

Mentype[®] DigitalQuant

Manuel

RUO

Uniquement pour la recherche. Ne pas utiliser dans les procédures de diagnostic.

DGQHB01v2fr

11.04.2025

REF

45-02xx1-0025*

LOT

Code du lot



BIOTYPE GmbH
Moritzburger Weg 67
01109 DRESDEN
GERMANY

Site web: www.biotype.de

Courriel: support@biotype.de

Commande: sales@biotype.de

* xx - définit le numéro de commande spécifique au locus



Avis de modification

Veillez noter les adaptations suivantes par rapport à la version précédente du manuel:

Code du document	Changements	Date
DGQHB01v1fr	Version initiale	13.02.2025
DGQHB01v2fr	Nouveau numéro d'article pour le contrôle <i>DIP Positive Control</i> Inclusion du flux de travail pour le système QIAcuity Digital PCR	11.04.2025

Pour toute autre question, veuillez nous contacter

au +49 351 8838 400 ou

support@biotype.de

Contenu

Description du produit	4
Résumé et explication	4
Matériel fourni	5
Stockage et manipulation des réactifs	6
Matériel et dispositifs généraux requis mais non fournis	6
Équipement général de laboratoire	6
Réactifs et kits généraux	7
Spécimens et échantillons d'essai	7
Avertissements et précautions	7
Procédure générale	8
Préparation de l'échantillon	8
Préparation des échantillons de contrôle	9
En option: Détermination de l'état allélique	9
Notes sur la quantification	10
Procédure de droplet digital™ PCR (ddPCR™ de Bio-Rad)	11
Matériel spécifique requis mais non fourni	11
Dispositif expérimental	12
Analyse des données	18
Procédure pour Absolute Q (Thermo Fisher Scientific)	20
Dispositif expérimental	21
Analyse des données	23
Procédure pour le système QIAcuity Digital PCR (Qiagen)	26
Matériel spécifique requis mais non fourni	26
Dispositif expérimental	27
Analyse des données	29
Calcul du rapport absolu d'ADN	31
Caractéristiques et disponibilité des tests Mentype® DigitalQuant	32
Contrôle de la qualité	34

Assistance technique	34
Références.....	34
Limites d'utilisation	35
Informations sur les commandes	36
Marques et clauses de non-responsabilité	38
Explication des symboles.....	39

Description du produit

Les kits de test Mentype® DigitalQuant ont été développés pour la quantification absolue des proportions d'ADN à partir d'échantillons mixtes.

Uniquement pour la recherche. Ne pas utiliser dans les procédures de diagnostic.

Le kit de test ne doit être utilisé que par des professionnels formés aux techniques de biologie moléculaire et, en particulier, à la PCR numérique

Résumé et explication

L'approche Mentype® DigitalQuant utilise la technologie PCR numérique très sensible qui permet une quantification absolue des échantillons d'ADN. La particularité de la PCR numérique (dPCR) est la répartition de l'échantillon en une pléthore de compartiments. Chaque compartiment représente une cuve de réaction séparée contenant des nanolitres de l'échantillon en question. Pendant le cycle thermique, chaque compartiment fonctionne comme une chambre d'amplification PCR distincte. En fonction du nombre de copies des molécules d'ADN cibles réparties dans les compartiments (zéro, une ou plusieurs copies), une multitude de réplicats est générée dans chaque cycle de PCR. Grâce aux statistiques de Poisson, le nombre absolu de copies de départ peut être déterminé avec une grande précision. Après le cycle thermique, chaque compartiment est automatiquement analysé et déterminé comme fraction positive ou négative. Étant donné que la PCR numérique utilise la détection du point final du produit d'amplification, les courbes d'étalonnage ne sont pas nécessaires.

Les tests Mentype® DigitalQuant ont été développés pour analyser quantitativement les loci DIP (polymorphismes de délétion et d'insertion) identifiés. Ces tests représentent un ensemble de 29 allèles DIP différents (INDELs) et sont fournis sous forme de mélanges duplex, soit en combinaison avec la β -globine comme référence active (REF), soit avec SRY comme marqueur spécifique du chromosome Y. En outre, une combinaison SRY/REF est fournie comme test. En outre, une combinaison SRY/REF est fournie en tant qu'essai.

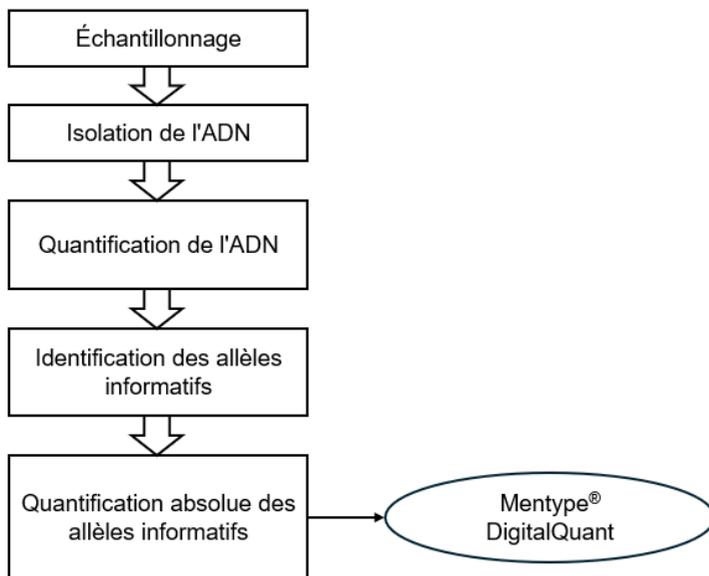


Figure 1 De l'échantillon au résultat avec Mentype® DigitalQuant

Ainsi, tous les marqueurs DIP spécifiques (voir [Tableau 18](#)) sont marqués avec FAM. En conséquence, la référence active (REF) et les marqueurs spécifiques du chromosome Y (SRY) sont détectés dans le canal HEX (pour le système Absolute Q, le canal VIC est utilisé). Tous les essais ont été conçus pour fonctionner avec les mêmes paramètres et permettre l'analyse parallèle de plusieurs marqueurs DIP en une seule fois.

Matériel fourni

Les réactifs suivants sont inclus pour effectuer jusqu'à 25 réactions avec le kit Mentype® DigitalQuant:

Tableau 1 Contenu des kits Mentype® DigitalQuant

Composant	Réactif	Couleur de la casquette	Volume par kit	Stockage
Nuclease-Free Water	Eau exempte de nucléase	Bleu clair	1 x 1,5 mL	-25 °C à -15 °C, à l'abri de la lumière
Mentype® DigitalQuant Primer Mix	Mentype® DigitalQuant Primer Mix	Rouge	1 x 63 µL	

NOTE



Veillez noter que la taille de l'emballage décrit le nombre d'essais sans tenir compte du nombre de contrôles requis ou de l'excédent nécessaire pour le pipetage.

Stockage et manipulation des réactifs

Le kit est expédié sur de la glace sèche. Les composants du kit doivent arriver congelés.

Veillez vérifier que le kit est complet dès sa réception. N'utilisez pas de kits qui ont été décongelés à l'arrivée. Si un ou plusieurs composants ne sont pas congelés, ou si les tubes ou l'emballage ont été compromis pendant le transport, la performance ne peut pas être garantie.

Conserver tous les composants entre -25 °C et -15 °C, à l'abri de la lumière

La date de péremption du kit est indiquée sur l'étiquette de la boîte du kit. Ne pas dépasser un nombre de 10 cycles de congélation-décongélation.

Matériel et dispositifs généraux requis mais non fournis

Équipement général de laboratoire

- Centrifugeuse de bureau avec rotor pour tubes de réaction de 2 mL
- Centrifugeuse avec rotor pour plaques de microtitration
- Mélangeur à vortex
- Pipettes calibrées et réglables avec pointes filtrantes étanches aux aérosols.
- Approprié (selon le fabricant de l'appareil) 200 µL Plaques de réaction à 96 puits avec feuille appropriée , qualité PCR
- Portoirs adaptés aux tubes de 2 mL
- Support de refroidissement adapté aux tubes de 2 mL
- Gants jetables non poudrés
- Spectrophotomètre NanoDrop™ ou Fluoromètre Qubit
- Poste de travail PCR ou banc propre

NOTE

Tout le matériel à utiliser pour la PCR doit être de qualité appropriée (sans ADN et pour la biologie moléculaire). Veuillez vous assurer que tous les instruments utilisés ont été installés, calibrés, vérifiés et entretenus conformément aux instructions et recommandations du fabricant.

Réactifs et kits généraux

Tableau 2 Réactifs et kits nécessaires, mais non fournis

Réactif	Fournisseur	Numéro de commande
DIP Positive Control, 20 réactions	BIOTYPE GmbH	27-13201-0100
QIAamp DNA Blood Mini Kit, 50 réactions	Qiagen	51104
NucleoSpin Blood L Kit, 20 réactions	Macherey-Nagel	740954.20

Spécimens et échantillons d'essai

L'échantillon suivant a été vérifié à l'aide du kit Mentype® DigitalQuant:

- ADN extrait d'échantillons de sang veineux périphérique
- ADN extrait de la moelle osseuse

Avertissements et précautions

- Lisez attentivement ce manuel avant d'utiliser le produit.
- Lisez les fiches de données de sécurité (SDS) pour tous les produits BIOTYPE, qui sont disponibles via <https://www.biotype.de/en/sicherheitsdatenblatter> ou sur demande. Veuillez contacter les fabricants respectifs pour obtenir des copies des fiches de données de sécurité pour tout réactif supplémentaire nécessaire.
- Les composants de kits de lots différents ne doivent pas être mélangés.

- L'aliquotage des composants du kit dans d'autres récipients de réaction n'est pas autorisé.
- L'utilisation de ce produit est limitée au personnel spécialement instruit et formé aux techniques de PCR.
- Avant la première utilisation, vérifiez que le produit et ses composants ne sont pas endommagés:
 - Intégrité
 - Exhaustivité en ce qui concerne le nombre, le type et le remplissage (voir chapitre Matériel fourni)
 - Étiquetage correct
 - État à l'arrivée (les composants sont gelés).
- N'utilisez pas un kit dont la date de péremption est dépassée.
- Éliminez l'échantillon et les déchets de l'analyse conformément aux règles de sécurité locales.
- Tous les instruments utilisés ont été installés, étalonnés, vérifiés et entretenus conformément aux instructions et recommandations du fabricant.

Procédure générale

Préparation de l'échantillon

Échantillonnage et extraction de l'ADN

Ce test est destiné à l'utilisation d'ADN extrait d'échantillons de sang périphérique et de moelle osseuse. L'utilisation d'autres échantillons (exemple des cellules triées) doit être validée indépendamment par l'utilisateur.

Pour l'extraction de l'ADN, il convient d'utiliser les kits disponibles dans le commerce pour l'isolement de l'ADN génomique. Les kits suivants sont recommandés pour l'extraction de l'ADN:

- Kit QIAamp DNA Blood Mini (Qiagen)
- Kit NucleoSpin Blood L (Macherey-Nagel)

L'ADN doit être quantifié directement après l'extraction à l'aide du spectrophotomètre NanoDrop. L'ADN concentré peut être ajusté à la concentration requise par dilution avec un tampon TE 1x.

Stockage de l'ADN

Conserver les échantillons d'ADN entre -25 °C et -15 °C. Les échantillons d'ADN non dilués peuvent être conservés pendant 4 semaines entre 2 °C et 8 °C ou entre -25 °C et -15 °C pour un stockage à long terme.

Préparation des échantillons de contrôle

Contrôle positif (PC)

Décongeler le contrôle positif DIP (DPC, vendu séparément), l'homogénéiser par un léger vortex suivi d'une brève centrifugation.

Appliquer le DPC non dilué au lieu d'un échantillon.

Pas de contrôle de gabarit (NTC)

Appliquer l'eau exempte de nucléase incluse dans le kit comme contrôle sans matrice (NTC) au lieu d'un échantillon.

En option: Détermination de l'état allélique

Si le statut des allèles des loci informatifs n'est pas connu, il doit être déterminé avant de calculer les proportions d'ADN. Pour ce faire, analyser l'échantillon initial avec le marqueur informatif correspondant Mentype® DigitalQuant. Il est recommandé d'utiliser 10 à 25 ng d'ADN dans la réaction. Après l'analyse de l'échantillon initial, le statut de l'allèle est calculé.

Si le rapport en pourcentage entre la concentration (copies/μL) dans le canal FAM (AOI, allèles d'intérêt, loci DIP ou SRY) et la concentration (copies/μL) dans le canal HEX ou VIC (REF) est inférieur à 65 %, l'AOI est hétérozygote.

Si le rapport est supérieur à 65 %, il s'agit d'un marqueur homozygote. Les formules de calcul qui en résultent pour la quantification se trouvent dans [Tableau 13](#) - [Tableau 16](#)

$$\text{Ratio [\%]} = \frac{(100 * \text{conc}(\text{copies}/\mu\text{L}) \text{ AOI})}{\text{conc}(\text{copies}/\mu\text{L}) \text{ REF}}$$

Notes sur la quantification

En général, la quantification à l'aide de Mentype® DigitalQuant est calculée par le rapport entre la concentration du locus DIP informatif (FAM, concentration (copies/ μ L)) et la concentration de REF ou SRY (HEX ou VIC, concentration (copies/ μ L)) dans un test duplex.

NOTE



Pour une analyse d'ADN statistiquement fiable et robuste, il est recommandé d'analyser au moins 2 et, dans l'idéal, 3 loci informatifs.

Procédure de droplet digital™ PCR (ddPCR™ de Bio-Rad)

Matériel spécifique requis mais non fourni

Réactifs et consommables

Tableau 3 Réactifs, instruments et consommables spécifiques pour la ddPCR™ (Bio-Rad)

Equipement	Fournisseur	Numéro de commande
2x ddPCR™ Supermix for Probes (No dUTP), 5 x 1 mL	Bio-Rad Laboratories	1863024
FastDigest EcoRI, 800 réactions	ThermoFisher Scientific	FD0274
QX200™ Droplet Generator	Bio-Rad Laboratories	17005227
PX1 PCR Plate Sealer	Bio-Rad Laboratories	17005226
QX200™ Droplet Reader	Bio-Rad Laboratories	17005228
Droplet Generation Oil for Probes, 10 x 7 mL	Bio-Rad Laboratories	1863005
ddPCR™ Droplet Reader Oil, 2 x 1 L	Bio-Rad Laboratories	17005221
DG8™ Cartridge Holder, 1x	Bio-Rad Laboratories	1863051
DG8™ Cartridges for QX200™/QX100™ Droplet Generator, 24x	Bio-Rad Laboratories	17005222
DG8™ Gaskets for QX200™/QX100™ Droplet Generator, 24x	Bio-Rad Laboratories	17005223
Pierceable Foil Heat Seals, 100x	Bio-Rad Laboratories	17005225
ddPCR™ 96-Well Plates, semi-skirted, 25x	Bio-Rad Laboratories	17005224
ddPCR™ Buffer Control for Probes, 2 x 4,5 mL	Bio-Rad Laboratories	1863052
96-well PCR foil	Plusieurs	Variable

Instruments et logiciels

Le kit de test a été validé à l'aide du système PCR Bio-Rad QX100™ et QX200™ Droplet Digital™ et du thermocycleur suivant:

- Applied Biosystem GeneAmp® PCR System 9700 Aluminium et GeneAmp® PCR System 9700 Silver
- Eppendorf Mastercycler ep-S et Mastercycler nexus
- Biometra T1
- Bio-Rad DNA Engine PTC-200

NOTE



L'application de Mentype® DigitalQuant sur d'autres instruments doit être vérifiée sous la responsabilité de l'utilisateur.

Dispositif expérimental

Préparation du mélange maître PCR

Préparer les composants suivants et décongeler les réactifs selon les besoins et les homogénéiser. Les réactifs doivent ensuite être brièvement centrifugés (environ 10 s). Maintenir l'enzyme sur une grille de refroidissement pendant l'utilisation.

- Nuclease-Free Water (bouchon bleu clair, inclus dans le kit)
- Mentype® DigitalQuant Primer Mix (capuchon rouge, inclus dans le kit)
- Enzyme EcoRI
- 2x ddPCR™ Supermix for Probes (no dUTP)

NOTE



Veuillez noter la durée de conservation du 2x ddPCR™ Supermix for Probes (No dUTP) après ouverture, c'est-à-dire que doit être stocké et utilisé pendant un maximum de 2 semaines à 4 °C après décongélation.

Préparer le master mix PCR conformément à [Tableau 4](#) . Lors du calcul du volume de master mix requis, prendre en compte le nombre de réactions de contrôle positif et négatif. Ajouter une ou deux réactions à ce nombre pour compenser les erreurs de pipetage.

Tableau 4 Configuration du mélange maître PCR

Composant	Volume par réaction
Nuclease-Free Water	2,5 µL
2x ddPCR™ Supermix for probes (No dUTP)	10,0 µL
Mentype® DigitalQuant Primer Mix	2,0 µL
FastDigest EcoRI enzyme	0,5 µL
Volume master mix/puits	15,0 µL
Modèle d'ADN (10 ng/µL) ou échantillons de contrôle	5,0 µL

NOTE



La limite de détection et la sensibilité de l'analyse Mentype® DigitalQuant dépendent de la qualité et de la quantité d'ADN utilisé. Le mélange d'amorces spécifiques de l'allèle est optimisé pour une spécificité et une sensibilité maximales (0,1 %) pour l'utilisation de 50 ng d'ADN total purifié.

Mélanger doucement le master mix PCR sans générer de bulles, puis procéder à une brève centrifugation. Aliquoter 15,0 µL du master mix PCR dans des tubes PCR appropriés de 200 µL et ajouter les échantillons appropriés. Fermer les tubes et mélanger délicatement. Centrifuger brièvement les tubes.

Application de modèles d'ADN et de contrôles

Ajouter 5,0 µL des types d'échantillons suivants aux tubes préparés contenant les mélanges maîtres PCR.

NTC: ajouter 5,0 µL d'eau exempte de nucléase au lieu d'un échantillon.

Échantillon d'ADN: ajouter 5,0 µL des échantillons d'ADN préparés et dilués (10 ng/µL)

PC: ajouter 5,0 µL de contrôle positif DIP non dilué (DPC) au lieu d'un échantillon.

Digestion de restriction

Les tests BIOTYPE Mentype® Digital sont spécifiques de la digestion de restriction EcoRI.

Il est recommandé de procéder à une digestion de restriction de la matrice d'ADN à analyser avant la génération des gouttelettes. La digestion peut être effectuée directement dans la cuve de réaction PCR (Tableau 4). Utiliser max. 1 µL d'enzyme FastDigest EcoRI pour digérer jusqu'à 1 µg d'ADN génomique dans un volume total de 20 µL. Pour l'utilisation de l'enzyme Non-FastDigest EcoRI, il est recommandé d'utiliser 2 unités par réaction de 20 µL.

Après avoir préparé les tubes PCR avec la PCR master mix, l'ADN de l'échantillon et les contrôles, les fermer, mélanger soigneusement et centrifuger brièvement.

Incuber ensuite le mélange dans un thermocycleur pendant 10 minutes à 37 °C pour la digestion de restriction.

Droplet Digital™ PCR - génération de gouttelettes

Placer la cartouche DG8 dans le porte-cartouche. Pipeter chaque échantillon (20 µL du mélange PCR digéré) de haut en bas 3 fois avant de transférer l'échantillon dans les puits d'échantillonnage de la cartouche DG8 (voir également les directives générales de Bio-Rad pour la génération de gouttelettes).

Commencer par pipeter le mélange PCR digéré. Transférer les échantillons dans la cartouche DG8 de gauche à droite. Les 8 puits d'échantillons de la cartouche DG8 doivent être remplis soit d'échantillons, soit de 1x Bio-Rad Buffer Control (non fourni).

Après avoir transféré tous les échantillons, verser 70 µL d'huile de génération de gouttelettes (DG) dans les puits de la ligne de fond. Les 8 puits doivent contenir de l'huile DG.

Accrocher le joint sur le porte-cartouche en utilisant les trous des deux côtés.

NOTE

Lors du remplissage de la cartouche DG8, utilisez toujours le support fourni. L'huile DG ne peut être distribuée dans les 8 puits de la cartouche DG8 que lorsque les 8 puits ont été remplis d'échantillon.

Placer la cartouche DG8 remplie dans le générateur de gouttelettes QX100/QX200 et démarrer la génération de gouttelettes.

Après la génération de gouttelettes, les puits supérieurs de la cartouche contiennent des échantillons de gouttelettes. Transférer 40 µL des échantillons de gouttelettes dans une plaque PCR à 96 puits. Utiliser une pipette à 8 canaux pour gagner du temps.

Procéder de la même manière pour tous les échantillons.

NOTE

Dès la formation des gouttelettes, manipuler les échantillons avec précaution (pas de vortex, pas d'essorage).

Sceller la plaque PCR à 96 puits avec la feuille d'aluminium thermoscellable et placer la plaque dans le scelleur de plaque PCR PX1. Se référer également aux instructions de Bio-Rad dans le manuel du PX1 PCR Plate Sealer .

Amplification PCR

Une fois le thermoscellage terminé, placer la plaque PCR à 96 puits dans un thermocycleur et lancer le programme conformément à [Tableau 5](#). Utiliser un couvercle chauffant et régler à 105 °C. Régler le volume de l'échantillon à 40 µL.

*La vitesse de rampe dépend du cycleur PCR et du matériau du bloc:

- Pour le cycleur PCR avec bloc d'aluminium, utiliser une vitesse de rampe de 2 °C/s.
- Pour un cycleur PCR avec bloc d'argent, utiliser 1 °C/s;

Si vous ne pouvez pas déterminer le matériau du bloc, utilisez une vitesse de rampe de 1 °C/s.

Tableau 5 Protocole PCR pour Mentype® DigitalQuant sur Bio-Rad QX100/QX200

Température	Temps	Cycles	Taux de chauffage et de refroidissement*
95 °C	10 min	1 x	2 °C/s
94 °C	30 s	40 x	
62 °C	60 s		
98 °C	10 min	1 x	1 °C/s
4 °C	∞	1 x	

Analyse des gouttelettes

Une fois le cycle thermique terminé, placer la plaque PCR dans le support du lecteur de gouttelettes QX100/QX200 Droplet Reader.

NOTE



Ne pas vortexer et/ou essorer la plaque après le cycle ! Manipulez-la avec précaution pour éviter la détérioration des gouttelettes.

Ouvrez le logiciel Quanta™Soft de Bio-Rad. Créer la disposition de la plaque pour votre expérience (voir [Figure 2](#)). Ouvrir l'éditeur (Applied Well Settings) en double-cliquant sur un puits dans la configuration de la plaque. Attribuez le nom de l'échantillon, le type d'expérience et déterminez quel essai correspond à quel canal de fluorescence. Ensuite les noms d'échantillons de les échantillons d'ADN à analyser peuvent être assignés.

Pour le Mentype® DigitalQuant, veuillez définir les paramètres conformément à [Tableau 6](#).

Tableau 6 Paramètres à déterminer pour l'analyse du Mentype® DigitalQuant Kit dans le Quanta™Soft

Types d'échantillons et d'expériences	Paramètres
Échantillon	
Nom	Donner un nom
Expérience	Quantification absolue (ABS)
Supermix	Supermix ddPCR pour sondes (sans dUTP)
Cible 1	
Nom	Nom du marqueur, par exemple DP67
Type	ex. Ch 1 Inconnu
Cible 2	
Nom	REF ou SRY
Type	ex. Ch 2 Inconnu

NOTE

Tous les marqueurs DIP spécifiques (voir [Tableau 17](#)) sont étiquetés avec FAM. La référence (REF ou SRY) est étiquetée avec HEX en conséquence.

Après avoir défini l'expérience, cliquez sur **Run**.

Le lecteur de gouttelettes compte les gouttelettes positives et négatives pour une quantification absolue de l'ADN cible. Chaque gouttelette contenant un échantillon est traitée individuellement et vérifiée pour la fluorescence FAM et HEX. Les données d'au moins 10 000 gouttelettes acceptées doivent être utilisées pour les calculs de concentration.

Analyse des données

Évaluation générale

Charger la plaque dans la fenêtre de configuration du logiciel Quanta™Soft (Bio-Rad). Cliquer sur **Analyse** pour ouvrir et analyser les données. Examiner les données dans le canal 2D Amplitude pour vérifier si le seuil automatisé et la séparation des clusters sont corrects (voir [Figure 2](#)

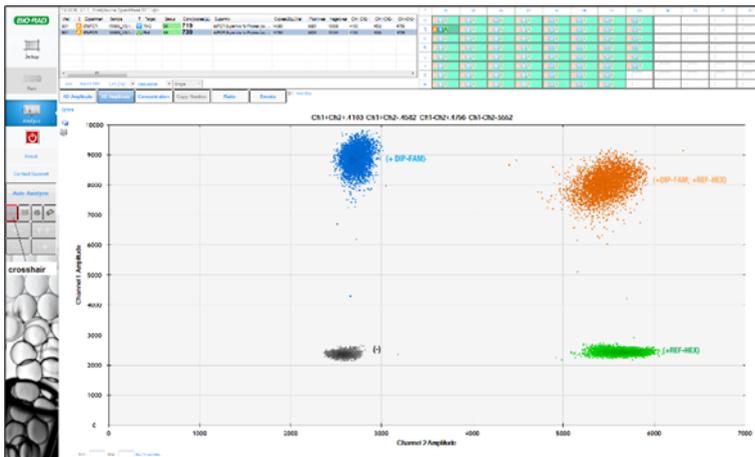


Figure 2 Vue de l'amplitude en 2D (diagramme de dispersion) de la fluorescence des gouttelettes.

Les 4 groupes (gris, vert, brun, bleu) doivent apparaître complètement séparés (voir [Figure 2](#)). Si les grappes ne sont pas séparées avec précision ou si le seuil automatisé n'est pas correct, vous devez apporter des corrections manuellement. Pour ce faire, utilisez les outils d'ajustement du seuil (croix). Les gouttelettes sont interprétées comme suit:

- double négatif (gris),
- FAM positif (bleu),
- HEX positif (vert) et
- double positif (orange - positif pour FAM et HEX dans la même gouttelette).

La correction manuelle est réussie lorsque la couleur de la grappe ou des gouttelettes individuelles change et que le réticule s'affiche en rose.

Sélectionnez ensuite les puits à analyser et cliquez sur **Table**. Ouvrez ensuite le **Result Table** pour voir les résultats.

NOTE



La limite de détection pour une expérience réussie est de cinq gouttelettes FAM positives. Un résultat avec moins de cinq gouttelettes est défini comme négatif, le groupe FAM n'a pas été reconnu.

Exigences minimales pour les données sur les gouttelettes avant le calcul

Avant de calculer la proportion de l'échantillon mixte, il convient de vérifier la qualité des données.

- Au moins 10 000 gouttelettes doivent être détectées et analysées par échantillon.
- La limite de détection pour une expérience réussie est de cinq gouttelettes FAM positives. Ici, l'amplification est présente dans le canal FAM seul (grappe bleue) et dans la grappe FAM et HEX positive (grappe orange). Un résultat inférieur à cinq gouttelettes est défini comme négatif.

Procédure pour Absolute Q (Thermo Fisher Scientific)

NOTE



Dans le cadre du système Absolute Q, l'utilisation de DP301-D + REF n'est pas recommandée en raison de la réduction des performances.

Matériel spécifique requis mais non fourni

Réactifs et consommables

Tableau 7 Consommables supplémentaires pour le QuantStudio Absolute Q (Thermo Fisher Scientific)

Equipement	Fournisseur	Numéro de commande
AbsoluteQ™ DNA Digital Master Mix (5x), 200 Réactions	Thermo Fisher Scientific	A52490
QuantStudio™ Absolute Q™ MAP16 Plate Kit, 12 plates	Thermo Fisher Scientific	A52865

Instrument et logiciel

Le kit de test a été vérifié à l'aide du système dPCR QuantStudio™ Absolute Q™ (Thermo Fisher Scientific, A52864) et du suivant logiciel:

- QuantStudio™ Absolute Q™ Digital PCR Software (version 6.2.0)

NOTE



L'application de Mentype® DigitalQuant sur d'autres instruments doit être vérifiée sous la responsabilité de l'utilisateur.

Dispositif expérimental

Préparation du mélange maître PCR

Préparer les composants suivants et décongeler les réactifs selon les besoins et les homogénéiser. Les réactifs doivent ensuite être brièvement centrifugés (environ 10 s)

- Nuclease-Free Water (bouchon bleu clair, inclus dans le kit)
- Mentype® DigitalQuant Primer Mix (capuchon rouge, inclus dans le kit)
- AbsoluteQ™ DNA Digital Master Mix
- AbsoluteQ™ Isolation Buffer

Préparer le master mix PCR conformément à Tableau 8. Lors du calcul du volume de master mix requis, prendre en compte le nombre de réactions de contrôle positif et négatif. Ajouter une ou deux réactions à ce nombre pour compenser les erreurs de pipetage.

Tableau 8 Configuration du mélange maître PCR

Composant	Volume par réaction
Nuclease-Free Water	5,0 µL
AbsoluteQ™ DNA Digital Master Mix	2,0 µL
Mentype® DigitalQuant Primer Mix	1,0 µL
Volume master mix/puits	8,0 µL
Modèle d'ADN* (25 ng/µL) ou échantillons de contrôle	2,0 µL

* Pour les ADN de mauvaise qualité échantillons d', le entrée volume d' peut être augmenté à 7µL, en adaptant le volume d'eau exempte de nucléase en conséquence.

NOTE



La limite de détection et la sensibilité de l'analyse Mentype® DigitalQuant dépendent de la qualité et de la quantité d'ADN utilisé. Le mélange d'amorces spécifiques de l'allèle est optimisé pour une spécificité et une sensibilité maximales (jusqu'à 0,1 %) pour l'utilisation de 50 ng d'ADN total purifié.

Mélanger doucement le master mix PCR sans générer de bulles, puis procéder à une brève centrifugation. Aliquoter 8,0 µL du master mix PCR dans des tubes PCR appropriés de 200 µL et ajouter les échantillons appropriés. Fermer les tubes et mélanger délicatement. Centrifuger brièvement les tubes.

Application de modèles d'ADN et de contrôles

Ajouter 2,0 µL des types d'échantillons suivants aux tubes préparés contenant les mélanges maîtres PCR.

NTC: ajouter 2,0 µL d'eau exempte de nucléase au lieu d'un échantillon.

Échantillon d'ADN: ajouter 2,0 µL des échantillons d'ADN préparés et dilués (25 ng/µL).

PC: ajouter 2,0 µL de contrôle positif DIP non dilué (DPC) au lieu d'un échantillon.

NOTE



Lors de l'utilisation de la plate-forme Absolute Q, il n'est pas nécessaire d'effectuer une digestion de restriction de la matrice d'AND.

Chargement du tableau

Lorsque vous manipulez la plaque MAP16, veillez à ne toucher que le cadre extérieur afin d'éviter tout dommage et toute contamination. Effectuez toutes les procédures sur une surface plane et exempte de poussière afin de préserver l'intégrité des échantillons et de la plaque. Pour éviter toute contamination croisée, utilisez toujours une nouvelle pointe de pipette pour chaque puits.

Charger 9 µL du mélange PCR en tenant la pipette à un angle de 45° et en distribuant le mélange au fond du puits. N'appuyer sur la pipette que jusqu'à la première butée pour éviter de créer des bulles d'air.

Ajouter 15 µL de tampon d'isolement Absolute Q de la même manière, en tenant la pipette à un angle de 45° et en n'appuyant que sur la première butée.

Enfin, placer 5 joints sur la plaque MAP, en veillant à ce que les extrémités marquées d'un "A" soient alignées sur la face supérieure de la plaque.

Placer la plaque dans l'appareil.

Le respect de ces étapes permet d'assurer une manipulation précise et sans contamination de la plaque MAP16 et de ses composants.

Amplification PCR et paramètres d'exécution

Sélectionnez les colonnes utilisées de la plaque MAP dans la carte du logiciel.

Effectuer l'analyse en utilisant le paramètre d'amplification de Tableau 9, sélectionner la détection du canal FAM et HEX:

Tableau 9 Protocole PCR pour Mentype® DigitalQuant sur Absolute Q

Température	Temps	Cycles
96 °C	10 min	1 x
96 °C	5 s	40 x
62 °C	30 s	
4 °C	∞	1 x

NOTE



Les colonnes non utilisées de la plaque MAP peuvent encore être utilisées dans une autre série.

Analyse des données

Évaluation générale

Importer la série terminée dans la fenêtre Runs du logiciel Absolute Q™ Digital PCR Software (Thermo Fisher Scientific). Ouvrir l'onglet Analysis pour voir les résultats. Cliquez sur sample (échantillon), sélectionnez tous les canaux, puis choisissez la vue 2D plot (tracé en 2D). Examinez les

données dans le canal 2D Amplitude pour vérifier si le seuil automatisé et la séparation des clusters sont corrects (voir [Figure 3](#)).

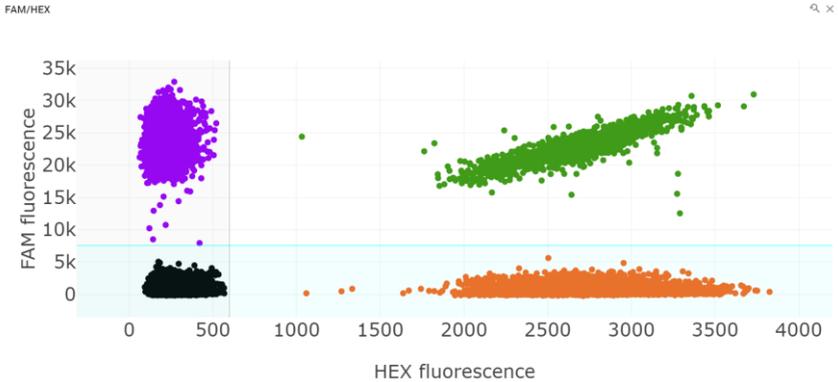


Figure 3 Vue de l'amplitude en 2D (diagramme de dispersion) de la fluorescence des gouttelettes.

Les 4 groupes (noir, vert, orange, violet) doivent apparaître complètement séparés (voir [Figure 3](#)). Si les grappes ne sont pas séparées avec précision ou si le seuil automatisé n'est pas correct, vous devez apporter des corrections manuellement. Utilisez donc l'option "edit analysis" pour adapter les seuils. Veuillez toujours vous référer aux amplitudes du contrôle positif lorsque vous adaptez les seuils manuellement. Les événements sont interprétés comme suit:

- double négatif (noir),
- FAM positif (violet),
- HEX positif (orange) et
- double positif (vert - positif pour FAM et HEX dans la même cavité).

En évitant l'adaptation manuelle, les comptages sont calculés automatiquement par le logiciel.

Les données analysées peuvent être examinées et téléchargées à partir de l'onglet "Résultats".

NOTE



En raison des différences d'amplitude du signal, il est recommandé d'analyser un échantillon de référence/contrôle positif sur chaque plaque, ce qui permet de trouver le seuil correct, à l'aide de l'option "Groupe" du logiciel Absolute Q™ Digital PCR.

Exigences minimales pour les données avant le calcul

Avant de calculer la proportion de l'échantillon mixte, il convient de vérifier la qualité des données.

- Les puits présentant moins de 20 000 événements valides seront automatiquement exclus des évaluations par le logiciel.
- Tous les clusters doivent être séparés en fonction du profil d'amplification du contrôle positif.

Procédure pour le système QIAcuity Digital PCR (Qiagen)

NOTE



Avec le système QIAcuity Digital PCR, l'application de DP301-D + REF n'est pas recommandée en raison de la réduction des performances.

Matériel spécifique requis mais non fourni

Réactifs et consommables

Tableau 10 Réactifs, instruments et consommables spécifiques pour le système QIAcuity Digital PCR (Qiagen)

Equipement	Fournisseur	Numéro de commande
Kit QIAcuity Probe PCR (5 ml)	Qiagen	250102
QIAcuity Nanoplate 26k 24 puits (10)	Qiagen	250 001
QIAcuity Sceaux en nanoplate (11)	Qiagen	250099
QIAcuity Plateau de nanoplatines (2)	Qiagen	250098
QIAcuity Roller	Qiagen	911106

Instrument et logiciel

Le kit de test a été vérifié à l'aide du système QIAcuity Digital PCR (Qiagen GmbH, 911042) et du logiciel suivant:

- QIAcuity Software Suite 2.5.0.1

Dispositif expérimental

Préparation du mélange maître PCR

Préparer les composants suivants, décongeler les réactifs selon les besoins et les homogénéiser. Les réactifs doivent ensuite être brièvement centrifugés (environ 5 s)

- Eau exempte de nucléase (bouchon bleu clair, inclus dans le kit)
- Mentype® DigitalQuant Primer Mix (capuchon rouge, inclus dans le kit)
- 4x QIAcuity Probe Mastermix

Préparer le master mix PCR conformément à [Tableau 11](#). Lors du calcul du volume de master mix requis, prendre en compte le nombre de réactions de contrôle positif et négatif. Ajouter une ou deux réactions à ce nombre pour compenser les erreurs de pipetage.

Tableau 11 Configuration du mélange maître PCR

Composant	Volume par réaction
Eau exempte de nucléase	21,0 µL
4x QIAcuity Probe Mastermix	10,0 µL
Mentype® DigitalQuant Primer Mix	4,0 µL
Volume du mélange maître	35,0 µL
Modèle d'ADN* (20 ng/µL) ou échantillons de contrôle	5,0 µL

NOTE



La limite de détection et la sensibilité de l'analyse Mentype® DigitalQuant dépendent de la qualité et de la quantité d'ADN utilisé. Le mélange d'amorces spécifiques de l'allèle est optimisé pour une spécificité et une sensibilité maximales (jusqu'à 0,1 %) pour l'utilisation de 100 ng d'ADN total purifié.

Mélanger doucement le master mix PCR sans générer de bulles, puis procéder à une brève centrifugation

Aliquoter 35 µL des mélanges maîtres PCR dans des tubes PCR appropriés de 200 µL ou dans une plaque PCR.

Application de modèles d'ADN et de contrôles

Ajouter 5,0 µL des types d'échantillons suivants aux tubes préparés contenant les mélanges maîtres PCR. Fermer les tubes ou la plaque et mélanger délicatement. Centrifuger brièvement.

NTC : ajouter 5,0 µL d'eau exempte de nucléase au lieu d'un échantillon.

Échantillon d'ADN : ajouter 5,0 µL des échantillons d'ADN préparés et dilués (20 ng/µL).

PC : ajouter 5,0 µL de contrôle positif DIP non dilué (DPC) au lieu d'un échantillon.

NOTE



Lors de l'utilisation de la plateforme QIAcuity, il n'est pas nécessaire d'effectuer une digestion de restriction de la matrice d'ADN.

Chargement du tableau

Effectuer toutes les procédures sur une surface plane et exempte de poussière afin de préserver l'intégrité des échantillons et de la plaque. Pour éviter toute contamination croisée, utilisez toujours un nouvel embout de pipette pour chaque puits.

Placer le Nanoplate QIAcuity sur le plateau blanc du Nanoplate. Transférer les 40 µl préparés du mélange PCR dans les puits du Nanoplate QIAcuity en tenant la pipette à un angle de 45° et en distribuant le mélange au fond du puits, mais sans toucher le fond. Appuyer sur la pipette uniquement jusqu'à la première butée pour éviter de créer des bulles d'air.

Scellez correctement la nanoplate QIAcuity en utilisant les scellés bleus pour nanoplate et le rouleau QIAcuity.

Placer la nanoplate dans le dispositif sans le plateau de nanoplate.

Amplification PCR et paramètres d'exécution

Sélectionnez les colonnes utilisées de la nanoplate QIAcuity et créez une carte dans la suite logicielle QIAcuity.

Effectuer l'analyse en utilisant le paramètre d'amplification de [Tableau 12](#) , sélectionner la détection du canal FAM et HEX :

Tableau 12 Protocole PCR pour Mentype® DigitalQuant sur QIAcuity

Température	L'heure	Cycles
95 °C	2 min	1 x
95 °C	15 s	40 x
61 °C	30 s	

Analyse des données

Évaluation générale

Ouvrir la série terminée dans la fenêtre **Plates** de la suite logicielle QIAcuity (Qiagen GmbH). Ouvrir l'onglet **Analyze** pour voir les résultats sous **Absolute Quantification (Quantification absolue)**. Pour définir des seuils pour l'analyse de l'échantillon, cliquer sur la position de la plaque du DIP Positive Control DPC. Sélectionnez toutes les cibles et cliquez sur **Show results**. Séparer clairement tous les clusters en choisissant le seuil automatique ou manuel (lignes rouges, voir [Figure 4](#)). Appliquer le seuil à tous les échantillons analysés en les sélectionnant dans la vue de la plaque et en insérant les valeurs pour les deux fluorescences

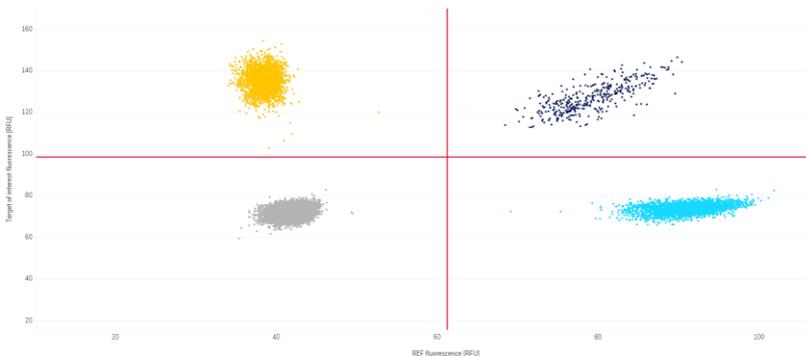


Figure 4 Vue de l'amplitude 2D (diagramme de dispersion) de la fluorescence de la cible

Les 4 groupes (gris, jaune, bleu clair, bleu foncé) doivent apparaître complètement séparés (voir Figure 4) pour tous les échantillons.

Les événements sont interprétés comme suit:

- double négatif (gris),
- FAM positif (jaune),
- HEX positif (bleu clair) et
- double positif (bleu foncé - positif pour FAM et HEX dans la même cavité).

En évitant l'adaptation manuelle, les comptages sont calculés automatiquement par le logiciel

Les données analysées peuvent être examinées et téléchargées à partir de l'onglet **Liste**.

NOTE



En raison des différences d'amplitude du signal, il est recommandé d'analyser un échantillon de référence/contrôle positif sur chaque plaque afin de déterminer le seuil correct.

Exigences minimales pour les données avant le calcul

Avant de calculer la proportion de l'échantillon mixte, il convient de vérifier la qualité des données.

- Tous les clusters doivent être séparés en fonction du profil d'amplification du contrôle positif.
- Si trop de puits ont été invalidés par la suite logicielle QIAcuity, il convient d'envisager une réimagerie. Pour obtenir une sensibilité maximale, il est conseillé d'analyser 26 000 cavités.

Calcul du rapport absolu d'ADN

Calculer le ratio (concentration en copies/ μ L) du locus DIP (AOI) par rapport à la référence (REF) ou au locus SRY. Notez s'il s'agit d'un marqueur homozygote ou hétérozygote.

NOTE



Le marqueur 307-I+ REF est situé sur le chromosome X. Par conséquent, dans les échantillons mixtes mâle-femelle, le marqueur doit être traité comme hétérozygote. La combinaison 307-I+ SRY doit être calculée comme indiqué dans le [Tableau 16](#).

Tableau 13 Calcul pour la combinaison DIP+Ref: AOI homozygote

Échantillon	AOI	REF	Formule	Résultat
Après HSCT	Conc (copies / μ L)	Conc (copies / μ L)	$= ((100 * AOI) / (REF))$	
	338	644	$= (100 * 338) / (644)$	52.5 %

Tableau 14 Calcul pour la combinaison DIP+Ref: AOI hétérozygote

Échantillon	AOI	REF	Formule	Résultat
Après HSCT	Conc (copies / μ L)	Conc (copies / μ L)	$= ((100 * 2 * AOI) / (REF))$	
	162	611	$= (100 * 2 * 338) / (644)$	53 %

Tableau 15 Calcul pour la combinaison DIP+SRY: AOI homozygote

Échantillon	AOI	SRY	Formule	Résultat
Après HSCT	Conc (copies / μ L)	Conc (copies / μ L)	$= ((100 * AOI) / (AOI + 2 * SRY))$	
	337	182	$= (100 * 337) / (337 + 2 * 182)$	48.1 %

Tableau 16 Calcul pour la combinaison DIP+SRY: AOI hétérozygote

Échantillon	AOI	SRY	Formule	Résultat
Après HSCT	Conc (copies / μ L)	Conc (copies / μ L)	$= ((100 * AOI) / (AOI + SRY))$	
	553	506	$= (100 * 553) / (553 + 506)$	52.2 %

Caractéristiques et disponibilité des tests Mentype® DigitalQuant

Tableau 17 Localisation chromosomique des loci spécifiques

Locus	Localisation chromosomique	Locus	Localisation chromosomique
67	5q33.3	133	3p22.1
70	6q16.1	134	5q11.2
88	9q22.33	140	3q23
97	13q13.1	152	16p13.2
101	15q26.1	163	12q24.31
104	13q32.1	301	17q21.32
105	14q24.3	304	9q34.3
106	16q13	307	Xp11.23
114	17p13.2	310	2p22.3
128	1q31.3	SRY	Yp11.2
131	7q36.2		

Tableau 18 Kits Mentype® DigitalQuant disponibles pour les allèles spécifiques de

Loci	Suppression (- Allel)	Insertion (+ Allel)	Essai duplex spécifique d'un allèle avec référence (REF)	Test duplex spécifique de l'allèle avec marqueur de la région chromosomique Y (SRY)
67	67-D		DP67-D+REF	DP67-D+SRY
70	70-D		DP70-D+REF	DP70-D+SRY

Loci	Suppression (- Allel)	Insertion (+ Allel)	Essai duplex spécifique d'un allèle avec référence (REF)	Test duplex spécifique de l'allèle avec marqueur de la région chromosomique Y (SRY)
		70-I	DP70-I+REF	DP70-I+SRY
88	88-D		DP88-D+REF	DP88-D+SRY
		88-I	DP88-I+REF	DP88-I+SRY
97		97-I	DP97-I+REF	DP97-I+SRY
101	101-D		DP101-D+REF	DP101-D+SRY
		101-I	DP101-I+REF	DP101-I+SRY
104	104-D		DP104-D+REF	DP104-D+SRY
		104-I	DP104-I+REF	DP104-I+SRY
105	105-D		DP105-D+REF	DP105-D+SRY
		105-I	DP105-I+REF	DP105-I+SRY
106		106-I	DP106-I+REF	DP106-I+SRY
114	114-D		DP114-D+REF	DP114-D+SRY
		114-I	DP114-I+REF	DP114-I+SRY
128	128-D		DP128-D+REF	DP128-D+SRY
131		131-I	DP131-I+REF	DP131-I+SRY
133		133-I	DP133-I+REF	DP133-I+SRY
134		134-I	DP134-I+REF	DP134-I+SRY
140		140-I	DP140-I+REF	DP140-I+SRY
152	152-D		DP152-D+REF	DP152-D+SRY
163	163-D		DP163-D+REF	DP163-D+SRY
		163-I	DP163-I+REF	DP163-I+SRY
301	301-D *		DP301-D+REF	DP301-D+SRY
		301-I	DP301-I+REF	DP301-I+SRY
304	304-D		DP304-D+REF	DP304-D+SRY
		304-I	DP304-I+REF	DP304-I+SRY
307		307-I	DP307-I+REF	DP307-I+SRY
310		310-I	DP310-I+REF	DP310-I+SRY
SRY		SRY	DPSRY+REF	

*uniquement recommandé pour les analyses Bio-Rad

Contrôle de la qualité

Tous les composants des kits sont soumis à un processus intensif d'assurance qualité chez BIOTYPE GmbH. La qualité des kits de test est contrôlée en permanence afin de garantir une utilisation sans restriction. N'hésitez pas à nous contacter si vous avez des questions concernant l'assurance qualité.

Assistance technique

Pour obtenir des conseils techniques, veuillez contacter notre équipe d'assistance à la clientèle:

e-mail: support@biotype.de

téléphone: +49 (0)351 8838 400

Références

Alizadeh M, Bernard M, Danic B, Dauriac C, Birebent B, Lapart C, Lamy T, Le Prise PY, Beauplet A, Bories D, Semana G, Quelvennec E. (2002) Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Blood* 99, 4618-4625.

Vogelstein B, Kinzler KW (1999) Digital PCR. *Proc Natl Acad Sci USA*96:9236-9241.

George D, Czech J, John B, Yu M, Jennings LJ (2013) Detection and quantification of chimerism by droplet digital PCR. *Chimerism*, 4:102-108.

Manoj P (2014) Droplet digital PCR technology promises new applications and research areas. *Mitochondrial DNA* 2014, e-published ahead of print [doi: 10.3109/19401736.2014.913168].

Jim F. Huggett, Carole A. Foy, Vladimir Benes, Kerry Emslie, Jeremy A. Garson, Ross Haynes, Jan Hellemans, Mikael Kubista, Reinhold D. Mueller, Tania Nolan, Michael W. Pfaffl, Gregory L. Shipley, Jo Vandesompele, Carl T. Wittwer, and Stephen A. Bustin¹³ (2013) Guidelines for Minimum

Limites d'utilisation

- Les procédures décrites dans ce manuel doivent être suivies telles qu'elles sont décrites. Tout écart peut entraîner une défaillance de l'essai ou des résultats erronés.
- L'utilisation de ce produit est limitée au personnel spécialement instruit et formé aux techniques de ddPCR.
- Des procédures appropriées de collecte, de transport, de stockage et de traitement des échantillons sont nécessaires pour une exécution optimale de ce test.
- Ce test ne doit pas être utilisé directement sur l'échantillon. Des méthodes appropriées d'extraction des acides nucléiques doivent être appliquées avant l'utilisation de ce test.
- Le kit n'a été vérifié qu'en utilisant les kits et les procédures décrits.
- De bonnes pratiques de laboratoire sont nécessaires pour garantir la performance du kit.
- Les résultats doivent être interprétés par un utilisateur professionnel formé.
- L'interprétation des résultats doit tenir compte de la possibilité de faux négatifs et de faux positifs.
- Ne pas utiliser de composants périmés ou mal conservés
- L'étiquette du kit indique 25 réactions, ce qui est basé sur la plateforme Bio-Rad, mais le nombre réel de réactions utilisables peut varier en cas d'utilisation d'autres plateformes PCR numériques.

Informations sur les commandes

Envoyez vos commandes par courrier électronique à sales@biotype.de.

Tableau 19 Informations relatives à la commande d'accessoires: Mentype® DigitalScreen et DIP Positive Control

Produit	Taille de l'emballage	Numéro de commande
Mentype® DigitalScreen	4 (4 x 2 paires d'ADN)	45-64610-0004
DIP Positive Control	20 réactions	27-13201-0100

Tableau 20 Informations relatives à la commande des tests Mentype® DigitalQuant spécifiques, ces tests sont disponibles à tout moment (entreposage).

Essai	25 réactions
DP67-D+REF	45-02011-0025
DP70-D+REF	45-02021-0025
DP70-I+REF	45-02031-0025
DP88-D+REF	45-02041-0025
DP88-I+REF	45-02051-0025
DP97-I+REF	45-02061-0025
DP101-D+REF	45-02071-0025
DP101-I+REF	45-02081-0025
DP104-D+REF	45-02091-0025
DP104-I+REF	45-02101-0025
DP105-D+REF	45-02111-0025
DP105-I+REF	45-02121-0025
DP106-I+REF	45-02131-0025
DP114-D+REF	45-02141-0025
DP114-I+REF	45-02151-0025
DP128-D+REF	45-02161-0025
DP131-I+REF	45-02171-0025
DP133-I+REF	45-02181-0025
DP134-I+REF	45-02191-0025

Essai	25 réactions
DP140-I+REF	45-02201-0025
DP152-D+REF	45-02211-0025
DP163-D+REF	45-02221-0025
DP163-I+REF	45-02231-0025
DP301-D+REF	45-02241-0025
DP301-I+REF	45-02251-0025
DP304-D+REF	45-02261-0025
DP304-I+REF	45-02271-0025
DP307-I+REF	45-02281-0025
DP310-I+REF	45-02291-0025
DPSRY+REF	45-02301-0025

Tableau 21 Informations relatives à la commande des tests spécifiques de l'allèle Mentype® DigitalQuant, ces tests sont réalisés sur demande (commande à la demande).

Essai	25 réactions
DP67-D+SR Y	45-02311-0025
DP70-D+SR Y	45-02321-0025
DP70-I+SR Y	45-02331-0025
DP88-D+SR Y	45-02341-0025
DP88-I+SR Y	45-02351-0025
DP97-I+SR Y	45-02361-0025
DP101-D+SR Y	45-02371-0025
DP101-I+SR Y	45-02381-0025
DP104-D+SR Y	45-02391-0025
DP104-I+SR Y	45-02401-0025
DP105-D+SR Y	45-02411-0025
DP105-I+SR Y	45-02421-0025
DP106-I+SR Y	45-02431-0025
DP114-D+SR Y	45-02441-0025
DP114-I+SR Y	45-02451-0025
DP128-D+SR Y	45-02461-0025

Essai	25 réactions
DP131-I+SRY	45-02471-0025
DP133-I+SRY	45-02481-0025
DP134-I+SRY	45-02491-0025
DP140-I+SRY	45-02501-0025
DP152-D+SRY	45-02511-0025
DP163-D+SRY	45-02521-0025
DP163-I+SRY	45-02531-0025
DP301-D+SRY	45-02541-0025
DP301-I+SRY	45-02551-0025
DP304-D+SRY	45-02561-0025
DP304-I+SRY	45-02571-0025
DP307-I+SRY	45-02581-0025
DP310-I+SRY	45-02591-0025

Marques et clauses de non-responsabilité

Mentype® est une marque déposée de BIOTYPE GmbH.

Les noms déposés, les marques, etc. utilisés dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement marqués comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

© 2025 BIOTYPE GmbH ; tous droits réservés.

Explication des symboles



Fabricant

RUO

Uniquement pour la recherche. Ne pas utiliser dans les procédures de diagnostic.

LOT

Code du lot



Contient suffisamment de réactifs pour <N> tests



Consulter le mode d'emploi électronique (eIFU)



Date limite d'utilisation



Limite de température

REF

Numéro de catalogue



Tenir à l'écart de la lumière du soleil



Garder au sec

Autre marquage utilisé dans le présent manuel:



Attention, respectez cette notice!

[texte souligné en bleu](#)

Liens menant à des contenus externes tels que des pages d'accueil, des adresses électroniques

texte souligné en noir

Liens croisés dans le document pour faciliter la navigation

Texte noir, gras, cursif

Champs à cliquer dans un logiciel

BIOTYPE GmbH

Moritzburger Weg 67
01109 DRESDEN / GERMANY

Tél: +49 351 8838 400

Fax: +49 351 8838 403

www.biotype.de

Commande

sales@biotype.de

Service à la clientèle et assistance

support@biotype.de

