

Julio de 2023

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

Para el PreAnalytiX QIASymphony PAXgene® Blood ccfDNA Kit y el PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube

Protocolos de PAXgene Blood ccfDNA IVD:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 y PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Versión 1

IVD

Para uso diagnóstico in vitro



REF

768566



PreAnalytiX GmbH
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Suiza

EC

REP

R4

MAT

Marcas comerciales: 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. A menos que se indique lo contrario, PreAnalytiX, el logotipo de PreAnalytiX y todas las demás marcas comerciales son propiedad de PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

Distribuidores de PreAnalytiX

Los productos de PreAnalytiX los fabrican y distribuyen QIAGEN y BD para PreAnalytiX.

Información general

Para uso diagnóstico in vitro.

El QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit 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.

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. Para obtener instrucciones sobre el procedimiento de extracción de sangre, consulte las instrucciones de uso del PAXgene Blood ccfDNA Tube en la página de inicio del producto (www.preanalytix.com).

Se establecieron cuatro protocolos diferentes para el aislamiento automatizado de ADN libre circulante (circulating cell-free DNA, ccfDNA) de plasma generado a partir de sangre total venosa humana recogida en los PAXgene Blood ccfDNA Tubes. 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 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. Visión general de los protocolos

Material de muestra	Plasma humano generado a partir de sangre total venosa recogida en PAXgene Blood ccfDNA Tubes			
Kit	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)(192), n.º de cat. 768566			
Versión del software	Versión 5.0 o superior			
Configuración del software para el uso IVD	Default Profile 1 (Perfil predeterminado 1)			
Protocolos	Línea de protocolo	Volumen de entrada de muestra (incluido el volumen vacío) (ml)	Volumen de la muestra utilizado en la extracción de ADN libre circulante (circulating cell-free DNA, ccfDNA) (ml)	(Control de ensayo_) Nombre del protocolo
	Estándar	2,8 5,3	2,4 4,8	(ACS_) PAXcircDNA_2400 (ACS_) PAXcircDNA_4800
	Manipulación de tubos primarios	según la herramienta de selección	2,4 4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400 (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 de tubos primarios: procesamiento directo de los PAXgene Blood ccfDNA Tubes centrifugados una sola vez en el instrumento QIASymphony SP.

A) Preparación de plasma a partir de sangre para protocolos estándar

1. Centrifugue el PAXgene Blood ccfDNA Tube a temperatura ambiente (15-25 °C) durante 15 min 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, vuelva a mezclar la muestra invirtiendo tres veces y 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) y asegúrese de no alterar la fracción celular nucleada.
3. Centrifugue el tubo de centrifugadora de fondo cónico de 15 ml durante 10 min 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 9) en un tubo de poliestireno y fondo redondeado de 14 ml, 17 × 100 mm y asegúrese 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 libre circulante (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 durante el pipeteo. La espuma o las burbujas de aire en las muestras pueden provocar el pipeteo de un volumen de muestra incorrecto.

Nota: Después de la transferencia de plasma en el tubo secundario, el ADN libre circulante (circulating cell-free DNA, ccfDNA) es estable en el plasma a 15-25 °C durante un máximo de 3 días o a 2-8 °C durante un máximo de 7 días. Para períodos de conservación más largos, recomendamos congelar partes alícuotas a -20 °C o -80 °C.

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

B) Preparación de plasma a partir de sangre para la manipulación de tubos primarios en el instrumento QIASymphony SP

1. Centrifugue el PAXgene Blood ccfDNA Tube a temperatura ambiente (15-25 °C) durante 15 min a $3000 \times g$ 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, vuelva a mezclar la muestra invirtiendo tres veces y 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

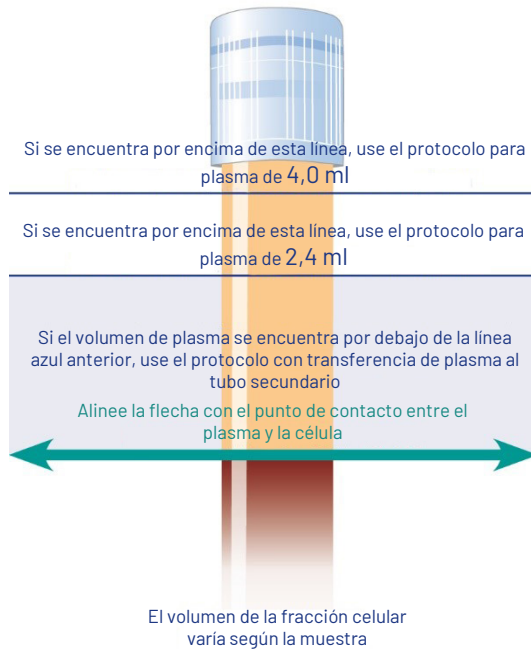


Figura 1. Determinación del volumen de plasma con la herramienta PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (esto solo tiene fines ilustrativos; no lo imprima, ya que el tamaño real varía; no debe usarse con las muestras).

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.

Nota: Asegúrese de que se ha producido una separación clara antes de colocar el tubo en el instrumento.

3. Retire el Hemogard Closure Cap de los PAXgene Blood ccfDNA Tubes antes de colocarlos en el instrumento QIASymphony SP para una extracción directa de ADN libre circulante (circulating cell-free DNA, ccfDNA).
4. Coloque los PAXgene Blood ccfDNA Tubes abiertos que contienen suficiente plasma en el portatubos y cárguelo 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 (protocolo PAXcircDNA_2400) y 4,8 ml de muestras (protocolo PAXcircDNA_4800), se requiere un volumen vacío de 0,4 y 0,5 ml respectivamente, lo que significa que debe proporcionarse un volumen de entrada de 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 tal caso, el instrumento transfiere menos muestra. La diferencia del volumen de plasma pipeteado se registrará 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 a partir de sangre para la manipulación de tubos primarios en el instrumento QIASymphony SP" en la página 6.

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 los PAXgene Blood ccfDNA Tubes
Volumen de entrada de 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 de 16 × 100 mm (BD™, n.º de cat. 768165)
Tubos de muestras secundarios	Tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml de 17 × 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 × 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 o la pestaña Resources (Recursos) en www.prealalytix.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	Ejemplo de n.º de cat.	Inserto	PAXcircD NA_2400	PAXcircDNA _4800	PAXcircDN A_Primary Tube_2400	PAXcircDN A_Primary Tube_4000
BD #352051 FalconPP 17 × 100	Corning†	Tubos de poliestireno de fondo redondeado Falcon® de 14 ml de 17 × 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 × 100	BD	PAXgene Blood ccfDNA Tube de 10 ml 16 × 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 o la pestaña Resources (Recursos) en www.preanalytix.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	Ejemplo de n.º de cat.	Categoría	Nombre que aparece en la pantalla táctil	Adaptador en la ranura de elución 1 (refrigerada)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Se suministran con el kit (19588)	Pocillo profundo	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 2.0 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, 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 de plástico 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*
Puntas con filtro desechables, 200 µl [†]	24	48	24	48
Puntas con filtro desechables, 1500 µl ^{††}	64	128	104	200
Cartuchos de preparación de muestras [‡]	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*
Puntas con filtro desechables, 200 µl [†]	72	96	72	96
Puntas con filtro desechables, 1500 µl ^{††}	192	256	296	392
Cartuchos de preparación de muestras [‡]	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 8-Rod Covers por caja unitaria.

Nota: El número de puntas con filtro proporcionado puede diferir del número mostrado en la pantalla táctil en función 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 QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit 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* (µl)	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* (µl)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11.660†
96	11.660†	23.320†

* 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 × 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 poliestireno y fondo redondeado de 14 ml, 17 × 100 mm (Corning, n.º de cat. 352051) para Proteinase K.

Historial de revisiones del documento

Fecha	Cambios
04/2021	Versión inicial
05/2022	Se ha eliminado "(CE-IVD)" en algunas ocasiones. Se ha actualizado una de las notas del paso 5 del protocolo en la sección "A) Preparación de plasma a partir de sangre para protocolos estándar". Se ha actualizado la sección "Volumen de muestra". Se ha incluido www.preanalytix.com para indicar dónde se pueden encontrar recursos relacionados.
07/2023	La dirección postal de PreAnalytiX GmbH ha cambiado de "Feldbachstrasse" a "Garstligweg 8". Se ha actualizado a las nuevas directrices de la marca.



Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o la guía del usuario del kit de PreAnalytiX o de QIAGEN correspondiente. Puede encontrar los manuales de uso y las guías del usuario de los kits de PreAnalytiX y QIAGEN en www.preanalytix.com y www.qiagen.com o puede solicitarlos al servicio técnico de QIAGEN o a su distribuidor local.

**Better samples
More to explore**

Más información en: www.preanalytix.com

HB-2866-S01-004 07/2023

 **PreAnalytiX**
A QIAGEN / BD Company