

April 2021

Gebrauchsan- weisung zum QIASymphony[®] SP Instrument (Protokollblatt)

Für das PreAnalytiX QIASymphony PAXgene[®] Blood
ccfDNA Kit (CE-IVD) und PreAnalytiX PAXgene
Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; **CE**⁰¹²³)

PAXgene Blood ccfDNA IVD-Protokolle:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 und PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Allgemeine Informationen

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen.

Das QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), das für die Verwendung mit dem QIASymphony SP-Instrument vorgesehen ist, ist für die automatisierte Isolierung und Aufreinigung zirkulierender zellfreier DNA (ccfDNA) aus Plasma bestimmt, das aus im PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) gesammeltem humanem venösem Vollblut gewonnen wurde.

Das Aufreinigungsverfahren ist für die Verwendung mit Plasma optimiert, das aus in PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) gesammeltem humanem venösem Vollblut gewonnen wurde. Anweisungen zur Blutentnahme finden Sie in der Gebrauchsanweisung zum PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) auf der Produkt-Homepage (www.PreAnalytiX.com).

Es wurden vier verschiedene Protokolle für die automatisierte Isolierung von ccfDNA aus Plasma etabliert, das aus in den PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) gesammeltem humanem venösem Vollblut gewonnen wurde. In den Standardversionen können als Probeneingabevolumen 2,4 oder 4,8 ml Plasma ausgewählt werden. Zudem erlauben die Protokolle zur Handhabung von Primärröhrchen das direkte Laden des PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) in das QIASymphony SP Gerät. Protokolle zur Handhabung von Primärröhrchen sind für Probeneingabevolumen von 2,4 oder 4,0 ml Plasma verfügbar (siehe Tabellen auf den nächsten Seiten).

Für jedes für die Extraktion von ccfDNA verwendete Plasmavolumen sind das relevante Probeneingabevolumen einschließlich Totvolumen sowie das relevante Protokollskript erforderlich, wie in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1. Allgemeine Informationen zur Verwendung des QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

Probenmaterial	Humanplasma, das aus in PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) gesammeltem venösem Vollblut gewonnen wurde			
Kit	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, Kat.-Nr. 768566			
Softwareversion	Version 5.0 oder höher			
Protokolle	Protokolllinie	Probeneingabevolumen (inkl. Totvolumen) (ml)	Für die ccfDNA-Extraktion verwendetes Probenvolumen (ml)	(Assay Control_) Protokollname
	Standard	2,8	2,4	(ACS_) PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	(ACS_) PAXcircDNA_4800
	Handhabung von Primärröhrchen	gemäß Auswahltool	2,4	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Die Plasmagewinnung kann (A) standardmäßig über das Protokoll mit zweifacher Zentrifugation erfolgen oder (B) über die Handhabung von Primärröhrchen: direkte Verarbeitung der einmal zentrifugierten PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) auf dem QIASymphony SP Gerät.

A) Plasmagewinnung aus Blut für Standardprotokolle

1. Zentrifugieren Sie das PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 15 Minuten lang bei Raumtemperatur (15–25 °C) und 1600–3000 × g. Verwenden Sie dafür eine unwuchtfrei beladene Zentrifuge mit Ausschwingbechern. Wenn Abbremsen bevorzugt wird, empfiehlt sich ein mittelstarkes Abbremsen, das vorher für Ihren spezifischen Arbeitsablauf validiert werden sollte.

Hinweis: Lassen Sie Proben, die vor der Zentrifugation gefroren waren, für eine optimale Leistung zunächst Raumtemperatur annehmen, bevor Sie mit der Verarbeitung beginnen.

2. Pipettieren Sie das Plasma in ein 15-ml-Röhrchen mit konischem Boden (nicht bereitgestellt). Achten Sie dabei darauf, die Fraktion mit den kernhaltigen Zellen nicht aufzuwirbeln.
3. Zentrifugieren Sie das 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit konischem Boden 10 Minuten lang bei Raumtemperatur (15–25 °C) und 1600–3000 × g in einer unwuchtfrei beladenen Zentrifuge.

Hinweis: Überschreiten Sie nicht die vom Hersteller des Sekundärröhrchens empfohlene maximale Drehzahl.

4. Pipettieren Sie das nötige Plasmavolumen (siehe Abschnitt „Probenvolumen“ auf Seite 5) in ein 14-ml-Polystyrol-Röhrchen, 17 × 100 mm mit Rundboden. Achten Sie dabei darauf, das verbliebene Blutzellpellet (falls vorhanden) nicht aufzuwirbeln.
5. Setzen Sie das Rundboden-Röhrchen mit der Plasmaprobe in den Röhrchenträger und laden Sie diesen in die Probenzufuhrschublade des QIASymphony SP Geräts.

Hinweis: Verarbeiten Sie für eine maximale Ausbeute an ccfDNA das maximal verfügbare Plasmavolumen.

Hinweis: Vermeiden Sie Schaumbildung in und auf den Plasmaproben. Schaum oder Luftblasen auf Proben können zur Pipettierung eines falschen Probenvolumens führen.

Hinweis: Nach der Blutentnahme und Zentrifugation kann das Plasma bei 2–8 °C bis zu 7 Tage lang aufbewahrt werden. Zur längerfristigen Lagerung wird das Einfrieren in Aliquoten empfohlen.

Hinweis: Bei Verwendung zuvor gelagerter Plasmaproben (z. B. bei 2–8 °C oder gefroren bei –20 oder –70 °C/–80 °C) sind diese vor Laufbeginn auf Raumtemperatur (15–25 °C) zu äquilibrieren.

B) Plasmagewinnung aus Blut bei Handhabung von Primärrohrrchen auf dem QIASymphony SP Gerät

1. Zentrifugieren Sie das PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 15 min lang bei Raumtemperatur (15–25 °C) und $3000 \times g$ in einer unwuchtfrei beladenen Zentrifuge mit Ausschwingbechern. Wenn Abbremsen bevorzugt wird, empfiehlt sich ein mittelstarkes Abbremsen, das vorher für Ihren spezifischen Arbeitsablauf validiert werden sollte.

Hinweis: Lassen Sie Proben, die vor der Zentrifugation gefroren waren, für eine optimale Leistung zunächst Raumtemperatur annehmen, bevor Sie mit der Verarbeitung beginnen.

2. Quantifizieren Sie nach der Entnahme aus dem Zentrifugenbecher das Plasmavolumen in jedem Röhrchen mithilfe des im Kit enthaltenen PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (Abbildung 1). Nach der Entnahme aus der Zentrifuge wird der blaue Pfeil auf dem Tool auf die Grenzfläche zwischen Plasma- und Zellfraktion ausgerichtet. Die blauen Linien geben an, ob die Menge an Plasma ausreichend für das Protokoll zur Handhabung von Primärrohrrchen mit 2,4 ml oder 4,0 ml ist. Für das 2,4-ml-Protokoll wird eine Mindesthöhe der Plasmasäule von 2,3 cm und für das 4,0-ml-Protokoll eine Mindesthöhe von 3,4 cm benötigt.



Abbildung 1. Bestimmung des Plasmavolumens mit dem PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool. (Diese Abbildung dient ausschließlich zu Illustrationszwecken. Bitte nicht drucken, da die tatsächliche Größe abweicht – nicht mit Proben verwenden.)

Hinweis: Falls keine klare Trennung zwischen Plasma- und Zellfraktion aufgetreten ist oder die Phasen bei der Entnahme aus der Zentrifuge versehentlich vermischt wurden, ist die Zentrifugation zu wiederholen.

3. Entfernen Sie die Hemogard-Verschlusskappe von den PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD), bevor Sie sie für die ccfDNA-Extraktion direkt in das QIASymphony SP Gerät setzen.
4. Setzen Sie die geöffneten PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD), die ausreichend Plasma enthalten, in den Röhrenträger und laden Sie den Röhrenträger in die Probenzufuhrschublade des QIASymphony SP Geräts.

Probenvolumen

Um sicherzustellen, dass im regulären Arbeitsablauf 2,4 ml (Protokoll PAXcircDNA_2400) und 4,8 ml Probe (Protokoll PAXcircDNA_4800) vom Gerät überführt werden, ist ein Totvolumen von 0,4 bzw. 0,5 ml erforderlich. Das bedeutet, es muss ein Probenvolumen von insgesamt mindestens 2,8 bzw. 5,3 ml eingesetzt werden. Liegt das verfügbare Plasmavolumen unter 2,8 bzw. 5,3 ml, erlaubt der Modus „Enable Less Sample“ (Modus für geringeres Probenvolumen) als integrierter Teil der Protokollfunktion die Überführung von geringeren als den aufgeführten Plasmavolumen. In diesem Fall wird vom Gerät weniger Probe überführt und das überführte Volumen wird in der Ergebnisdatei dokumentiert. Zudem werden die entsprechenden Proben als „unklar“ (Fehlercode 140043, Modus „Enable Less Sample“ (Modus für geringeres Probenvolumen)) gekennzeichnet. Das minimale Plasmaeingabevolumen für den Modus „Enable Less Sample“ (Modus für geringeres Probenvolumen) beträgt 1,6 ml (Protokoll PAXcircDNA 2400) und 4,1 ml (Protokoll PAXcircDNA 4800). Wenn weniger Probenvolumen bereitgestellt wird, werden die Proben nicht verarbeitet und als „ungültig“ gekennzeichnet. Für den Arbeitsablauf mit Handhabung von Primärröhrchen wird das geeignete Probenvolumen durch das PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool gewährleistet, welches im Lieferumfang des Kits enthalten und im Abschnitt „B) Plasmagewinnung aus Blut bei Handhabung von Primärröhrchen auf dem QIASymphony SP Gerät“ auf Seite 4 beschrieben ist.

Schublade „Sample“ (Probe)

Tabelle 2. Informationen zur Einrichtung der Probenschublade*

Probetyp	Humanplasma, das aus in PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) gesammeltem venösem Vollblut gewonnen wurde
Probeneingabevolumen (inkl. Totvolumen)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Siehe PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Siehe PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Primärprobenröhrchen	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm (BD™, Kat.-Nr. 768165)
Sekundärprobenröhrchen	14 ml, 17 x 100 mm, Polystyrol-Röhrchen mit Rundboden (Corning®, Kat.-Nr. 352051)
Einsätze	n. z.
Sonstige	Proteinase K erforderlich für 14 ml, 17 x 100 mm, Polystyrol-Röhrchen mit Rundboden (Corning, Kat.-Nr. 352051); nur Positionen 1 und 2 des Röhrchenträgers verwenden (für Stellplatz A)

* Siehe auch Labormaterialliste unter der Registerkarte „Product Resources“ (Produktressourcen) unter www.qiagen.com.
n. z. = nicht zutreffend

Probenröhrchen für den Röhrchenträger

Tabelle 3. Informationen zur Einrichtung des Röhrchenträgers*

Bezeichnung auf Touchscreen	Hersteller	Material	Beispiel-Kat.-Nr.	Einsatz	PAXcircDNA_2400	PAXcirc DNA_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	Kein Einsatz erforderlich	2,8 ml† 1,6 ml‡§ (Modus „Enable Less Sample“ (Modus für geringeres Proben-volumen))	5,3 ml† 4,1 ml‡§ (Modus „Enable Less Sample“ (Modus für geringeres Proben-volumen))	n. z.	n. z.
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm	768165	Kein Einsatz erforderlich	n. z.	n. z.	Siehe PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

* Siehe auch Labormaterialliste unter der Registerkarte „Product Resources“ (Produktressourcen) unter www.qiagen.com.

† Bisher bereitgestellt von BD.

‡ Erforderliches Mindestprobenvolumen je Probe gemäß Protokoll (einschließlich Totvolumen); Gerinnselerkennung möglich.

§ Reduziertes Mindestprobenvolumen mit Modus „Enable Less Sample“ (Modus für geringeres Probenvolumen). Der Modus „Enable Less Sample“ (Modus für geringeres Probenvolumen) wurde konzipiert, um die gesamte verfügbare Flüssigkeit mit Flüssigkeitsstand-Detektion und Gerinnselerkennung nutzen zu können. Der Einsatz des Modus „Enable Less Sample“ (Modus für geringeres Probenvolumen) führt zu einer Kennzeichnung der Proben als „unklar“.

n. z. = nicht zutreffend

Schublade „Reagents and Consumables“ (Reagenzien und Verbrauchsmaterialien)

Position A1 und/oder A2	Reagenzienkartusche
Position B1	n. z.
Halter für Spitzenracks, Positionen 1-17	Einmal-Filterspitzen, 200 µl oder 1500 µl
Halter für Verbrauchsartikel-Container 1-4	Verbrauchsartikel-Container enthalten Probenvorbereitungskartuschen oder 8-Rod Covers.

n. z. = nicht zutreffend

Schublade „Waste“ (Abfall)

Halter für Verbrauchsartikel-Container 1-4	Leercontainer für Verbrauchsartikel
Halter für Abfallbeutel	Abfallbeutel
Halter für Flüssigabfallbehälter	Leerer Flüssigabfallbehälter

Schublade „Eluate“ (Eluat)

Hersteller	Material	Beispiel-Kat.-Nr.	Kategorie	Bezeichnung auf Touchscreen	Adapter Elutions-Stellplatz 1 (gekühlt)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Im Kit enthalten (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 (Kühlstellplatz 1)
				SL#E1415-2231** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (Kühlstellplatz 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1.5/2.0 ml QS (ungekühlte Stellplätze 2-4)

* Kennzeichnet Labormaterial, das mit einem Kühladapter mit Barcode gekühlt werden kann (übertragbar auf bzw. verwendbar mit QIASymphony AS).

** Kennzeichnet Labormaterial, das mit einem Kühladapter ohne Barcode gekühlt werden kann (nicht übertragbar auf bzw. nicht verwendbar mit QIASymphony AS).

Erforderliche Kunststoff-Verbrauchsartikel

Kunststoff- Verbrauchsartikel	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Eine Charge, 24 Proben*	Zwei Chargen, 48 Proben*	Eine Charge, 24 Proben*	Zwei Chargen, 48 Proben*
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
	Drei Chargen, 72 Proben*	Vier Chargen, 96 Proben*	Drei Chargen, 72 Proben*	Vier Chargen, 96 Proben*
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

* Bei Verwendung von weniger als 24 Proben je Charge verringert sich die Anzahl der pro Lauf benötigten Einmal-Filterspitzen. Bei Durchführung von mehr als einem Inventar-Scan sind zusätzliche Einmal-Filterspitzen erforderlich.

[†] Jedes Filterspitzen-Rack enthält 32 Filterspitzen.

[‡] Bei der Anzahl der erforderlichen Filterspitzen sind die für 1 Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche benötigten Filterspitzen eingerechnet.

[§] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenvorbereitungskartuschen.

[‡] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Rod Covers.

Hinweis: Die angegebene Anzahl von Filterspitzen kann je nach Einstellung von der auf dem Touchscreen angezeigten Anzahl abweichen. Wir empfehlen, die höchstmögliche Anzahl von Spitzen zu laden.

Elutionsvolumen

Ausgewähltes Elutionsvolumen (µl)*	Eingesetztes Elutionsvolumen (µl) [†]
60	75

* Dies ist das minimal erhaltene Eluatvolumen im endgültigen Elutionsröhrchen für das QIAGEN EMT Rack (Kat-Nr. 19588) und 1,5-ml-Röhrchen mit Schraubdeckel von Sarstedt (Kat.-Nr. 72.607). In Einzelfällen kann das endgültige Eluatvolumen bei Einzelproben bis zu 5 µl geringer ausfallen.

[†] Das eingesetzte Volumen an Elutionspuffer, das erforderlich ist, um sicherzustellen, dass das erhaltene Eluatvolumen dem ausgewählten Volumen entspricht.

Vorbereitung von Proteinase K an Position 1 (und, falls erforderlich, Position 2) von Stellplatz A

Das QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) enthält eine gebrauchsfertige Proteinase-K-Lösung. Proteinase K kann bei Raumtemperatur (15–25 °C) gelagert werden. Bei längerfristiger Lagerung empfehlen wir die Aufbewahrung der Enzymfläschchen mit Proteinase K bei 2–8 °C.

Probennummer	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 [†]

* Je Probe sind 110 µl (bei 2400 µl Plasma) oder 220 µl (bei 4800/4000 µl Plasma) sowie ein zusätzliches Totvolumen von 1100 µl erforderlich [(n x 110 oder 220 µl) + 1100 µl].

[†] Falls mehr als 11660 µl benötigt werden, ist ein zweites Röhrchen zu verwenden (Corning, Kat.-Nr. 352051). Beim zweiten Röhrchen ist ein zusätzliches Totvolumen von 1100 µl erforderlich.

Hinweis: Röhrchen mit Proteinase K werden in einen Röhrchenträger gesetzt. Der Röhrchenträger mit Proteinase K muss in Positionen 1 und 2 von Stellplatz A der Schublade „Sample“ (Probe) gesetzt werden. Wir empfehlen die Verwendung der 14 ml, 17 x 100 mm, Polystyrol-Röhrchen mit Rundboden (Corning, Kat.-Nr. 352051) für Proteinase K.

Bearbeitungsverlauf

Datum	Änderungen
R1, 04/2021	Erstversion.
R2, 04/2021	„(CE 0123)“ in normalem formellem Text so ersetzt, dass die Designanforderungen des Anhangs X der IVDR erfüllt werden.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit- oder Benutzerhandbuch. Handbücher und Benutzerhandbücher zu QIAGEN-Kits sind unter www.qiagen.com verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

Marken: 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). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Bestellungen www.qiagen.com/shop | Technischer Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com