

2023. július

QIASymphony® SP készülék használati útmutató (Protokoll lap)

A PreAnalytiX QIASymphony PAXgene® Blood ccfDNA Kit és a PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube termékekhez

PAXgene Blood ccfDNA IVD protokollok:

PAXcircDNA _2400, PAXcircDNA _4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 és PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

1-es verzió

IVD

In vitro diagnosztikai használatra



REF

768566



PreAnalytiX GmbH
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Svájc

EC REP

R4 MAT

Védjegyek: 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. Ha azt másképp nem jelöljük, a PreAnalytiX, a PreAnalytiX logó és minden más védjegy a PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH tulajdonát képezi.

PreAnalytiX forgalmazók

A PreAnalytiX termékek gyártását és forgalmazását a QIAGEN és a BD vállalat végzi a PreAnalytiX részére.

Általános információk

In vitro diagnosztikai használatra.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit a cirkuláló, sejtmentes DNS (ccfDNA/csDNS) automatizált izolálására és tisztítására szolgál a PAXgene Blood ccfDNA Tube vérvételi csőbe levett humán vénás teljes vérből generált plazmából.

A tisztítási eljárást a PAXgene Blood ccfDNA Tube vérvételi csőbe levett humán vénás teljes vérből generált plazmára optimalizálták. A vérvételi eljárásra vonatkozó utasításokat lásd a PAXgene Blood ccfDNA Tube Használati útmutatójában, a termék honlapján (www.preanalytix.com).

Négy különböző protokollt hoztak létre a csDNS automatizált izolálására PAXgene Blood ccfDNA Tube vérvételi csőbe levett humán vénás teljes vérből generált plazmából. A standard verziókban 2,4 vagy 4,8 ml bevitt plazmaminta-térfogat választható ki. Ezenkívül az elsődleges csőkezelési protokollok lehetővé teszik a PAXgene Blood ccfDNA Tube csövek a QIASymphony SP készülékbe való közvetlen behelyezését. Az elsődleges csőkezelési protokollok 2,4 vagy 4,0 ml bevitt plazmaminta-térfogatokhoz állnak rendelkezésre (lásd a következő oldalakon lévő táblázatokat).

Minden egyes csDNS kinyeréshez használt plazmatérfogat megkívánja a vonatkozó mintabevételi térfogatot (a holttérfogatot is beleértve), valamint a vonatkozó protokoll szkriptet, az 1. táblázat összesítése szerint.

1. táblázat: A protokoll áttekintése

Mintaanyag	PAXgene Blood ccfDNA Tubes vérvételi csövekbe levett vénás teljes vérből generált humán vérplazma			
Kit	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), (192), katalógusszám: 768566			
Szoftververzió	5.0-s vagy későbbi verzió			
Szükséges szoftverkonfiguráció IVD-felhasználáshoz	1. alapértelmezett profil			
Protokollok	Protokoll vonal	Bevitt mintatérfogot (a holtterefogatot is beleértve) (ml)	A ccfDNS kinyeréshez használt mintatérfogot (ml)	(Assay Control_) Protokoll neve
	Standard	2,8 5,3	2,4 4,8	(ACS_)PAXcircDNA_2400 (ACS_)PAXcircDNA_4800
	Elsődleges cső kezelése	a „selection tool” mérőeszköz szerint	2,4 4,0	(ACS_)PAXcircDNA PrimaryTube_2400 (ACS_)PAXcircDNA PrimaryTube_4000

A plazma előkészítése elvégezhető (A) a standard dupla centrifugálásos protokoll használatával, vagy (B) az elsődleges csövek kezelése révén: az egyetlen egyszer centrifugált PAXgene Blood ccfDNA Tubes csövek közvetlen feldolgozása a QIASymphony SP berendezésen.

A) Plazma előkészítése vérből a standard protokollokhoz

- Centrifugálja a PAXgene Blood ccfDNA Tube csövet szobahőmérsékleten (15–25 °C-on) 15 percig 1600–3000 × g mellett, kiegyensúlyozott lengőkosaras centrifugával. Ha a fékezés preferált, ajánlott közepes szintű fékezést alkalmazni, és azt is validálni kell a konkrét munkafolyamathoz.

Megjegyzés: A centrifugálás előtt hűtőszekrényben tárolt minták esetén a legjobb teljesítmény érdekében keverje fel újra a mintát azáltal, hogy háromszor felfordítja, és a feldolgozás előtt hagyja, hogy a csövek szobahőmérsékletűre melegedjenek.

2. Pipettázza a vérplazmát egy 15 ml-es, kúpos aljú centrifugacsőbe (nem része a kitnek), ügyelve arra, hogy ne kavarja föl a magvas sejtek frakcióját.
3. Centrifugálja a 15 ml-es kúpos aljú centrifugacsövet 10 percig szobahőmérsékleten (15–25 °C-on) 1600–3000 × g mellett egy kiegyensúlyozott centrifugában.

Megjegyzés: Ne lépje túl a másodlagos cső gyártója által ajánlott maximális centrifugálási sebességet.

4. Pipettázza a szükséges plazmatérfogatot (lásd a „Mintatérfogat” részt a 9. oldalon) egy 14 ml-es, 17 × 100 mm méretű, lekerekített aljú polisztirol csőbe, ügyelve arra, hogy ne kavarja fel az esetlegesen meglévő reziduális sejtpelletet.
5. Helyezze át a kerek aljú, plazmamintát tartalmazó csövet a csőtartóba, és töltsse be a csőtartót a QIASymphony SP készülék mintabeviteli fiókjába.

Megjegyzés: A maximális csDNS hozam érdekében dolgozza fel az elérhető maximális plazmatérfogatot.

Megjegyzés: Kerülje a habképződést a plazmamintákban vagy azok felületén pipettázás során. A mintákon lévő hab, vagy a mintákban lévő buborékok nem megfelelő mintatérfogat pipettázásához vezethetnek.

Megjegyzés: A plazma másodlagos csőbe való átvitele után a plazmában lévő ccfDNS 15–25 °C-on legfeljebb 3 napig, 2–8 °C-on legfeljebb 7 napig marad stabil. Huzamosabb idejű tároláshoz javasoljuk, hogy fagyasszon le alikvotokat –20 °C-on vagy –80 °C-on.

Megjegyzés: Ha korábban eltárolt (pl. 2–8 °C között hűtött, vagy –20 °C vagy –80 °C hőmérsékleten fagyasztott) plazmamintákat használ, ezeket szobahőmérsékletűre (15–25 °C) kell melegíteni a futtatás indítása előtt.

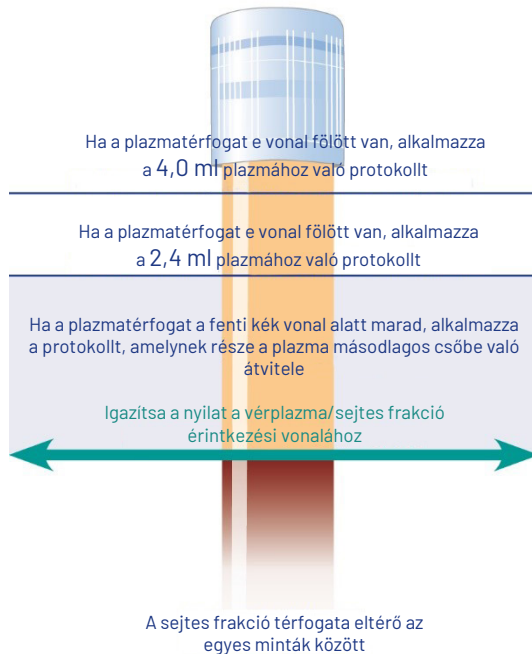
B) Plazma előkészítése vérből a QIASymphony SP készüléken, elsődleges csőben való kezeléshez

1. Centrifugálja a PAXgene Blood ccfDNA Tube csövet szobahőmérsékleten (15–25 °C-on) 15 percig 3000 × g mellett, kiegyensúlyozott lengőkosaras centrifugával. Ha a fékezés preferált, ajánlott közepes szintű fékezést alkalmazni, és azt is validálni kell a konkrét munkafolyamathoz.

Megjegyzés: A centrifugálás előtt hűtőszekrényben tárolt minták esetén a legjobb teljesítmény érdekében keverje fel újra a mintát azáltal, hogy háromszor felfordítja, és a feldolgozás előtt hagyja, hogy a csövek szobahőmérsékletűre melegedjenek.

2. Határozza meg a plazma térfogatát az egyes csövekben a centrifuga kosárból való eltávolítása után a készlet részeként biztosított PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool eszköz segítségével (1. ábra). Amikor eltávolítja a csövet a centrifugából, az eszközön lévő kékeszöld nyíl a vérplazma/sejtes frakció érintkezési felületéhez igazodik. A kék vonalak jelzik, hogy a plazmaszint elég-e a 2,4 vagy 4,0 ml-es elsődleges cső kezelési protokolljához. A 2,4 ml-es protokollhoz minimum 2,3 cm magas, a 4,0 ml-es protokollhoz pedig minimum 3,4 cm magas plazmaoszlop szükséges.

Határozza meg a PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) csövek a QIASymphony SP készülékben való közvetlen feldolgozásához optimális protokollt.



1. ábra: Plazma térfogat meghatározása a PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool eszköz segítségével (Az ábra csak szemléltetési célt szolgál; kérjük, ne nyomtassa ki, mert a tényleges méret eltérő – ne használja a mintákhoz).

Megjegyzés: Amennyiben nem különült el élesen a vérplazma és a sejtes frakció, vagy a centrifugából való eltávolítás során véletlenül összekeveredtek a fázisok, a centrifugálást meg kell ismételni.

Megjegyzés: Mielőtt a csövet a készülékre helyezné, ellenőrizze az egyértelmű szétválást.

3. Távolítsa el a Hemogard Closure Cap zárókupakot a PAXgene Blood ccfDNA Tubes csövekről, mielőtt behelyezné azokat a QIASymphony SP készülékbe a közvetlen ccfDNS extrakcióhoz.
4. Helyezze be az elegendő plazmát tartalmazó, nyitott PAXgene Blood ccfDNA Tubes csöveket a csőtartóba, majd helyezze azt a QIASymphony SP készülék mintabeviteli fiókjába.

Mintatérfogat

Annak biztosítására, hogy a szabályos munkafolyamatban 2,4 ml-es (PAXcircDNA_2400 protokoll), illetve 4,8 ml-es (PAXcircDNA_4800 protokoll) mintatérfogat kerüljön a készülékbe, szükséges további 0,4 illetve 0,5 ml-es holttérfogat is, ami azt jelenti, hogy minimum 2,8 illetve 5,3 ml-es mintabevitelről kell gondoskodnia. Amennyiben csak a nevezett 2,8 vagy 5,3 ml-nél kisebb plazmatérfogatok állnak rendelkezésre, a protokollba integrált **Less Sample mode** (Kevesebb minta üzemmód) funkció lehetővé teszi, hogy a felsoroltaknál kisebb plazmatérfogatot helyezzen a készülékbe. Ilyen esetben a készülék kevesebb mintát visz át. A pipettázott plazmatérfogat különbsége feljegyzésre kerül az eredményfájlban. Ezenkívül, a kérdéses minták **nem egyértelmű** jelölést kapnak (140043-as hibakód, **Enable Less Sample mode** („Kevesebb minta üzemmód” engedélyezve)). A minimális plazmabeviteli térfogat, amellyel engedélyezhető a **Less Sample mode** („kevesebb minta üzemmód”): 1,6 ml (PAXcircDNA 2400 protokoll), illetve 4,1 ml (PAXcircDNA 4800 protokoll). Ha ennél kisebb mintatérfogatot biztosít, a minták nem kerülnek feldolgozásra, hanem **érvénytelen** jelölést kapnak. Az elsődleges csőkezeléses munkafolyamathoz a megfelelő mintatérfogatot garantálja a kit részét képező PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool eszköz használata; a leírását lásd a „B) Plazma előkészítése vérből a QIASymphony SP készüléken, elsődleges csőben való kezeléshez” szakaszban, a 6. oldalon.

„Sample” (Minta) fiók

2. táblázat: Információk a „Sample” (Minta) fiók beállításához*

Mintatípus	PAXgene Blood ccfDNA Tubes vérvételi csövekbe levett vénás teljes vérből generált humán vérplazma
Bevitt mintatérfogat (a holttérfogatot is beleértve)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Lásd: PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Lásd: PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Elsődleges mintacsövek	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 × 100 mm (BD™, katalógusszám: 768165)
Másodlagos mintacsövek	14 ml, 17 × 100 mm kerek aljú polisztirol csövek (Corning®, katalógusszám: 352051)
Inzertek	n.a.
Egyéb	Proteinase K (proteínáz K), szükséges a 14 ml-es, 17 × 100 mm kerek aljú polisztirol csövekhez (Corning, katalógusszám: 352051); csak a csőtartó 1. és 2. pozíciójában használja (az A nyílásban)

* Lásd még az elérhető laborszabványok listáját a Product Resources (Termékforrások) fülön, a www.qiagen.com címen vagy a Resources (Források) fülön a www.preanalytix.com címen.

n/a, nem alkalmazható.

Mintacsövek a csőtartóhoz

3. táblázat: Információk a csőtartó beállításához*

Érintőképernyőn megjelenő név	Gyártó	Anyag	Katalógu sszám-példa	Inzert	PAXcirc DNA_2400	PAXcirc DNA_4800	PAXcirc DNA_Primary Tube_2400	PAXcirc DNA_Primary Tube_4000
BD #352051 FalconPP 17 × 100	Corning [†]	14 ml-es Falcon® kerek aljú polisztirol cső 17 × 100 mm	352051	Inzert nem szűk-séges	2,8 ml [†] 1,6 ml [§] (Enable Less Sample mode) („kevesebb minta üzemmód” engedélyezve)	5,3 ml [†] 4,1 ml [§] (Enable Less Sample mode) („kevesebb minta üzemmód” engedélyezve)	n.a.	n.a.
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube 16 × 100 mm	768165	Inzert nem szűk-séges	n.a.	n.a.	Lásd: PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

* Lásd még az elérhető laborszerek listáját a Product Resources (Termékforrások) fülön, a www.qiagen.com címen vagy a Resources (Források) fülön a www.preanalytix.com címen.

[†] Korábban a BD biztosította.

[†] A protokoll által a mintánként előírt minimális mintatérfogat (a holttérfogatot is beleértve); vérrögészlelés lehetséges.

[§] Csökkentett minimális mintatérfogat az **Enable Less Sample mode** („kevesebb minta üzemmód” engedélyezése) használatával. Az **Enable Less Sample mode** („kevesebb minta üzemmód” engedélyezése) úgy lett kialakítva, hogy felhasználja az összes rendelkezésre álló folyadékot, folyadék szint- és vérrögészleléssel kombinálva. Az **Enable Less Sample mode** („kevesebb minta üzemmód” engedélyezve) a minták **nem egyértelmű** jelölését eredményezi.

n/a, nem alkalmazható.

„Reagents and Consumables” (Reagensok és fogyóeszközök) fiók

A1 és/vagy A2 pozíció	Reagenskazetta
B1 pozíció	n.a.
Hegyalvány-tartó, 1-17.	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 vagy 1500 µl
1-4. számú egységdoboz-tartó	Minta-előkészítő kazettákat vagy 8-Rod Covers rúdburkolatokat tartalmazó egységdobozok

n.a. = nem alkalmazható.

„Waste” (Hulladék) fiók

1-4. számú egységdoboz-tartó	Üres egységdobozok
Hulladékgyűjtő zsák tartója	Hulladékgyűjtő zsák
Folyékonyhulladék-gyűjtő palack tartója	Üres folyékonyhulladék-gyűjtő palack

„Eluate” (Eluátum) fiók

Gyártó	Anyag	Katalógusszám-példa	Kategória	Érintőképernyőn megjelenő név	Adapter az 1-es elúciós nyíláson (hűtött)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	A kít részeként szállítva (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	Lepattintható kupakú mikroszű
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_2,0 ml 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_1,5 ml AdapterV1 (no BC)	SL#E1415-2231 * T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS, 24-wells, cat. no. 9020674 (1-es hűtőnyílás)
				SL#E1415-2231 **T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (1-es hűtőnyílás)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1,5/2,0 ml QS (2-4-es nem hűtő nyílások)

* Olyan laborszakozt jelöl, amely vonalkóddal jelölt hűtőadapter használatával lehűthető (a QIASymphony AS készülékre átvihető és azon használható).

** Olyan laborszakozt jelöl, amely vonalkóddal nem jelölt hűtőadapter használatával lehűthető (a QIASymphony AS készülékre nem vihető át, és azon nem használható).

Szükséges műanyag eszközök

Műanyag eszköz	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Egy mintasorozat, 24 minta*	Két mintasorozat, 48 minta*	Egy mintasorozat, 24 minta*	Két mintasorozat, 48 minta*
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
	Három mintasorozat, 72 minta*	Négy mintasorozat, 96 minta*	Három mintasorozat, 72 minta*	Négy mintasorozat, 96 minta*
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

* Ha mintasorozatanként 24-nél kevesebb mintát használ, csökken a futtatásonként szükséges egyszer használatos, szűrős pipettahegyek száma. Egnél több leltárellenőrzés elvégzéséhez további egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyekre van szükség.

[†] Egy hegytartó állványon 32 darab szűrős pipettahegy van.

^{††} Szűrős pipettahegyek száma reagenskazettánként, az 1 leltárellenőrzéshez szükséges szűrővel ellátott hegyeket is beleszámítva.

[§] Egy egységdoboz 28 minta-előkészítő kazettát tartalmaz.

[¶] Egy egységdoboz tizenkét 8-Rod Covers rúdburkolatot tartalmaz.

Megjegyzés: A beállítások függvényében a szűrővel rendelkező hegyek megadott száma eltérhet az érintőképernyőn megjelenített számtól. A lehető legnagyobb számú hegy betöltését javasoljuk.

Elúciós térfogat

Kiválasztott elúciós térfogat (μl)*	Kezdeti elúciós térfogat (μl)†
60	75

* Ez a QIAGEN EMT rack (katalógusszám: 19588) és 1,5 ml-es Sarstedt screw cap tubes (katalógusszám: 72.607) termékekhez használt végleges elúciós csőben minimálisan hozzáférhető eluátumtérfogat. Némely esetben az egyes mintákhoz tartozó eluátum végső térfogata akár 5 μl-rel kevesebb is lehet.

† Az a kezdeti elúciós puffertérfogat, amely ahhoz szükséges, hogy az eluátum tényleges térfogata megegyezzen a kiválasztott térfogattal.

A Proteináz K előkészítése az A nyílás 1-es pozíciójában (és szükség esetén a 2-es pozíciójában)

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit használatra kész proteináz K oldatot tartalmaz. A proteináz K szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolható. A huzamosabb ideig történő tároláshoz azt javasoljuk, hogy tartsa a proteináz K enzimes fiókat hűtve, 2–8 °C között.

Mintaszám	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†

* Mintánként 110 μl térfogatra (2400 μl plazma esetén) vagy 220 μl térfogatra (4800/4000 μl plazma esetén) van szükség, valamint további 1100 μl holttérfogatra [(n × 110 vagy 220 μl) + 1100 μl].

† Ha több mint 11 660 μl térfogatra van szükség, használjon egy második csövet (Corning, katalógusszám: 352051). A második csőnél további 1100 μl holttérfogatra van szükség.

Megjegyzés: A proteináz K-t tartalmazó csöveket csőtartóba kell helyezni.

A proteináz K-t tartalmazó csőtartót a „Sample” (Minta) fiók „A” nyílásába, az 1-es és 2-es pozícióba kell helyezni. A 14 ml-es, 17 × 100 mm-es, kerek aljú polisztirol csövek (Corning, katalógusszám: 352051) használatát javasoljuk a Proteinase K enzimhez.

A dokumentum átdolgozási előzményei

Dátum	Módosítások
2021. 04.	Első kiadás
2022. 05.	A „(CE-IVD)” bizonyos előfordulásainak eltávolítása. Az „A) Plazma előkészítése vérből a standard protokollokhoz” című rész 5. lépés protokolljára vonatkozó megjegyzések egyikének frissítése. A „Mintatérfogató” című rész frissítése. A www.preanalytix.com hozzáadása a kapcsolódó erőforrások helyéhez.
2023. 07.	A PreAnalytiX GmbH címében az utca „Feldbachstrasse” helyett „Garstligweg 8”-ra változott. Az új márkajelzési iránymutatásokra frissítve.



A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő PreAnalytiX vagy QIAGEN kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A PreAnalytiX és QIAGEN kitek kézikönyvei és a felhasználói útmutatók elérhetők a www.preanalytix.com és a www.qiagen.com webhelyen, vagy beszerezhetők a QIAGEN Műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól.

**Better samples
More to explore**

További információk: www.preanalytix.com

HB-2866-S01-004 2023. 07.

 **PreAnalytiX**
A QIAGEN / BD Company