

April 2021

Bruksanvisning for QIASymphony[®] SP-instrument (protokollskjema)

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

PAXgene Blood ccfDNA IVD-protokoller:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 og PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Generell informasjon

Til in vitro-diagnostisk bruk.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) som skal brukes sammen med QIASymphony SP-instrumentet, er beregnet til bruk til automatisk isolering og rensing av sirkulerende cellefritt DNA (ccfDNA) fra plasma generert fra humant venøst fullblod tatt i et PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Renseprosedyren er optimalisert for bruk med plasma generert fra humant venøst fullblod tatt i PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). Du finner instruksjoner om blodtakingsprosedyren i bruksanvisningen for PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) på produktets hjemmeside (www.PreAnalytiX.com).

Fire forskjellige protokoller ble etablert for automatisert isolering av ccfDNA fra plasma generert fra humant venøst fullblod tatt i PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). I standardversjonene kan du velge inngangsvolum på 2,4 eller 4,8 ml plasma. Protokoller for håndtering av primærrør tillater også direkte plassering av PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) i QIASymphony SP-instrumentet. Protokoller for håndtering av primærrør er tilgjengelige for prøveinngangsvolum på 2,4 eller 4,0 ml plasma (se tabellene på de neste sidene).

Hvert plasmavolum som brukes til ccfDNA-ekstraksjon, må ha det relevante prøveinngangsvolumet inkludert dødsvolum i tillegg til det relevante protokollskriptet angitt i tabell 1.

Tabell 1. Generell informasjon for bruk av QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

| | | | | |
|---------------------------|---|--|---|---------------------------------------|
| Prøvemateriale | Humant plasma generert fra venøst fullblod tatt i PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) | | | |
| Sett | QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, kat.nr. 768566 | | | |
| Programvareversjon | Versjon 5.0 eller høyere | | | |
| Protokoller | Protokollinje | Prøveinngangsvolum (inkl. dødsvolum) (ml) | Prøvevolum brukt til ccfDNA-ekstraksjon (ml) | (Assay Control_) Protokollnavn |
| | Standard | 2,8 | 2,4 | (ACS_) PAXcircDNA_2400 |
| | | 5,3 | 4,8 | (ACS_) PAXcircDNA_4800 |
| | Håndtering av primærrør | i henhold til valgverktøy | 2,4 | (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400 |
| | | | 4,0 | (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000 |

Klargjøring av plasma kan gjøres ved hjelp av (A) standard dobbeltsentrifugeringsprotokoll eller (B) via håndtering av primærrør: direkte behandling av engangssentrifugerte PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) i QIASymphony SP-instrumentet.

A) Klargjøring av plasma fra blod for standardprotokoller

1. Sentrifuger PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) ved romtemperatur (15–25 °C) i 15 minutter ved 1600–3000 × g ved bruk av en kurvsentrifuge med balansert roterende beholder. Hvis bremsing foretrekkes, anbefales bruk av middels kraftig bremsing, og bremsingen må være godkjent for den aktuelle arbeidsflyten.

Merk: Når det gjelder prøver som har vært nedkjølt før sentrifugering, vil resultatet bli best hvis rørene oppnår romtemperatur før behandling.

2. Pipetter plasmatet i et 15 ml sentrifugerør med konisk bunn (medfølger ikke). Pass på å ikke forstyrre cellekjernen.
3. Sentrifuger et 15 ml sentrifugerør med konisk bunn i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C) ved 1600–3000 × g ved hjelp av en balansert sentrifuge.

Merk: Produsentens maksimale anbefalte sentrifugeringshastighet må ikke overskrides for sekundærrøret.

4. Pipetter det aktuelle plasmavolumet (se delen "Prøvevolum" på side 5) i et 14 ml, 17 × 100 mm polystyrenrør med rund bunn, og pass på å ikke forstyrre eventuell resterende blodcellepellet.
5. Overfør røret med rund bunn som inneholder plasmaprøven, til rørholderen, og legg rørholderen i prøveinngangsskuffen på QIASymphony SP-instrumentet.

Merk: Best ccfDNA-utbytte oppnås ved å behandle maksimalt tilgjengelig plasmavolum.

Merk: Pass på at det ikke danner seg skum i eller på plasmaprøvene. Skum eller luftbobler i prøvene kan føre til pipettering av feil prøvevolum.

Merk: Etter blodprøvetaking og sentrifugering kan plasma oppbevares ved 2–8 °C i opptil 7 dager. Ved lengre oppbevaring anbefaler vi å fryse alikvoter.

Merk: Når du bruker tidligere lagrede plasmaprøver (f.eks. prøver som er oppbevart ved 2–8 °C eller har vært fryst ved –20 eller –70 °C / –80 °C), bør disse bli ekvibrert til romtemperatur (15–25 °C) før du starter kjøringen.

B) Plasma fra blod for håndtering i primærrør i QIASymphony SP-instrumentet

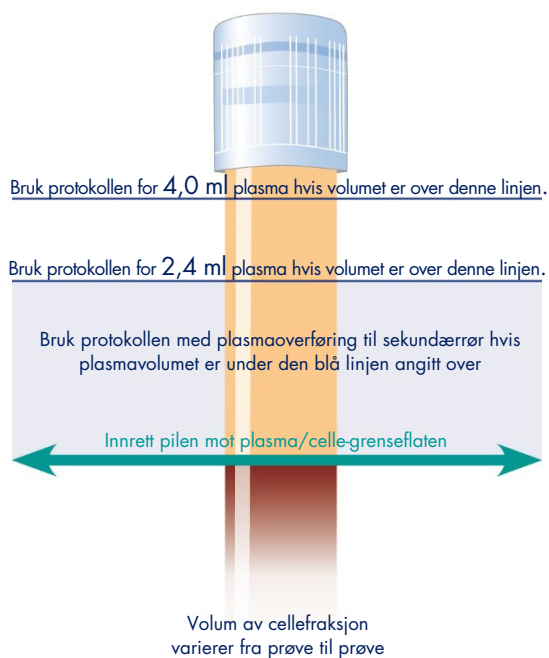
1. Sentrifuger PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) ved romtemperatur (15–25 °C) i 15 min ved 3000 × g ved å bruke en kurvsentrifuge med balansert roterende beholder. Hvis bremsing foretrekkes, anbefales bruk av middels kraftig bremsing, og bremsingen må være godkjent for den aktuelle arbeidsflyten.

Merk: Når det gjelder prøver som har vært nedkjølt før sentrifugering, vil resultatet bli best hvis rørene oppnår romtemperatur før behandling.

2. Angi plasmavolumet i hvert rør etter at rørene er tatt ut av sentrifugebeholderen med PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool som følger med i settet (figur 1). Når røret tas ut fra sentrifugen, er den blågrønne pilen på verktøyet på linje med plasma/celle-grenseflaten. De blå linjene angir om plasmanivået er nok for å bruke protokollen for håndtering av primærrør på hhv. 2,4 eller 4,0 ml. En minste høyde på 2,3 cm plasma i kolonnen trengs for 2,4 ml-protokollen, og en minste høyde på 3,4 cm trengs for 4,0 ml-protokollen.



Bestemmelse av hvilken protokoll som er best for behandling av PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) direkte på QIASymphony SP-instrumentet



Figur 1. Bestemmelse av plasmavolum ved hjelp av PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (kun for illustrasjonsformål – må ikke skrives ut, da den faktiske størrelsen avviker – skal ikke brukes for prøver).

Merk: Hvis en klar separasjon av plasma og cellefraksjon ikke skjer, eller hvis faser ble blandet ved et uhell etter uttak fra sentrifugen, bør sentrifugeringen utføres på nytt.

3. Ta av Hemogard-hettene fra PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) før du plasserer dem i QIASymphony SP-instrumentet for direkte ccfDNA-ekstraksjon.
4. Plasser åpne PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD), som inneholder tilstrekkelig plasma, i rørholderen, og sett inn rørholderen i prøveinngangsskuffen i QIASymphony SP-instrumentet.

Prøvevolum

For å sikre at 2,4 ml (PAXcircDNA_2400-protokoll) og 4,8 ml prøve (PAXcircDNA_4800-protokoll) overføres i instrumentet i en vanlig arbeidsflyt, kreves et dødvolum på hhv. 0,4 og 0,5 ml, noe som betyr at et prøvevolum på minst 2,8 og 5,3 ml må være tilgjengelig. Hvis plasmavolumet er lavere enn 2,8 eller 5,3 ml, gjør modusen Enable Less Sample (Aktiver mindre prøve), som er en integrert del av protokollen, det mulig å overføre et lavere plasmavolum enn angitt. I dette tilfellet overføres en mindre mengde prøve av instrumentet, og det overførte volumet dokumenteres i resultatfilen. I tillegg blir de aktuelle prøvene flagget som uklar (feilkode 140043, modusen Enable Less Sample (Aktiver mindre prøve)). Minste plasmainngangsvolum som kreves for å aktivere modusen Enable Less Sample (Aktiver mindre prøve), er 1,6 ml (PAXcircDNA 2400-protokoll) og 4,1 ml (PAXcircDNA 4800-protokoll). Prøver vil ikke bli behandlet og vil bli flagget som ugyldig hvis prøvevolumet er mindre. Når det gjelder arbeidsflyten for håndtering av primærrør, er et passende prøvevolum sikret ved hjelp av PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool som leveres sammen med settet, beskrevet i delen "B) Plasma fra blod for håndtering i primærrør i QIASymphony SP-instrumentet" på side 3.

Skuffen "Sample" (Prøve)

Tabell 2. Informasjon om oppsett av prøveskuff*

| | |
|-------------------------------------|--|
| Prøvetype | Humant plasma generert fra venøst fullblod tatt i PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) |
| Prøveinngangsvolum (inkl. dødvolum) | 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) |
| Primære prøverør | 10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm (BD™, kat.nr. 768165) |
| Sekundære prøverør | 14 ml 17 x 100 mm polystyrenrør med rund bunn (Corning®, kat.nr. 352051) |
| Innlegg | I/R |
| Annet | Proteinase K kreves til 14 ml 17 x 100 mm polystyrenrør med rund bunn (Corning, kat.nr. 352051). Bruk bare posisjon 1 og 2 på rørholderen (for spor A) |

* Se også laboratorieutstyrlisten under fanen Product Resources (Produktressurser) på www.qiagen.com.

I/R: ikke relevant.

Prøverør for rørholder

Tabell 3. Informasjon om oppsett av rørholder*

| Navn på berøringskjerm | Leverandør | Materiale | Eksempel kat.nr. | Innlegg | 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 | Ingen innlegg nødvendig | 2,8 ml [†] 1,6 ml ^{‡§} (modusen Enable Less Sample (Aktiver mindre prøve)) | 5,3 ml [†] 4,1 ml ^{‡§} (modusen Enable Less Sample (Aktiver mindre prøve)) | I/R | I/R |
| BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100 | BD | 10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm | 768165 | Ingen innlegg nødvendig | I/R | I/R | Se PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool | |

* Se også laboratorieutstyrlisten under fanen Product Resources (Produktressurser) på www.qiagen.com.

[†] Tidligere levert av BD.

[‡] Minste prøvevolum som kreves per prøve per protokoll (inkludert dødvolum); koagelpåvisning mulig.

[§] Redusert minste prøvevolum ved hjelp av modusen Enable Less Sample (Aktiver mindre prøve). Modusen Enable Less Sample (Aktiver mindre prøve) er utformet slik at den skal bruke all tilgjengelig væske i kombinasjon med påvisning av væskenivå og koagel. Modusen Enable Less Sample (Aktiver mindre prøve) fører til at prøver blir flattet som uklar.

I/R: ikke relevant.

Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbruksvarer)

| | |
|-------------------------|---|
| Posisjon A1 og/eller A2 | Reagenskasset |
| Posisjon B1 | I/R |
| Spisstativholder 1-17 | Engangsfilterspisser, 200 µl eller 1500 µl |
| Enhetsboksholder 1-4 | Enhetsbokser inneholder prøveklargjøringskassetter eller 8-Rod Covers |

n/a = ikke relevant.

Skuffen "Waste" (Avfall)

| | |
|-------------------------------|------------------------|
| Enhetsboksholder 1-4 | Tomme enhetsbokser |
| Avfallsposeholder | Avfallspose |
| Holder for væskeavfallsflaske | Tom væskeavfallsflaske |

Skuffen "Eluate" (Eluat)

| Leverandør | Materiale | Eksempel kat.nr. | Kategori | Navn på berørings skjerm | Adapter på elusjonsåpning 1 (avkjølt) |
|------------|---|----------------------------|---|--|--|
| QIAGEN | Elution Microtubes CL 96 | Leveres med settet (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 (spor med kjøling 1) |
| | | | | SL#E1415-2231 **T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS (spor med kjøling 1) |
| | | | | SL#E1415-2231 T1.5 Screw | 1.5/2.0 ml QS (spor uten kjøling 2-4) |

* Angir laboratoriestyr som kan kjøles ved hjelp av en kjøleadapter med strekkode (kan overføres og brukes på QIASymphony AS).

** Angir laboratoriestyr som kan kjøles ved hjelp av en kjøleadapter uten strekkode (kan ikke overføres og ikke brukes på QIASymphony AS).

Nødvendige plastdeler

| Plastdeler | PAXcircDNA_2400 | | PAXcircDNA_4800 | |
|---|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| | PAXcircDNA PrimaryTube_2400 | | PAXcircDNA PrimaryTube_4000 | |
| | Ett parti, 24 prøver* | To partier, 48 prøver* | Ett parti, 24 prøver* | To partier, 48 prøver* |
| 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 partier, 72 prøver* | Fire partier, 96 prøver* | Tre partier, 72 prøver* | Fire partier, 96 prøver* |
| 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 |

* Bruk av mindre enn 24 prøver per parti reduserer antallet filterspisser til engangsbruk som kreves per kjøring. Utføring av mer enn én inventarskanning krever ekstra engangsfilterspisser.

[†] Det finnes 32 filterspisser/filterspissativ.

[‡] Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per reagenskasset.

[§] Det finnes 28 prøveklargjøringskassetter/enhetsboks.

[†] Det finnes tolv 8-Rod Covers/enhetsboks.

Merk: Antall angitte filterspisser kan avvike fra antallene vist på berøringsskjermen avhengig av innstillinger. Vi anbefaler å laste maksimalt antall mulig spisser.

Elueringsvolum

| Valgt elusjonsvolum (µl)* | Innledende elueringsvolum (µl) [†] |
|---------------------------|---|
| 60 | 75 |

* Dette er minimumsvolumet av tilgjengelig eluat i det endelige elusjonsrøret for QIAGEN EMT-stativet (kat.nr. 19588) og 1,5 ml Sarstedt skruhetterør (kat.nr. 72.607). I enkelttilfeller kan det endelige eluatvolumet for enkeltprøver være opptil 5 µl mindre.

[†] Det innledende volumet av elusjonsbuffer som kreves for å sikre at det faktiske eluatvolumet er det valgte volumet.

Klargjøring av Proteinase K i posisjon 1 (og om nødvendig i posisjon 2) i spor A.

QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) inneholder bruksklar proteinase K-løsning. Proteinase K kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C). Vi foreslår at du oppbevarer enzymglassene med Proteinase K ved 2–8 °C ved oppbevaring i lengre perioder.

| Prøvenummer | 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† |

* For hver prøve må du bruke 110 µl (for 2400 µl plasma) eller 220 µl (for 4800/4000 µl plasma) i tillegg til et ekstra dødvolum på 1100 µl [(n x 110 eller 220 µl) + 1100 µl].

† Hvis det kreves mer enn 11 660 µl, må et andre rør benyttes (Corning, kat.nr. 352051). Til det andre røret kreves et ekstra dødvolum på 1100 µl.

Merk: Rør som inneholder proteinase K, plasseres i en rørholder. Rørholderen som inneholder proteinase K, skal plasseres i posisjon 1 og/eller 2 i spor A i skuffen "Sample" (Prøve). Vi anbefaler å bruke 14 ml 17 x 100 mm polystyrenrør med rund bunn (Corning, kat.nr. 352051) for Proteinase K.

Endringshistorikk

| Dato | Endringer |
|-------------|--|
| R1, 04/2021 | Første versjon. |
| R2, 04/2021 | Erstattet "(CE 0123)" i normalt formatert tekst til å følge kravene til utforming fra IVDR vedlegg X |

Hvis du ønsker oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, kan du se i den aktuelle håndboken for QIAGEN-settet eller i bruksanvisningen. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN Kit er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENS tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Varemerker: 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). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet ved lov, selv når de ikke er spesielt merket som sådan.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN. Med enerett.

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettside www.qiagen.com