

Aprilie 2021

Instrucțiuni de utilizare (fișă de protocol) pentru instrumentul QIASymphony[®] SP

Pentru kitul PreAnalytiX QIASymphony PAXgene[®]
Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) și eprubeta
PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube
(CE-IVD; **CE**0123)

Protocoale IVD PAXgene Blood ccfDNA:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 și PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Informații generale

A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro.

Kitul QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), care va fi folosit cu instrumentul QIASymphony SP, este destinat izolării și purificării automate a ADN-ului liber circulant (circulating cell-free DNA, ccfDNA) din plasma obținută din sânge venos integral uman recoltat în eprubeta PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Procedura de purificare este optimizată pentru a fi utilizată cu plasma obținută din sânge venos integral uman recoltat în eprubetele PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Pentru instrucțiuni privind procedura de recoltare a sângelui, consultați instrucțiunile de utilizare a eprubetelor PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) de pe pagina principală a produsului (www.PreAnalytiX.com).

Pentru izolarea automată a ADN-ului liber circulant (circulating cell-free DNA, ccfDNA) din plasma obținută din sânge venos integral uman recoltat în eprubetele PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) au fost stabilite patru protocoale diferite. În variantele standard pot fi selectate volume ale probelor la introducerea de 2,4 sau 4,8 ml plasmă. În plus, protocoalele de manipulare a eprubetelor primare permit plasarea eprubetei PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) direct pe instrumentul QIASymphony SP. Protocoalele de manipulare a eprubetelor primare sunt disponibile pentru volume ale probelor la introducerea de 2,4 sau 4,0 ml plasmă (consultați tabelele din paginile următoare).

Fiecare volum de plasmă utilizat pentru extragerea ccfDNA necesită volumul relevant al probei la introducerea, inclusiv volumul golurilor, și scriptul relevant al protocolului prezentat în tabelul 1.

Tabel 1. Informații generale privind utilizarea kitului QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

Material de probă	Plasmă umană obținută din sânge venos integral recoltat în eprubete PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)			
Kit	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, cat. nr. 768566			
Versiune software	Versiunea 5.0 sau mai recentă			
Protocoale	Linie protocol	Volum probă la introducerea (incl. volum goluri) (ml)	Volum probă utilizat pentru extragerea ccfDNA (ml)	(Assay Control_) Nume protocol
	Standard	2,8	2,4	(ACS_) PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	(ACS_) PAXcircDNA_4800
	Manipularea eprubetelor primare	în funcție de instrumentul de selectare	2,4	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Prepararea plasmei se poate efectua utilizând (A) protocolul standard de centrifugare dublă sau (B) manipulând eprubetele primare: prin procesarea directă a eprubetelor PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) centrifugate o singură dată pe instrumentul QIASymphony SP.

A) Prepararea plasmei din sânge pentru protocoale standard

1. Centrifugați eprubeta PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) la temperatura camerei (15-25 °C) timp de 15 minute la 1600-3000 × g, utilizând o centrifugă echilibrată cu găleată basculantă. Dacă se preferă frânarea, recomandăm utilizarea unei frânări de nivel mediu care ar trebui validată pentru fluxul dvs. specific de lucru.

Notă: Pentru obținerea unor rezultate cât mai bune, în cazul probelor păstrate la frigider, înainte de centrifugare, așteptați ca eprubetele să ajungă la temperatura camerei înainte de a le procesa.

2. Pipetați plasma într-o eprubetă de centrifugare de 15 ml, cu capăt conic (neinclusă), având grijă să nu deranjați fracțiunea celulară nucleată.
3. Centrifugați eprubeta de 15 ml cu capăt conic timp de 10 minute la temperatura camerei (15-25 °C) la 1600-3000 × g, utilizând o centrifugă echilibrată.

Notă: Nu depășiți viteza de centrifugare maximă recomandată de producătorul eprubetelor secundare.

4. Pipetați volumul necesar de plasmă (consultați secțiunea „Volumul probei” de la pagina 5) într-o eprubetă 17 x 100 mm de 14 ml, din polistiren, cu capăt rotund, având grijă să nu deranjați peletul celular sanguin rezidual, dacă este prezent.
5. Transferați eprubeta cu capăt rotund care conține proba de plasmă în suportul de eprubete, apoi încărcați suportul în sertarul de introducere a probei de pe instrumentul QIASymphony SP.

Notă: Pentru un randament ccfDNA maxim, procesați volumul maxim de plasmă disponibilă.

Notă: Evitați formarea de spumă în interiorul sau deasupra probelor de plasmă. Spuma sau bulele de aer care se formează la suprafața probelor pot conduce la pipetarea de volume greșite de probă.

Notă: După recoltarea sângelui și centrifugare, plasma poate fi păstrată la 2-8 °C timp de maximum 7 zile. În cazul depozitării pe termen mai lung, recomandăm congelarea alicotelor.

Notă: Atunci când utilizați probe de plasmă depozitate anterior (de ex., păstrate la 2-8 °C sau congelate la -20 sau -70 °C/-80 °C), acestea trebuie aduse la temperatura camerei (15-25 °C) înainte de a începe testarea.

B) Prepararea plasmei din sânge pentru manipularea eprubetelor primare pe instrumentul QIASymphony SP

1. Centrifugați eprubeta PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) la temperatura camerei (15-25 °C) timp de 15 minute la 3000 × g, utilizând o centrifugă echilibrată cu găleată basculantă. Dacă se preferă frânarea, recomandăm utilizarea unei frânări de nivel mediu care ar trebui validată pentru fluxul dvs. specific de lucru.

Notă: Pentru obținerea unor rezultate cât mai bune, în cazul probelor păstrate la frigider, înainte de centrifugare, așteptați ca eprubetele să ajungă la temperatura camerei înainte de a le procesa.

2. Cuantificați volumul de plasmă din fiecare eprubetă după ce le-ați îndepărtat din găleata de centrifugare, folosind instrumentul de selectare a protocolului de purificare a ADN-ului liber circulant (circulating cell-free DNA, ccfDNA) din sânge PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool inclus în kit (figura 1). La îndepărtarea eprubetei din centrifugă, săgeata turcoaz de pe instrument este aliniată cu interfața plasmă/celulă. Liniile albastre indică dacă nivelul plasmei este suficient pentru protocolul de manipulare a eprubetelor primare de 2,4 sau 4,0 ml. Este necesară o înălțime a coloanei de plasmă de minimum 2,3 cm pentru protocolul de 2,4 ml și de minimum 3,4 cm pentru protocolul de 4,0 ml.



Determinați protocolul optim pentru a procesa eprubetele PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) direct pe instrumentul QIASymphony SP

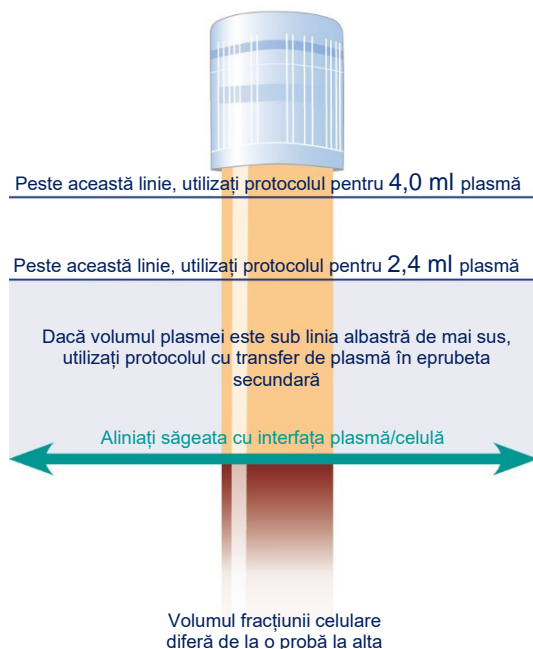


Figura 1. Determinarea volumului plasmei utilizând instrumentul de selectare a protocolului de purificare a ADN-ului liber circulant (circulating cell-free DNA, ccfDNA) din sânge PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (acesta este menționat numai cu titlu informativ; a nu se imprima deoarece dimensiunea reală diferă – a nu se utiliza cu probe).

Notă: În cazul în care nu a avut loc o separare clară a plasmei și a fracțiunii celulare sau dacă fazele s-au amestecat accidental la îndepărtarea din centrifugă, centrifugarea ar trebui repetată.

3. Îndepărtați capacul de închidere Hemogard de pe eprubetele PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) înainte de a le plasa pe instrumentul QIASymphony SP pentru extragerea directă a ccfDNA.
4. Plasați eprubetele PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) deschise care conțin suficientă plasmă în suportul de eprubete, apoi încărcați suportul în sertarul de introducere a probei de pe instrumentul QIASymphony SP.

Volumul probei

Pentru a vă asigura că în fluxul normal de lucru, probele de 2,4 ml (protocol PAXcircDNA_2400) și de 4,8 ml (protocol PAXcircDNA_4800) sunt transferate de instrument, este necesar un volum al golurilor de 0,4 și, respectiv, 0,5 ml, adică trebuie furnizată o probă de minimum 2,8 și 5,3 ml la introducere. În cazul în care sunt disponibile volume ale plasmei mai mici de 2,8 sau 5,3 ml, modul **Less Sample** (Probă mai mică), ca parte integrantă a funcției protocolului, permite transferul de volume ale plasmei mai mici decât cele specificate. În acest caz, proba mai mică este transferată de instrument, iar volumul transferat este documentat în fișierul rezultat. În plus, probele respective sunt semnalizate cu **neclar** (cod de eroare 140043, modul **Enable Less Sample** (Activare probă mai mică)). Volumele minime ale plasmei la introducere care activează modul **Enable Less Sample** (Activare probă mai mică) sunt 1,6 ml (protocol PAXcircDNA 2400) și 4,1 ml (protocol PAXcircDNA 4800). Probele nu vor fi prelucrate și vor fi semnalizate ca **nevalide** dacă este furnizat un volum al probei mai mic. În cazul fluxului de lucru pentru manipularea eprubetelor primare, volumul corespunzător al probei este asigurat folosind instrumentul de selectare a protocolului de purificare a ADN-ului liber circulant (circulating cell-free DNA, ccfDNA) din sânge PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool inclus în kit și descris în secțiunea „B) Prepararea plasmei din sânge pentru manipularea eprubetelor primare pe instrumentul QIASymphony SP” de la pagina 3.

Sertarul „Sample” (Probă)

Tabel 2. Informații privind configurarea sertarului pentru probe*

Tip probă	Plasmă umană obținută din sânge venos integral recoltat în eprubete PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)
Volum probă la introducere (incl. volum goluri)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Consultați PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Consultați PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Eprubete pentru probă primare	PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm de 10 ml (BD™, cat. nr. 768165)
Eprubete pentru probă secundare	Eprubete 17 x 100 mm de 14 ml, din polistiren, cu capăt rotund (Corning®, cat. nr. 352051)
Elemente de inserție	nu se aplică
Altele	Proteinază K necesară în eprubete 17 x 100 mm de 14 ml, din polistiren, cu capăt rotund (Corning, cat. nr. 352051); a se utiliza numai pozițiile 1 și 2 ale suportului de eprubete (pentru fanta A)

* Consultați și lista instrumentarului de laborator disponibilă în fila Product Resources (Resurse produs) pe www.qiagen.com.
n/a, nu se aplică.

Eprubete de probe pentru suportul de eprubete

Tabel 3. Informații privind configurarea suportului de eprubete*

Nume pe ecranul tactil	Furnizor	Material	Exemplu cat. nr.	Element de inserție	PAXcircDNA_2400	PAXcircDNA_4800	PAXcircDNA_Primary Tube_2400	PAXcircDNA_Primary Tube_4000
BD #352051 FalconPP 17 x 100	Corning†	14 ml Falcon® polystyrene round-bottom tube 17 x 100 mm	352051	Nu este necesar niciun element de inserție	2,8 ml‡ 1,6 ml‡§ (Modul Enable Less Sample) (Activare probă mai mică)	5,3 ml‡ 4,1 ml‡§ (Modul Enable Less Sample) (Activare probă mai mică)	nu se aplică	nu se aplică
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm	768165	Nu este necesar niciun element de inserție	nu se aplică	nu se aplică	Consultați PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

* Consultați și lista instrumentarului de laborator disponibilă în fila Product Resources (Resurse produs) pe www.qiagen.com.

† Furnizat anterior de BD.

‡ Volumul minim al probei necesar per probă per protocol (inclusiv volumul golurilor); detecție a cheagului posibilă.

§ Volum minim al probei redus utilizând **modul Enable Less Sample** (Activare probă mai mică). **Modul Enable Less Sample** (Activare probă mai mică) a fost conceput pentru a se utiliza tot lichidul disponibil împreună cu detecția nivelului de lichid și detecția cheagului. **Modul Enable Less Sample** (Activare probă mai mică) conduce la semnalizarea probelor cu **neclare**.

n/a, nu se aplică.

Sertarul „Reagents and Consumables” (Reactivi și consumabile)

Poziția A1 și/sau A2	Cartuș cu reactivi
Poziția B1	nu se aplică
Support al stativului pentru vârfuri 1-17	Vârfuri cu filtru de unică folosință, 200 µl sau 1500 µl
Support al cutiilor individuale 1-4	Cutii individuale care conțin cartușe pentru prepararea probelor sau 8-Rod Covers

n/a = nu se aplică.

Sertarul „Waste” (Deșeuri)

Support al cutiilor individuale 1-4	Cutii individuale goale
Support al pungilor pentru deșeuri	Pungă pentru deșeuri
Support al flaconului de deșeuri lichide	Flacon de deșeuri lichide gol

Sertarul „Eluate” (Eluat)

Furnizor	Material	Exemplu cat. nr.	Categorie	Nume pe ecranul tactil	Adaptor în fanta de eluție 1 (răcită)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Incluse în kit (19588)	Deep Well	QIA#19588* EMTR	Elution Microtube Rack QS
Eppendorf®	1.5 ml DNA LoBind® Tube	0030108.051	Tube, 1,5 ml	EP#0030108.051** T1.5 Snap Cap	Snap-Cap Microtube
Sarstedt®	1.5 ml Microtube, PP, non-skirted	72607	Tube, 1.5 ml/ Tube, 1.5 ml Adapter V1 (no BC)	SAR#72.607* T1.5 Screw/SAR#72.607** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS
Sarstedt	2.0 ml Microtube, PP, non-skirted	72693	Tube 2.0 ml/ Tube_2.0ml AdapterV1 (no BC)	SAR#72.693 *T2.0 Screw	Microtube Screw Cap QS
Starlab®	1.5 ml Microtube, graduated conical tube, non-skirted	E1415-2231	Tube, 1.5 ml/ Tube_1.5ml AdapterV1 (no BC)	SL#E1415-2231 *T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS, 24-wells, cat. no. 9020674 (fanta 1 de răcire)
				SL#E1415-2231 **T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (fanta 1 de răcire)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1.5/2.0 ml QS (fante 2-4 fără funcție de răcire)

* Indică instrumentarul de laborator care poate fi răcit utilizând un adaptor de răcire cu cod de bare (transferabil și utilizabil pe QIASymphony AS).

** Indică instrumentarul de laborator care poate fi răcit utilizând un adaptor de răcire fără cod de bare (netransferabil și inutilizabil pe QIASymphony AS).

Componente din plastic necesare

Componente din plastic	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Un lot, 24 de probe*	Două loturi, 48 de probe*	Un lot, 24 de probe*	Două loturi, 48 de probe*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	24	48	24	48
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	64	128	104	200
Sample prep cartridges§	15	30	18	36
8-Rod Covers¶	3	6	3	6
	Trei loturi, 72 de probe*	Patru loturi, 96 de probe*	Trei loturi, 72 de probe*	Patru loturi, 96 de probe*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	72	96	72	96
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	192	256	296	392
Sample prep cartridges§	45	60	54	72
8-Rod Covers¶	9	12	9	12

* Utilizarea a mai puțin de 24 de probe pe lot scade numărul de vârfuri cu filtru de unică folosință necesar pentru fiecare testare. Efectuarea mai multor scanări ale inventarului necesită vârfuri cu filtru de unică folosință suplimentare.

† Există 32 de vârfuri cu filtru/stativ pentru vârfuri cu filtru.

‡ Numărul de vârfuri cu filtru necesare include vârfuri cu filtru pentru 1 scanare a inventarului pe cartuş cu reactivi.

§ Există 28 de cartușe de preparare a probei/cutie individuală.

¶ Există douăsprezece 8-Rod Covers/cutie individuală.

Notă: Numărul specificat de vârfuri cu filtru poate diferi de numărul afișat pe ecranul tactil, în funcție de setări. Recomandăm încărcarea unui număr maxim posibil de vârfuri.

Volum de eluție

Volum de eluție selectat (µl)*	Volum de eluție inițial (µl)†
60	75

* Acesta este volumul minim accesibil de eluat din eprubeta de eluție finală pentru stativul QIAGEN EMT (cat. nr. 19588) și eprubete Sarstedt de 1,5 ml cu capac cu filet (cat. nr. 72.607). În anumite cazuri, volumul de eluat final pentru fiecare probă în parte poate fi cu până la 5 µl mai mic.

† Volumul inițial de soluție-tampon de eluție necesară pentru a asigura că volumul de eluat propriu-zis este același cu volumul selectat.

Prepararea proteinazei K în poziția 1 (și dacă este necesar, în poziția 2) din fanta A

Kitul QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) conține soluție de proteinază K pregătită pentru utilizare. Proteinaza K poate fi depozitată la temperatura camerei (15-25 °C). Pentru depozitare pe perioade îndelungate, vă recomandăm să păstrați fiolele pentru enzime cu proteinază K la 2-8 °C.

Număr probă	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11660 µl†
96	11660 µl†	23320 µl†

* Pentru fiecare probă, sunt necesari 110 µl (pentru 2400 µl de plasmă) sau 220 µl (pentru 4800/4000 µl de plasmă), plus un volum suplimentar al golurilor de 1100 µl [(n x 110 or 220 µl) + 1100 µl].

† Dacă sunt necesari peste 11.660 µl, utilizați o a doua eprubetă (Corning, cat. nr. 352051). Pentru cea de-a doua eprubetă, este necesar un volum suplimentar al golurilor de 1100 µl.

Notă: Eprubetele care conțin proteinază K sunt așezate într-un suport de eprubete. Suportul de eprubete care conține proteinaza K trebuie așezat în pozițiile 1 și 2 în fanta A din sertarul „Sample” (Probă). Recomandăm utilizarea de eprubete 17 x 100 mm de 14 ml, din polistiren, cu capăt rotund (Corning, cat. nr. 352051) pentru proteinază K.

Istoricul revizuirilor

Data	Modificări
R1, 04/2021	Ediție inițială.
R2, 04/2021	Înlocuit „(CE 0123)” în format text normal în conformitate cu cerințele de proiectare din Anexa X la Regulamentul privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kit-ului QIAGEN respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare pentru kiturile QIAGEN sunt disponibile pe www.qiagen.com sau pot fi solicitate de la Serviciul tehnic QIAGEN sau distribuitorul dumneavoastră local.

Mărci comerciale: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN Group); PAXgene® (PreAnalytiX GmbH); BD™ (Becton Dickinson and Company); Corning®, Falcon® (Corning, Inc.); Eppendorf®, LoBind® (Eppendorf AG); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.); Starlab® (Starlab International GmbH). Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

Pentru comenzi www.qiagen.com/shop | Suport tehnic support.qiagen.com | Site web www.qiagen.com