

April 2021

Bruksanvisning till QIASymphony[®] SP Instrument (Protokollblad)

För PreAnalytiX QIASymphony PAXgene[®] Blood
ccfDNA Kit (CE-IVD) och PreAnalytiX PAXgene
Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; **CE**₀₁₂₃)

PAXgene Blood ccfDNA IVD-protokoll:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 och PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Allmän information

För in vitro-diagnostisk användning.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), som ska användas med QIASymphony SP-instrumentet, är avsedd för automatisk isolering och rening av cirkulerande cellfritt DNA (ccfDNA) från plasma genererat från humant venöst helblod som tagits med PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Reningsprocessen är optimerad för användning med plasma som genererats från humant venöst helblod som tagits med PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). Instruktioner om blodprovtagningsförfarandet finns i bruksanvisningen för PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) på produktens hemsida (www.PreAnalytiX.com).

Fyra olika protokoll togs fram för automatisk isolering av ccfDNA från plasma genererat från humant venöst helblod som tagits med PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). I standardversionerna kan provtagningens volymer på 2,4 eller 4,8 mL plasma väljas. Dessutom tillåter hanteringsprotokollen för primärrör direkt placering av PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) i QIASymphony SP-instrumentet. Hanteringsprotokollen för primärrör finns tillgängliga för provinmatningsvolymer på 2,4 eller 4,0 mL plasma (se tabellerna på nästa sidor).

Varje plasmavolym som används för ccfDNA-extraktion kräver relevanta provinmatningsvolym inklusive tom volym och relevant protokollskript som det sammanfattas i Tabell 1.

Tabell 1. Allmän information för användning av QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

Provmaterial	Human plasma genererat från venöst helblod som tagits med PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)			
Kit	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, kat.nr. 768566			
Programversion	Version 5.0 eller senare			
Protokoll	Protokollinje	Provinmatningsvolym (ink. tom volym) (mL)	Provvolum använd för ccfDNA-extraktion (mL)	(Assay Control_) Protokollnamn
	Standard	2,8	2,4	{ACS_} PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	{ACS_} PAXcircDNA_4800
	Primärrörshantering	enligt urvalsverktyg	2,4	{ACS_} PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	{ACS_} PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Plasmaberedning kan utföras med (A) standardprotokollet med dubbelcentrifugering eller (B) via primärrörshantering: direktbearbetning av det enkelcentrifugerade PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) för engångsbruk på QIASymphony SP-instrumentet.

A) Plasmaberedning från blod för standardprotokoll

1. Centrifugera PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) i rumstemperatur (15–25 °C) i 15 minuter vid 1600–3000 × g med en balanserad swing out bucket-centrifug. Om du föredrar bromsning, rekommenderas att du använder medelhög bromsning och att den valideras för ditt specifika arbetsflöde.

Obs! För bästa prestanda för prov som förvarats kyllda innan centrifugering, låt de komma upp i rumstemperatur innan bearbetning.

2. Pipettera plasma till ett 15 mL konformat centrifugrör (medföljer inte) och se till att du inte stör den nukleerade cellfraktionen.
3. Centrifugera det 15 mL konformade centrifugröret i 10 minuter i rumstemperatur (15–25 °C) i 1600–3000 × g med en balanserad centrifug.

Obs! Överstig inte den sekundära rörtillverkarens max rekommenderade centrifugeringshastighet.

4. Pipettera nödvändig plasmavolym (se avsnitt "Provolym" på sida 5) i ett 14 mL, 17 x 100 mm polystyrenrör med rund botten och se till att den kvarvarande blodkroppspelleten störs i förekommande fall.
5. Överför provröret med rund botten med plasmaprovet till provrörshållaren och ladda den i provinmatningslådan på QIASymphony SP-instrumentet.

Obs! Bearbeta den maximala volymen tillgänglig plasma för maximalt ccfDNA-utbyte.

Obs! Undvik skumbildning i eller på plasmaproven. Skum eller luftbubblor på proven kan leda till pipettering av fel provvolym.

Obs! Efter blodprovtagning och centrifugering kan plasma förvaras vid 2–8 °C i upp till 7 dagar. För längre förvaring rekommenderar vi frysning av alikvoter.

Obs! Vid användning av tidigare förvarade plasmaprover (t.ex. förvarade i 2–8 °C eller frusna i -20 eller -70 °C/-80 °C), ska dessa ekvibreras till rumstemperatur (15–25 °C) innan du startar körningen.

B) Plasmaberedning från blod för primärrörshantering på QIASymphony SP-instrumentet

1. Centrifugera PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) i rumstemperatur (15–25 °C) i 15 min vid 3000 × g med en balanserad swing out bucket-centrifug. Om du föredrar bromsning, rekommenderas att du använder medelhög bromsning och att den valideras för ditt specifika arbetsflöde.

Obs! För bästa prestanda för prov som förvarats kyllda innan centrifugering, låt de komma upp i rumstemperatur innan bearbetning.

2. Kvantifiera plasmavolymen i varje rör efter borttagning från centrifugen med PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool som medföljer kitet (Bild 1). När provröret tas ut från centrifugen ska den teal-färgade pilen på verktyget vara i linje med plasma-/cellgränssnittet. De blå linjerna indikerar om plasmanivån är tillräcklig för 2,4 eller 4,0 mL primärrörshandlingsprotokollet. En minsta plasmakolonnhöjd på 2,3 cm krävs för 2,4 mL-protokollet och minst 3,4 cm för 4,0 mL-protokollet.



Fastställ optimalt protokoll för att bearbeta
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)
direkt på QIASymphony SP-instrumentet

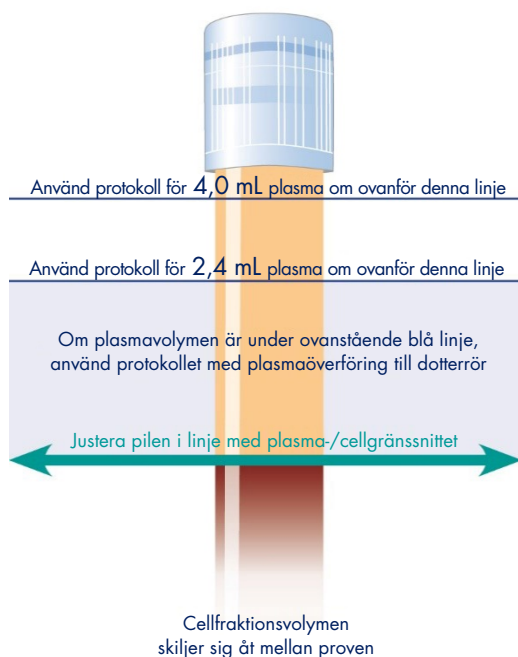


Bild 1. Plasmavolym bestämning med PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (enbart i illustrativt syfte, skriv inte ut eftersom faktisk storlek skiljer sig. Ej för användning med prov).

Obs! I fall där en tydlig separation mellan plasma och cellfraktion inte inträffade, eller när faserna av misstag blandades när de togs ut från centrifugen, bör centrifugeringen upprepas.

3. Ta bort Hemogard-locket från PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) innan de placeras i QIASymphony Sp-instrumentet för direkt ccfDNA-extraktion.
4. Placera de öppnade PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) som innehåller tillräckligt med plasma i provrörshållaren och ladda den i provinmatningslådan på QIASymphony SP-instrumentet.

Provvolymer

För att se till att 2,4 mL (PAXcircDNA_2400-protokollet) och 4,8 mL-prov (PAXcircDNA_4800-protokollet) överförs av instrumentet i det vanliga arbetsflödet, krävs en tom volym på 0,4 respektive 0,5 mL, vilket innebär att minst 2,8 och 5,3 mL provinmatning krävs. I fall när lägre plasmavolymer än 2,8 eller 5,3 mL finns tillgängliga, gör Less Sample-läget (mindre prov), en integrerad del av protokollfunktionen, att du kan överföra lägre plasmavolymer än de som listas. I sådana fall överförs mindre prov av instrumentet och den överförda volymen dokumenteras i resultatfilen. Dessutom flaggas respektive prov som oklart (felkod 140043, Enable Less Sample mode (aktivera mindre prov-läget)). Minsta plasmainmatningsvolym för att aktivera mindre prov-läget är 1,6 mL (PAXcircDNA 2400-protokollet) och 4,1 mL (PAXcircDNA 4800-protokollet). Proverna kommer inte bearbetas och kommer att flaggas som ogiltiga om mindre provvolym matas in. För arbetsflödet för primärrörshandling, tillses korrekt provvolym genom att använda PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool som ingår i kitet och beskrivs i avsnitt "B) Plasmaberedning från blod för primärrörshandling på QIASymphony SP-instrumentet" på sida 3.

Lådan "Sample" (prov)

Tabell 2. Information för konfiguration av provlådan*

Provtyp	Human plasma genererad från venöst helblod som tagits med PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)
Provinmatningsvolym (ink. tom volym)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Se PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Se PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Primära provrör	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm (BD™, kat.nr. 768165)
Sekundära provrör	14 ml 17 x 100 mm provrör i polystyren med rund botten (Corning®, kat.nr. 352051)
Insatser	Ej relevant
Övrigt	Proteinas K krävs i 14 ml 17 x 100 mm provrör i polystyren med rund botten (Corning, kat.nr. 352051); använd enbart position 1 och 2 på provrörshållaren (för fack A)

* Se även listan med labbmateriel under fliken Product Resources (produktresurser) på www.qiagen.com.
n/a, ej relevant.

Provrör för provrörshållare

Tabell 3. Information för konfiguration av provrörshållare*

Namn på pekskärm	Leverantör	Material	Exempel på kat.nr.	Insats	PAXcircDNA_2400	PAXcircDNA_4800	PAXcircDNA_PrimaryTube_2400	PAXcircDNA_PrimaryTube_4000
BD #352051 FalconPP 17 x 100	Corning [†]	14 ml Falcon® polystyrene round-bottom tube 17 x 100 mm	352051	Det behövs ingen insats	2,8 ml [‡]	5,3 ml [‡]	Ej relevant	Ej relevant
					1,6 ml ^{‡§} (Enable Less Sample mode (aktivera mindre prov-läget))	4,1 ml ^{‡§} (Enable Less Sample mode (aktivera mindre prov-läget))		
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm	768165	Det behövs ingen insats	Ej relevant	Ej relevant	Se PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

* Se även listan med labbmateriel under fliken Product Resources (produktresurser) på www.qiagen.com.

[†] Tidigare tillhandahållet av BD.

[‡] Minsta provvolym som krävs per prov per protokoll (inklusive tom volym); koageldetektering möjlig.

[§] Minskad minsta provvolym med hjälp av Enable Less Sample mode (aktivera mindre prov-läget). Aktivera mindre prov-läget har utformats för att använda all tillgänglig vätska i kombination med vätskenivådetektering och koageldetektering. Aktivera mindre prov-läget resulterar i oklar flaggning av prov.

n/a, ej relevant.

Lådan "Reagents and Consumables" (reagens och förbrukningsmaterial)

Position A1 och/eller A2	Reagenskasset
Position B1	Ej relevant
Spetsrackhållare 1-17	Engångsfilterspetsar, 200 µL or 1500 µL
Hållare för enhetslådor 1-4	Enhetslådor som innehåller provprepareringskassetter eller 8-Rod Covers

n/a = ej relevant.

Lådan "Waste" (avfall)

Hållare för enhetslådor 1-4	Tomma enhetslådor
Avfallspåshållare	Avfallspåse
Hållare för flaska för flytande avfall	Tom flaska för flytande avfall

Lådan "Eluate" (eluat)

Leverantör	Material	Exempel på kat.nr.	Kategori	Namn på pekskärm	Adapter på elueringsskåra 1 (kyld)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Medföljer i kitet (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, kat.nr. 9020674 (kylfack 1)
				SL#E1415-2231 **T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (kylfack 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1.5/2.0 ml QS (skåror, ej nedkylning 2-4)

* Indikerar labbmateriel som kan kylas med en kyladapter med streckkod (överföringsbar och användbar på QIASymphony AS).

** Indikerar labbmateriel som kan kylas med en kyladapter utan streckkod (icke-överföringsbar och inte användbar på QIASymphony AS).

Erforderliga plastartiklar

Plastartiklar	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	En batch, 24 prover*	Två batcher, 48 prover*	En batch, 24 prover*	Två batcher, 48 prover*
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
	Tre batcher, 72 prover*	Fyra batcher, 96 prover*	Tre batcher, 72 prover*	Fyra batcher, 96 prover*
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

* Om färre än 24 prover per batch används minskas antalet engångsfilterspetsar som krävs per körning. Om du utför mer än en inventarieskanning krävs det extra engångsfilterspetsar.

[†] Det finns 32 filterspetsar/filterspetsställ.

[†] Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskassett.

[§] Det finns 28 provberedningskassetter/enhetslåda.

[†] Det finns tolv 8-Rod Covers/enhetslåda.

Obs! Beroende på inställningarna kan antalet givna filterspetsar skilja sig från de siffror som visas på pekskärmen. Vi rekommenderar att det maximala antalet spetsar laddas.

Elueringsvolym

Vald elueringsvolym (µL)*	Första elueringsvolym (µL) [†]
60	75

* Detta är den minsta eluatvolym som är tillgänglig i det slutliga elueringsröret för QIAGENM EMT-stället (kat.nr. 19588) och 1,5 mL Sarstedt screw cap tubes (kat.nr. 72.607). I enskilda fall kan slutlig eluatvolym för enskilda prover vara upp till 5 µL mindre.

[†] Den initiala volym elueringsbuffert som krävs för att säkerställa att den faktiska eluatvolymen är densamma som den valda volymen.

Beredning av proteinas K i position 1 (och vid behov i position 2) för fack A

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) innehåller proteinas K-lösning som är redo för användning. Protein K kan förvaras i rumstemperatur (15–25 °C). Vid förvaring under längre tid rekommenderar vi att enzymflaskorna med proteinas K förvaras i 2–8 °C.

Provnummer	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1 980 µL	2 860 µL
24	3 740 µL	6 380 µL
48	6 380 µL	11 660 µL [†]
96	11 660 µL [†]	23 320 µL [†]

* För varje prov behövs 110 µL (för 2 400 µL plasma) eller 220 µL (för 4 800/4 000 µL plasma) plus en extra tom volym på 1 100 µL [(n x 110 eller 220 µL) + 1 100 µL].

[†] Om mer än 11 660 µL krävs, använd ett andra provrör (Corning, kat.nr. 352051). För det andra röret behövs ytterligare en tom volym på 1 100 µL.

Obs! Provrör innehållandes proteinas K placeras i en provrörshållare. Provrörshållaren med proteinas K måste placeras i positionerna 1 och 2 i fack A på lådan "Sample" (prov). Vi rekommenderar att du använder 14 ml 17 x 100 mm provrör i polystyren med rund botten (Corning, kat.nr. 352051) för proteinas K.

Revisionshistorik

Datum	Ändringar
R1, 04/2021	Startversion.
R2, 04/2021	Ersatte (CE 0123) i normal formattext med den som följer IVDR Annex X-designkraven

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive QIAGEN-kithandbok eller -bruksanvisning. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: 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). Registrerade namn, varumärken med mera som används i det här dokumentet ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, med ensamrätt.

Beställning www.qiagen.com/shop | Teknisk support support.qiagen.com | Webbplats www.qiagen.com