

Abril de 2021

Instrucciones de uso (hoja de protocolo) del instrumento QIASymphony[®] SP

Para el PreAnalytiX QIASymphony PAXgene[®] Blood
ccfDNA Kit (CE-IVD) y el PreAnalytiX PAXgene
Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; **CE**⁰¹²³)

Protocolos de PAXgene Blood ccfDNA IVD:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 y PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Información general

Para uso diagnóstico in vitro.

El QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), que debe utilizarse con el instrumento QIASymphony SP, está previsto para el aislamiento y la purificación automatizados de ADN circulante libre (Circulating Cell-Free DNA, ccfDNA) de plasma generado a partir de sangre total venosa humana recogida en el PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

El procedimiento de purificación está optimizado para su uso con plasma generado a partir de sangre total venosa humana recogida en los PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). Para obtener instrucciones sobre el procedimiento de extracción de sangre, consulte las instrucciones de uso del PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) en la página de inicio del producto (www.PreAnalytiX.com).

Se establecieron cuatro protocolos diferentes para el aislamiento automatizado de ADN circulante libre (Circulating Cell-Free DNA, ccfDNA) de plasma generado a partir de sangre total venosa humana recogida en los PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). En las versiones estándar, se pueden seleccionar volúmenes de entrada de muestra de 2,4 o 4,8 ml de plasma. Además, los protocolos de manipulación de tubos primarios permiten la colocación directa del PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) en el instrumento QIASymphony SP. Los protocolos de manipulación de tubos primarios se encuentran disponibles para volúmenes de entrada de muestra de 2,4 o 4,0 ml de plasma (consulte las tablas en las páginas siguientes).

Cada volumen de plasma que se utiliza en la extracción de ADN circulante libre (Circulating Cell-Free DNA, ccfDNA) requiere el volumen de entrada de la muestra correspondiente, incluidos el volumen de vacío y el script de protocolo correspondiente, como se resume en la Tabla 1.

Tabla 1. Información general de uso del QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

Material de muestra	Plasma humano generado a partir de sangre total venosa recogida en PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)			
Kit	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, n.º de cat. 768566			
Versión del software	Versión 5.0 o superior			
Protocolos	Línea de protocolo	Volumen de entrada de la muestra (incluido el volumen de vacío) (ml)	Volumen de la muestra utilizado en la extracción de ADN circulante libre (Circulating Cell-Free DNA, ccfDNA) (ml)	(Assay Control_) Nombre del protocolo
	Estándar	2,8	2,4	(ACS_) PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	(ACS_) PAXcircDNA_4800
	Manipulación de tubos primarios	según la herramienta de selección	2,4	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

La preparación del plasma puede llevarse a cabo con (A) el protocolo de doble centrifugación estándar o (B) a través de la manipulación del tubo primario: procesamiento directo de los PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) centrifugados una sola vez en el instrumento QIASymphony SP.

A) Preparación de plasma de sangre para protocolos estándar

1. Centrifugue el PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) a temperatura ambiente (15-25 °C) durante 15 minutos a 1600-3000 × g con una centrifugadora de cubo basculante equilibrada. Si se prefiere el frenado, se recomienda usar un frenado de nivel medio que debe estar validado para el flujo de trabajo específico.

Nota: Para obtener un rendimiento óptimo de las muestras que se conservan refrigeradas antes de la centrifugación, espere a que los tubos recuperen la temperatura ambiente antes de procesarlos.

2. Pipetee el plasma en un tubo de centrifugadora de fondo cónico de 15 ml (no suministrado), asegurándose de no alterar la fracción celular nucleada.
3. Centrifugue el tubo de centrifugadora de fondo cónico de 15 ml durante 10 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C) a 1600-3000 × g con una centrifugadora equilibrada.

Nota: No supere la velocidad de centrifugación máxima del tubo secundario recomendada por el fabricante.

4. Pipetee el volumen de plasma necesario (consulte la sección "Volumen de muestra" en la página 6) en un tubo de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml, 17 × 100 mm, asegurándose de no alterar el sedimento celular de la sangre residual, si lo hubiera.

5. Transfiera el tubo de fondo redondeado con la muestra de plasma al portatubos y cargue el portatubos en el cajón de entrada de muestras del instrumento QIASymphony SP.

Nota: Para obtener el máximo rendimiento del ADN circulante libre (Circulating Cell-Free DNA, ccfDNA), procese el volumen máximo de plasma disponible.

Nota: Evite la formación de espuma en el interior o en la superficie de las muestras de plasma. La espuma o las burbujas de aire en las muestras pueden provocar el pipeteado de un volumen de muestra incorrecto.

Nota: Tras la extracción y centrifugación de la sangre, el plasma puede conservarse a 2-8 °C hasta 7 días. Para períodos de conservación más largos, recomendamos congelar partes alícuotas.

Nota: Si se utilizan muestras de plasma previamente almacenadas (p. ej., conservadas a 2-8 °C o congeladas a -20 o -70 °C/-80 °C), estas deben equilibrarse a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de comenzar la serie.

B) Preparación de plasma de sangre para la manipulación del tubo primario en el instrumento QIASymphony SP

1. Centrifugue el PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) a temperatura ambiente (15-25 °C) durante 15 min a 3000 × g con una centrifugadora de cubo basculante equilibrada. Si se prefiere el frenado, se recomienda usar un frenado de nivel medio que debe estar validado para el flujo de trabajo específico.

Nota: Para obtener un rendimiento óptimo de las muestras que se conservan refrigeradas antes de la centrifugación, espere a que los tubos recuperen la temperatura ambiente antes de procesarlos.

2. Cuantifique el volumen de plasma en cada tubo tras retirarlo del cubo de la centrifugadora con la herramienta PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool suministrada como contenido del kit (Figura 1). Al retirar el tubo de la centrifugadora, la flecha de color verde azulado en la herramienta está alineada con el punto de contacto entre el plasma y la célula. Las líneas azules indican si el nivel de plasma es suficiente para el protocolo de manipulación de tubos primarios de 2,4 o 4,0 ml. Se necesita una altura de columna de plasma mínima de 2,3 cm para el protocolo de 2,4 ml y un mínimo de 3,4 cm, para el protocolo de 4,0 ml.

Determine el protocolo óptimo para procesar los PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) directamente en el instrumento QIASymphony SP

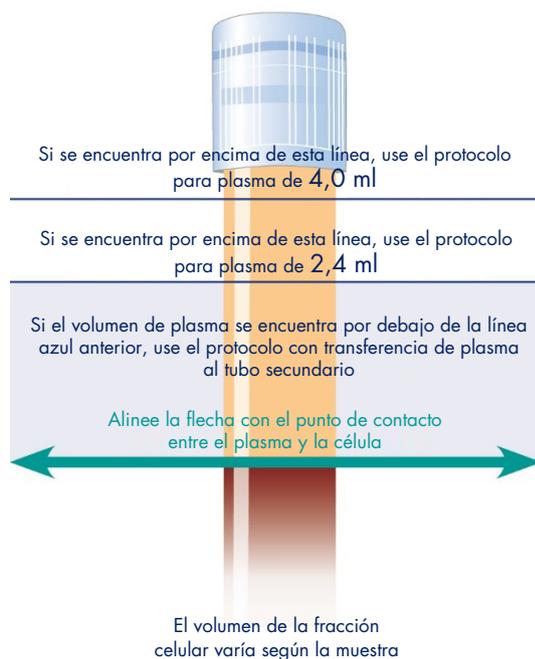


Figura 1. Determinación del volumen de plasma con la herramienta PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (esto solo tiene fines ilustrativos, no lo imprima porque el tamaño real varía, no debe usarse con las muestras).

Nota: En caso de que no se haya producido una separación clara entre el plasma y la fracción celular o que las fases se hayan mezclado accidentalmente al retirarlas de la centrifugadora, debe repetirse la centrifugación.

3. Retire el Hemogard Closure Cap de los PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) antes de colocarlos en el instrumento QIASymphony SP para una extracción directa de ADN circulante libre (Circulating Cell-Free DNA, ccfDNA).
4. Coloque los PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) abiertos que contienen suficiente plasma en el portatubos y cargue el portatubos en el cajón de entrada de muestras del instrumento QIASymphony SP.

Volumen de muestra

Para asegurarse de que, en el flujo de trabajo habitual, el instrumento transfiera 2,4 ml de muestra (protocolo PAXcircDNA_2400) y 4,8 ml de muestra (protocolo PAXcircDNA_4800), se requiere un volumen de vacío de 0,4 y 0,5 ml, respectivamente; lo que significa que debe proporcionarse una entrada de la muestra de 2,8 y 5,3 ml como mínimo. En caso de que se encuentren disponibles volúmenes de plasma inferiores a 2,8 o 5,3 ml, el modo Less Sample (Muestra menor) como parte integrante de la función de protocolo permite la transferencia de volúmenes de plasma más bajos que los mencionados. En este caso, el instrumento transfiere una cantidad menor de muestra y el volumen transferido se documenta en el archivo de resultados. Además, las respectivas muestras se marcan como dudosa (código de error 140043, modo Enable Less Sample [Habilitar muestra menor]). Los volúmenes de entrada de plasma mínimos para habilitar el modo Less Sample (Muestra menor) son 1,6 ml (protocolo PAXcircDNA 2400) y 4,1 ml (protocolo PAXcircDNA 4800). Las muestras no se procesarán y se marcarán como no válida si se proporciona menos volumen de muestra. Para el flujo de trabajo de manipulación de tubos primarios, el volumen de muestra adecuado se garantiza mediante el uso de la herramienta PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool que se suministra como contenido del kit y se describe en la sección “B) Preparación de plasma de sangre para la manipulación del tubo primario en el instrumento QIASymphony SP” en la página 4.

Cajón “Sample” (Muestra)

Tabla 2. Información para la configuración del cajón de muestras*

Tipo de muestra	Plasma humano generado a partir de sangre total venosa recogida en PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)
Volumen de entrada de la muestra (incluido el volumen de vacío)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Consulte PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Consulte PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Tubos de muestra primarios	PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) de 10 ml 16 x 100 mm (BD™, n.º de cat. 768165)
Tubos de muestras secundarios	Tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml de 17 x 100 mm (Corning®, n.º de cat. 352051)
Insertos	n/a
Otro	Proteinasa K necesaria en tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml de 17 x 100 mm (Corning, n.º de cat. 352051), use solamente las posiciones 1 y 2 del portatubos (para la ranura A)

* Consulte también la lista de material de laboratorio disponible en la pestaña Product Resources (Recursos de productos) en www.qiagen.com.
n/a, no aplicable.

Tubos de muestra para portatubos

Tabla 3. Información para la configuración del portatubos*

Nombre que aparece en la pantalla táctil	Proveedor	Material	N.º de catálogo de ejemplo	Inserto	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	No se necesita inserto	2,8 ml‡ 1,6 ml‡§ (modo Enable Less Sample [Habilitar muestra menor])	5,3 ml‡ 4,1 ml‡§ (modo Enable Less Sample [Habilitar muestra menor])	n/a	n/a
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm	768165	No se necesita inserto	n/a	n/a	Consulte PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

* Consulte también la lista de material de laboratorio disponible en la pestaña Product Resources (Recursos de productos) en www.qiagen.com.

† Anteriormente suministrado por BD.

‡ Volumen de muestra mínimo necesario por muestra por protocolo (incluido el volumen de vacío); es posible la detección de coágulos.

§ Volumen de muestra mínimo reducido mediante el uso del modo Enable Less Sample (Habilitar muestra menor). El modo Enable Less Sample (Habilitar muestra menor) se ha diseñado para usar todo el líquido disponible junto con la detección de nivel de líquido y la detección de coágulos. El modo Enable Less Sample (Habilitar muestra menor) da lugar a la marca dudosa de las muestras.

n/a, no aplicable.

Cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles)

Posición A1 y/o A2	Cartucho de reactivos
Posición B1	n/a
Soporte de gradillas de puntas 1-17	Puntas con filtro desechables, 200 µl o 1500 µl
Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias que contienen cartuchos de preparación de muestras o 8-Rod Covers

n/a = no aplicable.

Cajón "Waste" (Residuos)

Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias vacías
Soporte de la bolsa de desechos	Bolsa de desechos
Soporte para frasco de desechos líquidos	Frasco de desechos líquidos vacío

Cajón "Eluate" (Eluidos)

Proveedor	Material	N.º de catálogo de ejemplo	Categoría	Name in touchscreen	Adaptador en la ranura de elución 1 (refrigerada)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Se suministran con el 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**	Snap-Cap Microtube T1.5 Snap Cap
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, n.º de cat. 9020674 (ranura de refrigeración 1)
				SL#E1415-2231** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (ranura de refrigeración 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1.5/2.0 ml QS (ranuras sin refrigeración 2-4)

* Indica material de laboratorio que se puede refrigerar con un adaptador de refrigeración dotado de código de barras (puede transferirse y utilizarse en el QIASymphony AS).

** Indica material de laboratorio que se puede refrigerar con un adaptador de refrigeración sin código de barras (no puede transferirse ni utilizarse en el QIASymphony AS).

Materiales plásticos necesarios

Material de plástico	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Un lote, 24 muestras*	Dos lotes, 48 muestras*	Un lote, 24 muestras*	Dos lotes, 48 muestras*
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
	Tres lotes, 72 muestras*	Cuatro lotes, 96 muestras*	Tres lotes, 72 muestras*	Cuatro lotes, 96 muestras*
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

* Si se utilizan menos de 24 muestras por lote se reduce el número de puntas con filtro desechables necesarias por serie analítica. Para realizar más de un examen de inventario, se requieren puntas con filtro desechables adicionales.

† Hay 32 puntas con filtro por gradilla de puntas de filtro.

‡ El número de puntas con filtro necesarias incluye las puntas con filtro para 1 examen de inventario por cartucho de reactivos.

§ Hay 28 cartuchos de preparación de muestras por caja unitaria.

¶ Hay doce cubiertas para 8-Rod Covers por caja unitaria.

Nota: Los números de puntas con filtro proporcionados pueden diferir de los números mostrados en la pantalla táctil dependiendo de la configuración. Recomendamos cargar el número máximo posible de puntas.

Volumen de elución

Volumen de elución seleccionado (µl)*	Volumen de elución inicial (µl)†
60	75

* Este es el volumen accesible mínimo de eluido en el tubo de elución final para la QIAGEN EMT rack (n.º de cat. 19588) y 1.5 ml Sarstedt screw cap tubes (n.º de cat. 72.607). En casos individuales, el volumen de eluido final para determinadas muestras puede ser hasta 5 µl menor.

† Volumen inicial de tampón de elución necesario para garantizar que el volumen real de eluido sea el mismo que el volumen seleccionado.

Preparación de proteinasa K en posición 1 (y, si es necesario, en la posición 2) de la ranura A

El QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) contiene solución de proteinasa K lista para usar. La proteinasa K puede conservarse a temperatura ambiente (15-25 °C). Para conservación durante períodos de tiempo prolongados, le sugerimos mantener los viales de enzimas con proteinasa K a una temperatura de 2-8 °C.

Número de muestras	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11.660 µl†
96	11.660 µl†	23.320 µl†

* Para cada muestra se requieren 110 µl (para 2400 µl de plasma) o 220 µl (para 4800/4000 µl de plasma) más un volumen vacío adicional de 1100 µl [(n x 110 o 220 µl) + 1100 µl].

† Si se necesitan más de 11.660 µl, use un segundo tubo (Corning, n.º de cat. 352051). Para el segundo tubo se requiere un volumen vacío adicional de 1100 µl.

Nota: Se colocan tubos que contienen proteinasa K en un portatubos. El portatubos que contiene la proteinasa K debe colocarse en las posiciones 1 y 2 en la ranura A del cajón "Sample" (Muestras). Recomendamos el uso de tubos de muestra de poliestireno de 14 ml, 17 x 100 mm y fondo redondeado (Corning, n.º de cat. 352051) para proteinasa K.

Historial de revisiones

Fecha	Cambios
R1, 04/2021	Versión inicial.
R2, 04/2021	Se ha sustituido "(CE 0123)" en texto de formato normal por el que sigue los requisitos de diseño del Anexo X de IVDR.

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales de uso y las guías de usuario del kit de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: 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). No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etcétera, que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley, aunque no se indique específicamente.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

Pedidos www.qiagen.com/shop | Servicio técnico support.qiagen.com | Sitio web www.qiagen.com