élution et que les plongeurs sont dans le puits n°8. Transférez le ou les plateaux contenant les cartouches préparées sur la plateforme de l'appareil Maxwell®.

**Insertion du plateau Maxwell® :** tenez le plateau par les côtés pour éviter de déplacer les cartouches. Vérifiez que le plateau est placé dans l'appareil Maxwell® avec les tubes d'élution le plus près de la porte. Inclinez l'arrière du plateau vers le bas et placez-le dans l'appareil de sorte que l'arrière du plateau repose contre l'arrière de la plateforme de l'appareil. Appuyez sur l'avant du plateau vers le bas pour bien installer le plateau sur la plateforme de l'appareil. Si vous avez des difficultés à installer le plateau sur la plateforme, vérifiez l'orientation correcte du plateau. Vérifiez que le plateau est à plat sur la plateforme de l'appareil et bien en place.

**Remarque :** vérifiez l'identifiant sur les plateaux Maxwell® à 24 positions afin de déterminer s'ils doivent être placés à l'avant ou à l'arrière de l'appareil.

6. Confirmez que l'ensemble du prétraitemennt indiqué a été réalisé et touchez **Démarrer** pour fermer la porte de l'appareil et lancer le traitement.

**Remarque :** lorsque vous utilisez un appareil Maxwell® à 48 positions, si le système Vision a été activé, les plateaux seront scannés lors du retrait de la porte. Toute erreur de configuration des plateaux (ex : plongeurs pas dans le puits n°8, tubes d'élution absents ou ouverts) entraîne un retour du logiciel à l'écran « Configuration des cartouches » et les positions qui posent problème sont repérées par un point d'exclamation dans un cercle rouge. Touchez le point d'exclamation pour obtenir une description de l'erreur et résoudre tous les états d'erreur. Touchez à nouveau le bouton **Démarrer** pour scanner à nouveau le plateau et lancer le cycle d'extraction.



**Avertissement :** risque de pincement.

7. L'appareil Maxwell® lance immédiatement le cycle de purification. L'écran affiche les étapes réalisées et la durée restante approximative du cycle.

### Remarques :

- a. Le bouton **Annuler** permet de mettre fin au cycle. Tous les échantillons d'un cycle abandonné seront perdus.
  - b. Si le cycle est abandonné avant la fin, il pourra vous être demandé de vérifier si les plongeurs sont encore chargés sur la barre de plongeurs. Si des plongeurs sont présents sur la barre, vous devez réaliser le **Nettoyage** lorsque cela vous est demandé. Si aucun plongeur n'est présent sur la barre, vous pouvez ignorer le **Nettoyage** lorsque cela vous est demandé. Les échantillons seront perdus.
8. Une fois le cycle terminé, l'interface utilisateur affiche un message indiquant que la méthode est terminée.

## Fin de cycle

9. Suivez les instructions à l'écran à la fin de la méthode pour ouvrir la porte. Vérifiez que les plongeurs sont situés dans le puits n°8 de la cartouche à la fin du cycle. Si les plongeurs ne sont pas retirés de la barre, suivez les instructions du manuel d'utilisation approprié à votre appareil Maxwell® (voir le Tableau 1) pour réaliser une procédure de **Nettoyage** afin d'essayer de décharger les plongeurs.
10. Bouchez et retirez les tubes d'élution contenant de l'ADN juste après le cycle pour éviter l'évaporation des éluats. Retirez le ou les plateaux Maxwell® de l'appareil.

**Remarque :** pour retirer le plateau de la plateforme de l'appareil, tenez-le par les côtés. Vérifiez que les échantillons sont retirés de l'appareil avant de réaliser un protocole désinfection aux UV pour éviter d'endommager les acides nucléiques purifiés. Les échantillons d'ADN peuvent être conservés jusqu'à une semaine à 4 °C et jusqu'à un mois à -20 °C.

-  11. Retirez les cartouches et les plongeurs du ou des plateaux et mettez-les au rebut comme déchets dangereux conformément aux procédures de votre établissement. Les cartouches, plongeurs et tubes d'élution sont à usage unique. Ne réutilisez pas les Maxwell® FFPE Cartridges, les plongeurs CSC/RSC ni les tubes d'élution.

## 7. Après la purification

Déterminez si l'échantillon d'ADN purifié présente un rendement conforme aux exigences de l'essai de diagnostic en aval approprié avant de l'utiliser. Les performances du kit ont été évaluées en fonction de la purification de l'ADN amplifiable. Les autres moyens de quantification, y compris l'absorbance ou la fixation du colorant fluorescent, peuvent ne pas être corrélés avec l'amplification (1). Les valeurs d'absorbance pour les échantillons FFPE purifiés peuvent surestimer le rendement. Nous recommandons d'utiliser d'autres méthodes pour déterminer le rendement (1).

## 8. Évaluation des performances analytiques

Les performances analytiques du Maxwell® CSC DNA FFPE Kit ont été évaluées sur le Maxwell® CSC Instrument avec des échantillons de tissus FFPE humains. Les performances équivalentes du Maxwell® CSC DNA FFPE Kit et du Maxwell® CSC 48 Instrument ont été démontrées dans le cadre du développement de cet appareil.

### 8.A. Amplificabilité

**Tableau 2. Amplificabilité de l'ADN purifié à partir de sections de tissus FFPE.** L'ADN a été purifié à partir de sections de tissus FFPE uniques de taille typique avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit avec des méthodes de prétraitement standard et d'une nuit. La quantité d'ADN extraite a été évaluée par PCR en temps réel ciblant la RNase P (102 bp) comme cible de quantification. L'amplification du gène de la transcriptase inverse de la télomérase (TERT ; 164 bp) a été mesurée comme une cible du gène non répétitive de plus grande taille afin d'évaluer la qualité de l'ADN. La mauvaise qualité des échantillons d'entrée a été constatée pour certains échantillons dont l'amplification a échoué car un échec similaire avait été constaté avec un kit concurrent afin de purifier l'ADN issu des échantillons. Les données des échantillons déterminés comme étant de mauvaise qualité ont été exclues de l'analyse. La concentration moyenne de l'ADN de chaque ensemble de répétitions est illustrée. Toutes les sections de tissus FFPE ont produit au moins 100 copies/ $\mu$ l de RNase P et étaient détectables pour la TERT lors du prétraitement avec les méthodes standard et d'une nuit.

**Tableau 2. Amplificabilité de l'ADN purifié à partir de sections de tissus FFPE. (suite)**

Tissu	Conditions de prétraitement	Échantillon 1		Échantillon 2		Échantillon 3	
		Concentration (copies/µl) ou Détection		Concentration (copies/µl) ou Détection		Concentration (copies/µl) ou Détection	
		RNase P	TERT	RNase P	TERT	RNase P	TERT
Poitrine*	Standard	439	Déetecté				
	Une nuit	273	DéTECTé				
Côlon*	Standard	1313	DéTECTé	2277	DéTECTé		
	Une nuit	983	DéTECTé	1050	DéTECTé		
(Esophage)*	Standard	366	DéTECTé	1314	DéTECTé		
	Une nuit	243	DéTECTé	755	DéTECTé		
Foie*	Standard	2472	DéTECTé	475	DéTECTé		
	Une nuit	2206	DéTECTé	434	DéTECTé		
Poumons	Standard	2939	DéTECTé	3006	DéTECTé	5217	DéTECTé
	Une nuit	1176	DéTECTé	1510	DéTECTé	3230	DéTECTé
Pancreas	Standard	570	DéTECTé	738	DéTECTé	110	DéTECTé
	Une nuit	454	DéTECTé	565	DéTECTé	114	DéTECTé
Prostate	Standard	936	DéTECTé	1003	DéTECTé	3064	DéTECTé
	Une nuit	829	DéTECTé	634	DéTECTé	1931	DéTECTé
Estomac	Standard	659	DéTECTé	548	DéTECTé	404	DéTECTé
	Une nuit	454	DéTECTé	245	DéTECTé	223	DéTECTé
Vessie	Standard	482	DéTECTé	421	DéTECTé	296	DéTECTé
	Une nuit	355	DéTECTé	331	DéTECTé	262	DéTECTé
Intestin grêle	Standard	741	DéTECTé	424	DéTECTé	1903	DéTECTé
	Une nuit	441	DéTECTé	389	DéTECTé	1070	DéTECTé
Utérus	Standard	2124	DéTECTé	3921	DéTECTé	4081	DéTECTé
	Une nuit	1556	DéTECTé	3117	DéTECTé	2532	DéTECTé

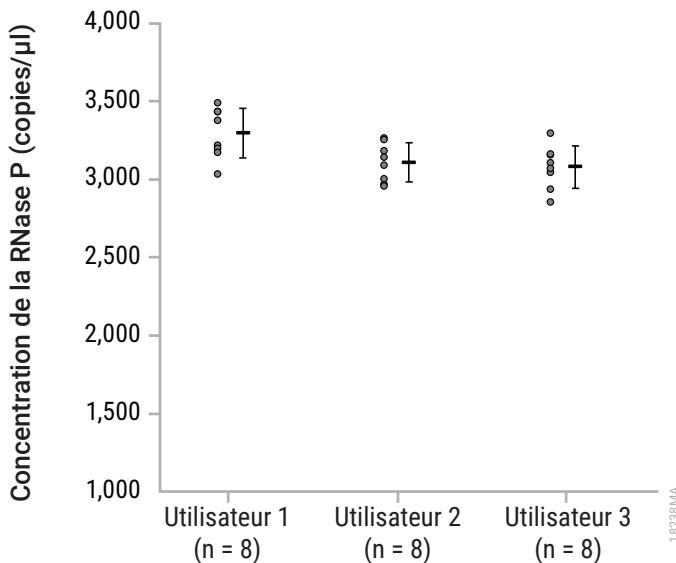
\*Des tissus de la poitrine issus d'un échantillon ont été testés. Des tissus du côlon, de l'œsophage et du foie issus de deux échantillons différents ont été testés. Pour tous les autres types de tissus, trois échantillons différents ont été testés. Les cellules du tableau sur fond gris foncé indiquent que les échantillons n'ont pas été testés.

### 8.A. Amplificabilité (suite)

**Tableau 3. Reproductibilité de l'amplification de l'ADN.** Trois utilisateurs distincts ont purifié l'ADN de trois sections de tissus FFPE de taille réduite avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit. L'ADN a été purifié à partir de sections de tissus du côlon et du foie de 0,02 mm<sup>3</sup> et 0,1 mm<sup>3</sup> selon la méthode de prétraitement standard. La concentration de l'ADN a été déterminée par qPCR en double avec une cible RNase P (102 bp), et la concentration moyenne de l'ADN pour chaque section de tissus et chaque type de tissu a été calculée pour chaque utilisateur. La concentration moyenne de l'ADN la plus basse entre tous les utilisateurs et tous les tissus pour 0,02 mm<sup>3</sup> et 0,1 mm<sup>3</sup> de tissus était respectivement de 45 copies/μl et de 260 copies/μl.

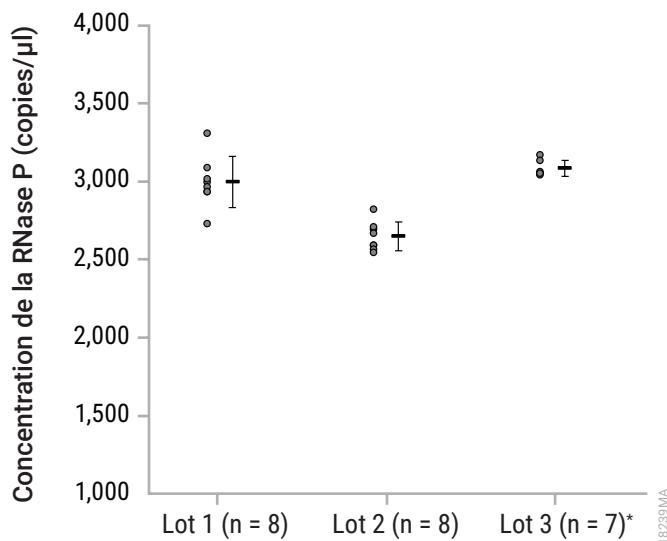
Tissu	ID utilisateur	Taille de l'échantillon de tissus	Concentration (copies/μl)
Côlon	1	0,10 mm <sup>3</sup>	332
		0,02 mm <sup>3</sup>	108
	2	0,10 mm <sup>3</sup>	445
		0,02 mm <sup>3</sup>	188
	3	0,10 mm <sup>3</sup>	383
		0,02 mm <sup>3</sup>	45
Foie	1	0,10 mm <sup>3</sup>	401
		0,02 mm <sup>3</sup>	54
	2	0,10 mm <sup>3</sup>	307
		0,02 mm <sup>3</sup>	73
	3	0,10 mm <sup>3</sup>	260
		0,02 mm <sup>3</sup>	68

## 8.B. Reproductibilité



**Figure 4. La reproductibilité de la purification de l'ADN d'un utilisateur à l'autre a été caractérisée par trois utilisateurs qui ont purifié l'ADN de sections en série d'un échantillon de tissus de poitrine FFPE.** Les éluats ont été amplifiés par qPCR avec une cible RNase P (102 bp) et les concentrations moyennes d'ADN et les valeurs CV intracycle et entre cycles ont été calculées. Les valeurs CV intracycle étaient de 4,9 % (utilisateur 1), 4,0 % (utilisateur 2) et 4,5 % (utilisateur 3), et la valeur CV entre cycles pour les trois utilisateurs était de 5,3 %, ce qui démontre la reproductibilité de la purification de l'ADN par chaque utilisateur et entre plusieurs utilisateurs. Pour chaque ensemble de données, les points sur la gauche représentent des valeurs d'échantillons individuels, tandis que la moyenne avec l'écart-type apparaît sur la droite.

### 8.B. Reproductibilité (suite)



**Figure 5. La reproductibilité de la purification de l'ADN d'un lot à l'autre a été caractérisée par un seul utilisateur purifiant l'ADN issu de sections en série d'un échantillon de tissus de poitrine FFPE avec trois lots du Maxwell® CSC DNA FFPE Kit.** Les éluats ont été amplifiés par qPCR avec une cible RNase P (102 bp) et les concentrations moyennes d'ADN ont été calculées, ce qui démontre la reproductibilité de la purification de l'ADN avec chaque lot. Pour chaque ensemble de données, les points sur la gauche représentent des valeurs d'échantillons individuels, tandis que la moyenne avec l'écart-type apparaît sur la droite. \*Le test des valeurs aberrantes de Dixon autorisait l'exclusion d'une répétition dans cet ensemble comme valeur aberrante au seuil de confiance de 95 %. Cette répétition a été exclue de l'analyse.

### 8.C. Inhibition (substances interférentes)

**Tableau 4. Analyse de l'ADN purifié pour des substances interférentes.** L'ADN a été purifié à partir d'une ou deux sections de tissus du côlon et du foie FFPE montées sur des glissières avec des méthodes de prétraitement standard et d'une nuit avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit. Pour chaque ADN purifié, deux ensembles d'amplifications ont été assemblés avec 2 µl et 8 µl d'ADN, et la différence entre les valeurs  $C_q$  ( $\Delta C_q$ ) des deux entrées d'ADN a été calculée. Un  $\Delta C_q$  de 2 serait attendu pour une différence de fois quatre d'entrée d'ADN. Toutes les conditions testées ont produit des valeurs  $\Delta C_q$  de  $2 \pm 1$  cycle, ce qui démontre que toute substance interférente potentielle copurifiée avec l'ADN n'a pas interféré avec l'amplification en aval.

Type de tissu FFPE	Conditions de prétraitement	Nombre de sections de tissu FFPE	RNase P		
			Moyenne 2 µl $C_q$ (cycles)	Moyenne 8 µl $C_q$ (cycles)	Moyenne $\Delta C_q$ (cycles)
Côlon	Standard	1 (n = 3)	26,4	24,5	1,9
		2 (n = 3)	25,7	23,6	2,0
	Une nuit	1 (n = 2)	28,3	26,0	2,3
		2 (n = 3)	27,5	25,0	2,4
Foie	Standard	1 (n = 3)	25,5	23,5	2,0
		2 (n = 3)	24,5	22,6	1,9
	Une nuit	1 (n = 3)	26,8	24,7	2,1
		2 (n = 3)	25,8	23,7	2,0

### 8.D. Contamination croisée

De l'ADN a été extrait de huit sections de répétitions d'un échantillon de tissu de poumon FFPE et huit témoins négatifs (eau) avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit. Des Maxwell® CSC Cartridges contenant les échantillons FFPE prétraités ou le témoin négatif (eau) ont été traitées sur différentes positions de la plateforme dans le Maxwell® CSC Instrument. Afin de déterminer toute contamination croisée éventuelle entre les échantillons, les éluats obtenus ont été testés en double par qPCR ciblant le gène RNase P (102 bp) pour détecter toute contamination de l'ADN dans les témoins négatifs à partir d'échantillons FFPE voisins. Aucun ADN contaminant n'a été détecté dans aucun des témoins négatifs.

## 9. Évaluation des performances cliniques

Les performances cliniques du Maxwell® CSC DNA FFPE Kit ont été évaluées par un laboratoire clinique externe avec des échantillons de tissus FFPE humains et le Maxwell® CSC Instrument.

### 9.A. Amplificabilité de l'ADN

**Tableau 5. Amplificabilité de l'ADN extrait à partir de tissus FFPE.** De l'ADN extrait à partir d'un total de 21 échantillons de tissus FFPE avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit et le Maxwell® CSC Instrument a été amplifié dans un essai qPCR ciblant le gène c-KIT de type sauvage avec le test COLD-PCR C-KIT D816V du laboratoire d'essai. De l'ADN extrait à partir des mêmes échantillons selon la méthode de purification des acides nucléiques standard du laboratoire (méthode de référence du laboratoire) a été amplifié dans le même essai à des fins de comparaison. La différence de valeurs  $C_q$  ( $\Delta C_q$ ) entre l'ADN purifié à partir du même échantillon de tissus FFPE avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit et la méthode de référence du laboratoire est illustrée. Il existe une corrélation entre l'amplificabilité de l'ADN purifié avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit et la méthode de référence du laboratoire.

Échantillon de tissu FFPE	Maxwell® CSC DNA FFPE Kit	$C_q$ moyen	Méthode de référence du laboratoire	$\Delta C_q$
1	26,57		27,84	-1,27
2	26,65		27,34	-0,68
3	24,16		25,23	-1,07
4	27,05		28,66	-1,62
5	24,64		25,11	-0,47
6	24,54		26,02	-1,48
7	24,25		25,00	-0,75
8	24,59		24,75	-0,16
9	25,07		25,44	-0,37
10	25,78		25,49	0,29
11	24,85		24,80	0,05
12	27,06		25,17	1,89
13	24,40		24,55	-0,15
14	23,51		24,65	-1,14
15	24,25		24,04	0,22
16	27,13		29,22	-2,09
17	27,03		28,70	-1,68
18	29,34		28,76	0,58
19	26,58		28,54	-1,96
20	26,66		27,70	-1,04
21	26,60		28,20	-1,60

## 9.B. Reproductibilité

**Tableau 6. Reproductibilité des résultats entre testeurs.** Afin de démontrer l'homogénéité des résultats entre testeurs dans l'environnement utilisateur typique, de l'ADN extrait de sept échantillons de tissus FFPE différents par deux testeurs distincts avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit a été amplifié par qPCR ciblant le gène c-KIT de type sauvage avec le test COLD-PCR C-KIT D816V du laboratoire de test. Des éluats issus du même échantillon de tissu FFPE ont été testés dans le même essai afin de réduire autant que possible l'effet de la variabilité des essais qPCR sur les résultats. La différence entre les valeurs  $C_q$  ( $\Delta C_q$ ) obtenue avec de l'ADN purifié à partir du même échantillon de tissu FFPE par deux testeurs différents est illustrée dans le tableau. Le  $\Delta C_q$  entre testeurs était compris entre 0,12–0,97, ce qui démontre la reproductibilité de l'ADN amplifié par plusieurs testeurs.

Échantillon de tissu FFPE	Valeur $C_q$ moyenne		
	Testeur 1	Testeur 2	$\Delta C_q$
1	26,57	27,54	0,97
2	26,65	26,53	0,12
3	24,16	24,39	0,23
4	27,05	26,64	0,40
5	24,64	24,29	0,36
6	24,54	24,47	0,07
7	24,25	24,06	0,20

## 9.C. Contamination croisée

La contamination croisée entre échantillons pendant l'extraction de l'ADN avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit dans l'environnement utilisateur typique a été évaluée. L'extraction de l'ADN avec le Maxwell® CSC DNA FFPE Kit a été réalisée avec huit échantillons de tissus FFPE différents et huit témoins négatifs (eau) dans le même cycle de l'appareil. Des Maxwell® CSC Cartridges contenant des échantillons de tissus FFPE ou des témoins négatifs (eau) ont été traitées sur différentes positions adjacentes de la plateforme dans le Maxwell® CSC Instrument. Les éluats obtenus ont été testés en double par qPCR ciblant le gène c-KIT de type sauvage avec le test COLD-PCR C-KIT D816V du laboratoire de test afin de détecter tout ADN contaminant dans les témoins négatifs à partir d'échantillons FFPE adjacents. Aucun ADN contaminant n'a été détecté dans les huit témoins négatifs.

## 10. Dépannage

Pour les questions qui ne sont pas abordées ici, contactez votre succursale ou distributeur local Promega. Les coordonnées sont disponibles à l'adresse : [www.promega.com](http://www.promega.com) E-mail : [techserv@promega.com](mailto:techserv@promega.com)

Symptômes	Causes et commentaires
Concentration d'ADN plus basse que prévu dans l'éluat (une section FFPE typique devrait produire de l'ADN amplifiable en fonction de la taille des tissus, de la cellularité, de la condition de fixation de la formaline et de la manipulation.)	Les performances du kit ont été évaluées en isolant l'ADN d'échantillons de tissus FFPE de taille allant jusqu'à 2,0 mm <sup>3</sup> . Il n'a pas été conçu pour les volumes d'échantillon supérieurs à 2,0 mm <sup>3</sup> . N'utilisez que des sections qui respectent la spécification de taille.
	Ce kit a été conçu pour être utilisé avec des échantillons de tissus FFPE. Il n'a pas été conçu pour être utilisé avec des échantillons de tissus non FFPE, tels que les échantillons de tissus frais ou congelés. Les températures et durées d'incubation ont été testées pour garantir un rendement optimal.
	Le kit n'a pas été conçu pour être utilisé avec des échantillons de tissus qui ont été préparés avec d'autres fixatifs que la formaline neutre à 10 %. Vérifiez auprès du laboratoire de pathologie ou du fournisseur qu'aucun autre fixatif n'a été utilisé.
	Nous n'accordons aucune garantie pour les sections ou glisières souillées. Réalisez à nouveau la purification avec une section ou glissière non souillée.
	Les performances du kit ont été évaluées en fonction de la purification de l'ADN amplifiable. Les autres moyens de quantification, y compris l'absorbance ou la fixation du colorant fluorescent, peuvent ne pas être corrélés avec l'amplification. Utilisez une quantification de l'amplification pour évaluer la purification.
	Pour les volumes d'entrée d'échantillon inférieurs (moins de 0,1 mm <sup>3</sup> ), l'incubation d'une nuit facultative à 70 °C peut ne pas être optimale. Utilisez la dérétticulation standard de 4 heures à 80 °C si l'incubation d'une nuit ne parvient pas à purifier une concentration d'ADN suffisante pour les échantillons de volume d'entrée inférieurs.

Symptômes	Causes et commentaires
Qualité plus basse que prévu (l'éluat contient de l'ADN hautement fragmenté ou des inhibiteurs des essais ultérieurs).	La section de tissus utilisée pour la purification peut inclure de l'ADN fragmenté en raison des conditions de fixation de la formaline ou de la manipulation. Si l'ADN est fragmenté avant la purification pour l'extraction, l'ADN fragmenté sera purifié avec ce kit. Recommencez avec une section adjacente pour évaluer s'il y a un problème avec la section ou avec le processus.
	Certains essais reposant sur l'amplification sont particulièrement sensibles aux inhibiteurs. Les contrôles ultérieurs devraient identifier la présence d'un inhibiteur de l'amplification dans l'éluat. L'utilisateur doit vérifier la compatibilité de ce produit avec les essais ultérieurs.

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif qui a entraîné, ou pourrait entraîner, le décès ou une grave blessure d'un utilisateur ou patient doit être signalé immédiatement au fabricant. Les utilisateurs installés dans l'Union Européenne devraient également signaler tout incident grave à l'Autorité Compétente de l'État Membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

## 11. Références

1. Bonin, S. *et al.* (2010) Multicentre validation study of nucleic acids extraction from FFPE tissues. *Virchows Arch.* **457**, 309–17.

## 12. Produits apparentés

### Instruments et accessoires

Produit	Taille	Cat.#
Maxwell® CSC Instrument*	1 chacun	AS6000
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	1 chacun	SP6019
Maxwell® CSC 48 Instrument*	1 chacun	AS8000
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	1 chacun	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	1 chacun	AS8402
Microtube, 1,5 ml	1 000/pack	V1231

\*Pour diagnostic in vitro. Ce produit n'est disponible que dans certains pays.

### Kits de réactifs Maxwell® CSC

Visitez [www.promega.com](http://www.promega.com) pour une liste des kits de purification Maxwell® CSC disponibles.

### **13. Récapitulatif des modifications**

Les modifications suivantes ont été apportées lors de la révision de ce document datant d'octobre 2022 :

1. La Section 3 a été mise à jour et s'intitule désormais Destination/Usage prévu du produit.
2. Les Sections 8 et 9 ont été ajoutées.
3. Le document a été mis à jour pour la conformité à la réglementation (UE) 2017/746 sur les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

<sup>(a)</sup>Numéro de brevet américain 7 329 488 et numéro de brevet coréen 100483684.

© 2013–2022 Promega Corporation. Tous droits réservés.

Maxwell est une marque déposée de Promega Corporation.

Les produits peuvent être couverts par des brevets publiés ou en attente d'approbation ou peuvent présenter certaines limites. Veuillez consulter notre site Web pour plus d'informations.

Tous les prix et spécifications peuvent être modifiés sans préavis.

Les allégations concernant les produits peuvent être modifiées. Veuillez contacter Promega Technical Services ou accéder au catalogue en ligne de Promega pour bénéficier des informations les plus récentes sur les produits Promega.