

Юли 2023 г.

Инструкции за употреба на апарата QIASymphony[®] SP (протоколен лист)

За набора PreAnalytiX QIASymphony PAXgene[®] Blood ccfDNA Kit и епруветката PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube

Протоколи за инвитро диагностика с PAXgene Blood ccfDNA:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 и PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Версия 1

IVD

За инвитро диагностика



REF

768566



PreAnalytiX GmbH
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Швейцария

EC REP

R4 MAT

Търговски марки: 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.

НВ-2866-S01-004 © 2023 PreAnalytiX GmbH. Освен ако не е посочено друго, PreAnalytiX, логото на PreAnalytiX и всички други търговски марки са собственост на PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

Дистрибутори на PreAnalytiX

Продуктите PreAnalytiX се произвеждат и разпространяват от QIAGEN и BD за PreAnalytiX.

Обща информация

За инвитро диагностика.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit е предназначен за автоматизирано изолиране и пречистване на безклетъчна ДНК в кръвообращението (circulating cell-free DNA, ccfDNA) от плазма, генерирана от човешка венозна цяла кръв, взета в епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube.

Процедурата за пречистване е оптимизирана за употреба с плазма, генерирана от човешка венозна цяла кръв, взета в епруветките PAXgene Blood ccfDNA Tube. Инструкции за процедурата за вземане на кръв ще намерите в инструкциите за употреба на епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube на уебсайта за продуктите (www.preanalytix.com).

Четири различни протокола са установени за автоматизирано изолиране на ccfDNA от плазма, генерирана от човешка венозна цяла кръв, взета в епруветките PAXgene Blood ccfDNA Tube. В стандартните версии може да се избира 2,4 или 4,8 mL плазма като входен обем на аликвотната част. Освен това протоколите за работа с първични епруветки позволяват директно поставяне на епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube на апарата QIASymphony SP. Протоколи за работа с първични епруветки има за 2,4 или 4,0 mL плазма като входен обем на аликвотната част (вижте таблиците на следващите страници).

Всеки обем плазма, използван за извличане на ccfDNA, изисква съответния входен обем на аликвотната част, включващ неизползваемия обем, и съответния протоколен сценарий, както е обобщено в таблица 1.

Таблица 1. Преглед на протокол

Материал от пробата	Човешка плазма, генерирана от венозна цяла кръв, взета в епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube			
Набор	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192), кат. № 768566			
Версия на софтуера	Версия 5.0 или по-нова			
Софтуерна конфигурация за IVD употреба	Профил по подразбиране 1			
Протоколи	Вид протокол	Входен обем на аликвотната част (включващ неизползваемия обем) (mL)	Обем на аликвотната част, използван за извличане на ccfDNA (mL)	(Assay Control_) Име на протокола
	Стандарт	2,8 5,3	2,4 4,8	(ACS_) PAXcircDNA_2400 (ACS_) PAXcircDNA_4800
	Работа с първични епруветки	според инструмента за избор	2,4 4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400 (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Подготовката на плазмата може да се извърши: (A) със стандартния протокол с двойно центрофугиране или (B) с протокола за работа с първични епруветки – директна обработка на еднократно центрофугираните епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube на апарата QIASymphony SP.

A) Приготвяне на плазма от кръв за стандартни протоколи

1. Центрофугирайте епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube при стайна температура (15–25 °C) 15 минути на 1600–3000 × g с балансирана центрофуга с променлив ъгъл. Ако е желателно да се използва спирачка, се препоръчва тя да бъде на средно ниво и това да се валидира за конкретната процедура.

Забележка: За постигане на най-добри резултати при проби, съхранявани в хладилник преди центрофугиране, смесете пробата, като я обърнете три пъти, и оставете епруветките да се върнат на стайна температура преди обработка.

2. Пипетирайте плазмата в 15-mL епруветка с конично дъно за центрофуга (непредоставена), като внимавате да не нарушите целостта на образуваното ядро от клетъчната фракция.
3. Центрофугирайте 15 mL епруветка с конично дъно за центрофуга при стайна температура (15–25 °C) в продължение на 10 минути при 1600–3000 x g с балансирана центрофуга.

Забележка: Не превишавайте препоръчаната от производителя на вторичната епруветка максимална скорост на центрофугиране.

4. Пипетирайте необходимия обем плазма (вижте раздел „Обем на аликвотната част“, страница 9) в 14 mL епруветка 17 × 100 mm от полистирен с обло дъно, като внимавате да не нарушите целостта на остатъчната пелета от кръвни клетки, ако има такава.
5. Прехвърлете епруветката с обло дъно с плазмената проба в носача за епруветки и заредете носача за епруветки във входното отделение за аликвотни части на апарата QIASymphony SP.

Забележка: За да получите максимално количество scfDNA, обработвайте максималния възможен обем плазма.

Забележка: Предотвратявайте образуване на пяна в плазмените проби или върху тях. Ако върху аликвотните части има пяна или въздушни мехурчета, може да не се пипетира точният необходим обем.

Забележка: След прехвърляне на плазмата във вторична епруветка scfDNA е стабилна в плазмата при 15–25 °C в продължение на до 3 дни или при 2–8 °C в продължение на до 7 дни. За по-дълго съхранение препоръчваме замразяване на аликвотите при -20 °C или -80 °C.

Забележка: Когато се използват оставени на съхранение плазмени проби (например съхранявани при 2–8 °C или замразени при -20 °C или -80 °C), те трябва да се темперират до стайна температура (15–25 °C) преди започване на обработката.

В) Подготовка на плазма от кръв за работа с първични епруветки на апарата QIASymphony SP

1. Центрофугируйте епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube при стайна температура (15–25 °C) 15 минути при $3000 \times g$ с балансирана центрофуга с променлив ъгъл. Ако е желателно да се използва спирачка, се препоръчва тя да бъде на средно ниво и това да се валидира за конкретната процедура.

Забележка: За постигане на най-добри резултати при проби, съхранявани в хладилник преди центрофугиране, смесете пробата, като я обърнете три пъти, и оставете епруветките да се върнат на стайна температура преди обработка.

2. Извършете количествено определяне на обема плазма във всяка епруветка, след като я извадите от центрофугата, с инструмента за избор PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, предоставен с набора (Фигура 1). След изваждането на епруветката от центрофугата синьозелената стрелка на инструмента се подравнява на границата между плазмата и клетките. Сините линии показват дали нивото на плазмата е достатъчно за протокола за работа с 2,4-mL или 4,0-mL първични епруветки. Колоната с плазма трябва да има височина минимум 2,3 cm за протокола за 2,4 mL и минимум 3,4 cm за протокола за 4,0 mL.

Определяне на оптималния протокол за директна обработка на епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) на апарата QIASymphony SP



Фигура 1. Определяне на обема плазма с инструмента за избор PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (само илюстративно; не отпечатвайте, защото реалният размер се различава – не трябва да се използва с аликвотни части).

Забележка: Ако не се е получило ясно разделяне на плазмата и клетъчната фракция или фазите неволно са се смесили след изваждането от центрофугата, центрофугирането трябва да се повтори.

Забележка: Проверете дали има ясно разделяне, преди да поставите епруветката върху апарата.

3. Изваждайте капачките Hemogard Closure Cap от епруветките PAXgene Blood ccfDNA Tube, преди да ги поставите на апарата QIASymphony SP за директно извличане на ccfDNA.
4. Поставете отворените епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube, които съдържат достатъчно плазма, в носач за епруветки и заредете носача за епруветки във входното отделение за аликвотни части на апарата QIASymphony SP.

Обем на аликвотната част

При обичайната процедура, за да се осигури прехвърляне на 2,4 mL (протокол PAXcircDNA_2400) и 4,8 mL (протокол PAXcircDNA_4800) аликвотни части от апарата, е необходим неизползваем обем съответно 0,4 и 0,5 mL, което означава, че входният обем на аликвотната част трябва да бъде съответно минимум 2,8 и 5,3 mL. Ако наличните обеми плазма са по-малки от 2,8 или 5,3 mL, интегрираната в протокола функция **Less Sample mode** (Режим за по-малка аликвотна част) позволява прехвърлянето на по-малки от посочените обеми. В този случай по-малко аликвотна част се прехвърля от апарата. Разликата в обема на пипетираната плазма ще бъде записана във файла с резултатите. Освен това съответните аликвотни части се отбелязват с флаг **неуточнени** (код на грешка 140043, Enable **Less Sample mode** (Включен режим за по-малка аликвотна част)). Минималните входни обеми плазма за включване на Less Sample mode (Режим за по-малка аликвотна част) са 1,6 mL (протокол PAXcircDNA 2400) и 4,1 mL (протокол PAXcircDNA 4800). Аликвотните части няма да се обработят и ще се отбележат с флаг „**невалидни**“, ако бъде подаден по-малък обем аликвотна част. При процедурата за работа с първични епруветки необходимият обем аликвотна част се осигурява с използването на инструмента за избор PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, предоставен с набора и описан в раздел „В) Подготовка на плазма от кръв за работа с първични епруветки на апарата QIASymphony SP“ на страница 6.

Отделение „Sample“ (Аликвотна част)

Таблица 2. Информация за конфигурирането на отделението за аликвотни части*

Вид на аликвотната част	Човешка плазма, генерирана от венозна цяла кръв, взета в епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube
Входен обем на аликвотната част (включващ неизползваемия обем)	2,8 mL (PAXcircDNA_2400); 5,3 mL (PAXcircDNA_4800) Вижте PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Вижте PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Първични епруветки за аликвотни части	10 mL PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 × 100 mm (BD™, кат. № 768165)
Вторични епруветки за аликвотни части	14 mL 17 × 100 mm polystyrene, round-bottom tubes (Corning®, кат. № 352051)
Вложки	Неприложимо
Други	Proteinase K е необходима в 14 mL, 17× 100 mm polystyrene, round-bottom tube (Corning, кат. № 352051); използвайте само позиции 1 и 2 на носача за епруветки (за гнездо A)

* Вижте също така списъка Labware (Лабораторни изделия) в раздела Product Resources (Информация за изделия) на www.qiagen.com или раздела Resources на www.prealalytix.com.

п/а: не е приложимо.

Епруветки за аликвотни части за носач за епруветки

Таблица 3. Информация за конфигурирането на носача за епруветки*

Име на сензорния екран	Доставчик	Материал	Примерен каталожен №	Вложка	PAXcirc DNA_2400	PAXcirc DNA_4800	PAXcirc DNA_PrimaryTube_2400	PAXcirc DNA_PrimaryTube_4000
BD #352051 FalconPP 17 × 100	Corning†	Полистиренова епруветка с обло дъно Falcon® 14 mL, 17× 100 mm	352051	Не е необходима вложка	2,8 mL‡ 1,6 mL‡§ (Enable Less Sample mode (Включен режим за по-малка аликвотна част))	5,3 mL‡ 4,1 mL‡§ (Enable Less Sample mode (Включен режим за по-малка аликвотна част))	Неприложимо	Неприложимо
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100	BD	10 mL PAXgene Blood ccfDNA Tube 16 × 100 mm	768165	Не е необходима вложка	Неприложимо	Неприложимо	Вижте PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

* Вижте също така списъка Labware (Лабораторни изделия) в раздела Product Resources (Информация за изделия) на www.qiagen.com или раздела Resources на www.preanalytix.com.

† Преди това са доставяни от BD.

‡ Минимален необходим обем за всяка аликвотна част за всеки протокол (включващ неизползваемия обем); позволява откриване на съиреци.

§ Намален минимален обем аликвотна част с използване на **Enable Less Sample mode** (Включен режим за по-малка аликвотна част). **Enable Less Sample mode** (Включен режим за по-малка аликвотна част) е предвиден за използване на цялата налична течност в комбинация с функциите за установяване на нивото на течността и откриване на съиреци. Когато се използва **Enable Less Sample mode** (Включен режим за по-малка аликвотна част), аликвотните части се отбелязват с флаг **неуточнени**.

n/a: не е приложимо.

Отделение „Reagents and Consumables“ (Реактиви и консумативи)

Позиция A1 и/или A2	Касета с реактиви
Позиция B1	Неприложимо
Държач за статив с връхчета 1–17	Филтърни връхчета за еднократна употреба, 200 или 1500 µL
Държач за модулна кутия 1–4	Модулни кутии, съдържащи касети за подготовка на аликвотни части или 8-Rod Covers

n/a: не е приложимо.

Отделение „Waste“ (Отпадъци)

Държач за модулна кутия 1–4	Празни модулни кутии
Държач за торба за отпадъци	Торба за отпадъци
Държач за съд за течни отпадъци	Празен съд за течни отпадъци

Отделение „Eluate“ (Елуат)

Доставчик	Материал	Примерен каталожен №	Категория	Име на сензорния екран	Адаптер на гнездо за елуиране 1 (с охлаждане)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Доставя се с набора (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 2,0 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, каталожен № 9020674 (гнездо с охлаждане 1)
				SL#E1415-2231 **T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (гнездо с охлаждане 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1,5/2,0 mL QS (гнезда без охлаждане 2–4)

* Означава лабораторни изделия, които може да се охладят с адаптер за охлаждане с баркод (може да се прехвърлят и използват на QIASymphony AS).

** Означава лабораторни изделия, които може да се охладят с адаптер за охлаждане без баркод (не може да се прехвърлят и използват на QIASymphony AS).

Необходимими пластмасови изделия

Пластмасови изделия	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Една партида, 24 аликвотни части*	Две партиди, 48 аликвотни части*	Една партида, 24 аликвотни части*	Две партиди, 48 аликвотни части*
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
	Три партиди, 72 аликвотни части*	Четири партиди, 96 аликвотни части*	Три партиди, 72 аликвотни части*	Четири партиди, 96 аликвотни части*
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

* Използване на по-малко от 24 аликвотни части на една партида намалява необходимия брой филтърни връхчета за еднократна употреба за едно изпълнение. Извършването на повече от едно сканиране на материалите изисква допълнителни филтърни връхчета за еднократна употреба.

[†] На един статив има 32 филтърни връхчета.

[‡] Необходимият брой филтърни връхчета включва филтърни връхчета за 1 сканиране на материалите на всяка касета с реактиви.

[§] В една модулна кутия има 28 касети за подготовка на аликвотни части.

^{††} В една модулна кутия има дванадесет 8-Rod Covers.

Забележка: Посоченият брой филтърни връхчета може да се различава от показания на сензорния екран в зависимост от настройките.

Препоръчваме да се зарежда максималният възможен брой връхчета.

Обем за елуиране

Избран обем за елуиране (µL)*	Начален обем за елуиране (µL)†
60	75

* Това е минималният достъпен обем на елуата в епруветката за окончателното елуиране за статива QIAGEN EMT (кат. № 19588) и 1,5-µL епруветки Sarstedt Screw Cap Tube (кат. № 72.607). В отделни случаи окончателният обем на елуата за единични аликвотни части може да бъде до 5 µL по-малък.

† Началният обем на буфера за елуиране, необходим, за да бъде действителният обем на елуата същият като избрания.

Приготвяне на Proteinase K на позиция 1 (и ако е необходимо, на позиция 2) на гнездо A

Наборът QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit съдържа готов за употреба разтвор Proteinase K. Proteinase K може да се съхранява при стайна температура (15–25 °C). За продължително съхранение препоръчваме шишетата с ензим Proteinase K да се съхраняват при 2–8 °C.

Номер на аликвотната част	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†

* За всяка аликвотна част са необходими 110 µL (за 2400 µL плазма) или 220 µL (за 4800/4000 µL плазма) плюс допълнителен неизползваем обем 1100 µL [(n × 110 или 220 µL) + 1100 µL].

† Ако са необходими повече от 11 660 µL, използвайте втора епруветка (Corning, каталожен № 352051). За втората епруветка е необходим допълнителен неизползваем обем 1100 µL.

Забележка: Епруветките с Proteinase K се поставят в носач за епруветки.

Носачът за епруветки, съдържащ Proteinase K, трябва да се постави на позиции 1 и 2 в гнездо A на отделението „Sample“ (Аликвотна част).

Препоръчваме да се използват 14 mL, 17 × 100 mm polystyrene, round-bottom tube (Corning, каталожен № 352051) за Proteinase K.

История на редакция на документа

Дата	Промени
04/2021	Първо издание
05/2022	Премахнато е „(CE-IVD)“ в някои случаи. Актуализирана е една от забележките към стъпка 5 от протокола в раздел „А) Приготвяне на плазма от кръв за стандартни протоколи“. Актуализирана секция „Обем на аликвотната част“. Включен www.preanalytix.com за това къде могат да бъдат намерени свързани ресурси.
07/2023	Адресът на PreAnalytiX GmbH е променен от „Feldbachstrasse“ на „Garstligweg 8“. Актуализирано до нови указания за брендирането.



За актуална информация относно лицензирането и конкретните за продуктите правни бележки, вижте съответното ръководство или наръчник за потребителя на набора PreAnalytiX QIAGEN. Ръководствата и наръчниците за потребителя на набора PreAnalytiX и QIAGEN са достъпни на www.preanalytix.com и www.qiagen.com или могат да бъдат заявени от отдела за технически услуги на QIAGEN или местния ви дистрибутор.

**Better samples
More to explore**

Разгледайте повече на www.preanalytix.com

HB-2666-S01-004 07/2023

 **PreAnalytiX**
A QIAGEN / BD Company