

iulie 2023

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

Pentru kitul PreAnalytiX QIASymphony PAXgene® Blood ccfDNA Kit și eprubeta PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube

Protocoale IVD PAXgene Blood ccfDNA:

PAXcircDNA\_2400, PAXcircDNA\_4800, PAXcircDNA\_PrimaryTube\_2400 și PAXcircDNA\_PrimaryTube\_4000

Versiunea 1

IVD

A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro



REF

768566



PreAnalytiX GmbH  
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Elveția

EC

REP

R4

MAT

Mărci comerciale: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH)  
QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group)  
BD™ (Becton Dickinson and Company)  
Corning®, Falcon® (Corning, Inc.)  
Eppendorf®, LoBind® (Eppendorf AG)  
Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.)  
Starlab® (Starlab International GmbH).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

HB-2866-S01-004 © 2023 PreAnalytiX GmbH. Dacă nu se menționează altceva, PreAnalytiX, logotipul PreAnalytiX și toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

## Distribuitorii PreAnalytiX

Produsele PreAnalytiX sunt fabricate și distribuite de QIAGEN și BD pentru PreAnalytiX.

## Informații generale

A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro.

Kitul QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit 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.

Procedura de purificare este optimizată pentru a fi utilizată cu plasma obținută din sânge venos integral uman recoltat în eprubetele PAXgene Blood ccfDNA Tube. Pentru instrucțiuni privind procedura de recoltare a sângelui, consultați instrucțiunile de utilizare a eprubetei PAXgene Blood ccfDNA Tube de pe pagina principală a produsului ([www.preanalytix.com](http://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 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 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.

Tabelul 1. Prezentare de ansamblu a protocolului

Material de probă	Plasmă umană obținută din sânge venos integral recoltat în eprubete PAXgene Blood ccfDNA Tube			
Kit	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)(192), nr. cat. 768566			
Versiune software	Versiunea 5.0 sau mai recentă			
Configurație software pentru utilizarea IVD	Profil implicit 1			
Protocole	Linie protocol	Volum probă la introducere (incl. volum goluri) (ml)	Volum probă utilizat pentru extragerea ccfDNA (ml)	(Assay Control_) Nume protocol
	Standard	2,8 5,3	2,4 4,8	(ACS_) PAXcircDNA_2400 (ACS_) PAXcircDNA_4800
	Manipularea eprubetelor primare	în funcție de instrumentul de selectare	2,4 4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400 (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

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

## A) Prepararea plasmă din sânge pentru protocole standard

1. Centrifugați eprubeta PAXgene Blood ccfDNA Tube 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.

**Rețineți:** Pentru obținerea unor rezultate cât mai bune, în cazul probelor păstrate la frigider, înainte de centrifugare, omogenizați din nou proba prin răsturnarea de trei ori a acesteia și 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.

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

4. Pipetați volumul necesar de plasmă (consultați secțiunea „Volumul probei”, la pagina 9) într-o eprubetă 17 × 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.

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

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

**Rețineți:** După transferul plasmei în eprubeta secundară ADN-ul liber circulant este stabil în plasmă la 15-25°C timp de maximum 3 zile sau la 2-8°C timp de maximum 7 zile. Pentru o depozitare mai îndelungată, recomandăm congelarea alicotelor la -20 °C sau la -80 °C.

**Rețineți:** Atunci când utilizați probe de plasmă depozitate anterior (de ex., păstrate la 2-8 °C sau congelate la -20 sau -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 la temperatura camerei (15–25 °C) timp de 15 minute la  $3000 \times g$ , 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.

**Rețineți:** Pentru obținerea unor rezultate cât mai bune, în cazul probelor păstrate la frigider, înainte de centrifugare, omogenizați din nou proba prin răsturnarea de trei ori a acesteia și 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

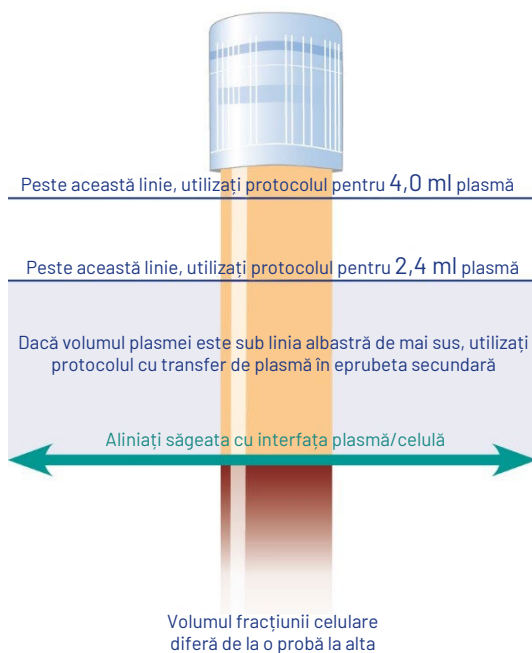


Figura 1. Determinarea volumului plasmă utilizând instrumentul de selectare a protocolului de purificare a ADN-ului liber circulant (circulating cell-free DNA, ccfDNA) din sânge PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (acesta este menționat numai cu titlu informativ; a nu se imprima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

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

**Rețineți:** Înainte de amplasarea eprubetei pe instrument, verificați dacă există o separare clară.

3. Îndepărtați capacul de închidere Hemogard de pe eprubetele PAXgene Blood ccfDNA Tube înainte de a le plasa pe instrumentul QIASymphony SP pentru extragerea directă a ADN-ului liber circulant.
4. Plasați eprubetele PAXgene Blood ccfDNA Tube 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, instrumentul transferă o probă mai mică. Diferența de volum de plasmă pipetat va fi înregistrată în fișierul cu rezultate. 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 **Less Sample** (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 6.

## Sertarul „Sample” (Probă)

**Tabelul 2. Informații privind configurarea sertarului pentru probe\***

Tip probă	Plasmă umană obținută din sânge venos integral recoltat în eprubete PAXgene Blood ccfDNA Tube
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 × 100 mm de 10 ml (BD™, nr. cat. 768165)
Eprubete pentru probă secundare	Eprubete 17 × 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 × 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](http://www.qiagen.com) sau în fila Resources (Resurse) pe [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

n/a, nu se aplică.

## Eprubete de probe pentru suportul de eprubete

Tabelul 3. Informații privind configurarea suportului de eprubete\*

Nume pe ecranul tactil	Furnizor	Material	Exemplu nr. cat.	Element de inserție	PAXcircDNA_2400	PAXcircDNA_4800	PAXcircDNA_PrimaryTube_2400	PAXcircDNA_PrimaryTube_4000
BD #352051 FalconPP 17 × 100	Corning <sup>†</sup>	Eprubetă Falcon® din polistiren, cu capăt rotund, 17×100 mm de 14 ml	352051	Nu este necesar niciun element de inserție	2,8 ml <sup>†</sup>  1,6 ml <sup>§</sup> (Mod Enable Less Sample (Activare probă mai mică))	5,3 ml <sup>†</sup>  4,1 ml <sup>§</sup> (Mod Enable Less Sample (Activare probă mai mică))	nu se aplică	nu se aplică
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100	BD	Eprubetă PAXgene Blood ccfDNA Tube 16 × 100 mm de 10 ml	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](http://www.qiagen.com) sau în fila Resources (Resurse) pe [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

<sup>†</sup> Furnizat anterior de BD.

<sup>‡</sup> Volumul minim al probei necesar per probă per protocol (inclusiv volumul gurilor); detecție a cheagului posibilă.

<sup>§</sup> 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
Suport al stativului pentru vârfuri 1-17	Vârfuri cu filtru de unică folosință, 200 sau 1500 µl
Suport 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)

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

## Sertarul „Eluate” (Eluat)

Furnizor	Material	Exemplu nr. cat.	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®	Eprubetă DNA LoBind® de 1,5 ml	0030108,051	Eprubetă, 1,5 ml	EP#0030108.051** T1.5 Snap Cap	Snap-Cap Microtube
Sarstedt®	Microeprubetă, PP, fără guler, de 1,5 ml	72607	Eprubetă, 1,5 ml/ Eprubetă, 1,5 ml Adaptor V1 (fără BC)	SAR#72.607* T1.5 Screw/SAR#72.607** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS
Sarstedt	Microeprubetă, PP, fără guler, de 2,0 ml	72693	Eprubetă 2,0 ml/ Eprubetă_2,0 ml Adaptor V1 (fără BC)	SAR#72.693 *T2.0 Screw	Microtube Screw Cap QS
Starlab®	Tub conic gradat, fără guler, de 1,5 ml	E1415-2231	Eprubetă, 1,5 ml/ Eprubetă_1,5 ml Adaptor V1 (fără BC)	SL#E1415-2231 *T1.5 Screw	Capac cu filet pentru microeprubete QS, 24 de godeuri, cat. nr. 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 (fantele 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 PrimaryTube_2400		PAXcircDNA_4800 PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Un lot, 24 de probe*	Două loturi, 48 de probe*	Un lot, 24 de probe*	Două loturi, 48 de probe*
	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 <sup>†</sup>	24	48	24	48
Disposable filter-tips, 1500 µL <sup>†</sup>	64	128	104	200
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	15	30	18	36
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	3	6
Disposable filter-tips, 200 µL <sup>†</sup>	72	96	72	96
Disposable filter-tips, 1500 µL <sup>†</sup>	192	256	296	392
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	45	60	54	72
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	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.

<sup>†</sup> Există 32 de vârfuri cu filtru/stativ pentru vârfuri cu filtru.

<sup>‡</sup> Numărul de vârfuri cu filtru necesare include vârfuri cu filtru pentru 1 scanare a inventarului pe cartuș cu reactivi.

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

<sup>¶</sup> Există douăsprezece 8-Rod Covers/cutie individuală.

**Rețineți:** 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 (nr. cat. 19588) și eprubete Sarstedt de 1,5 ml cu capac cu filet (ncat. 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 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* (μl)	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* (μl)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11.660†
96	11.660†	23.320†

\* 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 × 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.

**Rețineți:** 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 × 100 mm de 14 ml, din polistiren, cu capăt rotund (Corning, nr. cat. 352051) pentru proteinază K.

# Historicul modificărilor documentului

Data	Modificări
04/2021	Ediție inițială
05/2022	S-a eliminat „(CE-IVD)” în unele instanțe. S-a actualizat una dintre notele referitoare la etapa 5 a protocolului, în secțiunea „A) Prepararea plasmei din sânge pentru protocoale standard”. S-a actualizat secțiunea „Volumul probei”. S-a inclus <a href="http://www.preanalytix.com">www.preanalytix.com</a> cu privire la locurile în care pot fi găsite resursele asociate.
07/2023	Adresa PreAnalytiX GmbH s-a schimbat din „Feldbachstrasse” în „Garstligweg 8”. Actualizat în conformitate cu noile directive privind mărcile comerciale.



Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kitului PreAnalytiX sau QIAGEN respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare ale kiturilor PreAnalytiX și QIAGEN sunt disponibile la adresele [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com) și [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) sau pot fi solicitate de la Serviciile tehnice QIAGEN sau distribuitorul dvs. local.

**Better samples  
More to explore**

Explorați mai multe la: [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)

HB-2866-S01-004 07/2023

