

Heinäkuu 2023

# QIASymphony® SP -laitteen käyttöohje (protokollalomake)

PreAnalytiX QIASymphony PAXgene® Blood ccfDNA Kit -sarjalle ja PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkelle

PAXgene Blood ccfDNA -IVD-protokollat:

PAXcircDNA\_2400, PAXcircDNA\_4800, PAXcircDNA\_PrimaryTube\_2400 ja PAXcircDNA\_PrimaryTube\_4000

Versio 1

IVD

In vitro -diagnostiikkaan



REF

768566



PreAnalytiX GmbH  
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Switzerland

EC

REP

R4

MAT

Tavamerkit: 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. Ellei muutoin ole ilmoitettu, PreAnalytiX, PreAnalytiX-logo ja kaikki muut tavamerkit ovat PreAnalytiX GmbH -yhtiön, Hombrechtikon, CH, omaisuutta.

## PreAnalytiX-jälleenmyyjät

PreAnalytiX-tuotteet ovat QIAGENin ja BD:n PreAnalytiXille valmistamia ja jakelemia.

## Yleistä

In vitro -diagnostiikkaan.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja on tarkoitettu kiertävän soluttoman DNA:n (circulating cell-free DNA, ccfDNA) eristämiseen ja puhdistamiseen plasmasta, joka on johdettu PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin kerätystä ihmisen laskimokokoverestä.

Puhdistustoimenpide on optimoitu PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin kerätystä ihmisen laskimokokoverestä johdetun plasman käyttöä varten. Katso ohjeet verinäytteen ottoon PAXgene Blood ccfDNA Tube -putken käyttöohjeesta tuotteen kotisivulta ([www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)).

PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin kerätystä ihmisen laskimokokoverestä johdetun plasman ccfDNA:n automaattista eristystä varten on kehitetty neljä eri protokollaa. Vakioversioissa syötettäväksi näytemääräksi voi valita 2,4 tai 4,8 ml plasmata. Lisäksi ensisijaisten putkien käsittelyprotokollissa PAXgene Blood ccfDNA Tube -putken voi asettaa suoraan QIASymphony SP -laitteeseen. Ensisijaisten putkien käsittelyprotokollissa käytettävissä olevat syötettävät näytemäärät ovat 2,4 tai 4,0 ml plasmata (katso taulukot seuraavilla sivuilla).

Jokaiseen ccfDNA:n erityksessä käytettävään plasmamäärään tarvitaan taulukon 1 yhteenvedon mukainen vastaava syötettävä näytemäärä, mukaan lukien tyhjä tilavuus ja vastaava protokollaskripti.

Taulukko 1. Protokollan yhteenveto

Näyttemateriaali	PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin kerätystä laskimokoverestä johdettu ihmisen plasma			
Sarja	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja (CE-IVD), (192) tuotenro 768566			
Ohjelmistoversio	Versio 5.0 tai uudempi			
IVD-käyttöön tarkoitettu ohjelmistokokoonpano	Oletusprofiili 1			
Protokollat	Protokollalinja	Syötettävä näytemäärä (tyhjä tilavuus mukaan lukien) (ml)	ccfDNA:n eristykseen käytettävä näytemäärä (ml)	(Assay Control_) Protokollan nimi
	Standard (Vakio)	2,8 5,3	2,4 4,8	(ACS_) PAXcircDNA_2400 (ACS_) PAXcircDNA_4800
	Ensisijaisten putkien käsittely	valintatyökalun mukaan	2,4 4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400 (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Plasman valmistelussa voi käyttää (A) vakiotyyppistä kaksoisentrifugointiprotokollaa tai (B) ensisijaisten putkien käsittelyä: kertaluontoisten kertasentrifugoitujen PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkien suoraa käsittelyä QIASymphony SP -laitteessa.

## A) Plasman valmistelu verestä vakioprotokollia varten

1. Sentrifugoi PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkea huoneenlämmössä (15–25 °C) 15 minuuttia nopeudella 1 600 – 3 000 × g tasapainotetussa kääntyväkoteloisessa sentrifugissa. Jos jarrutusta halutaan käyttää, sen täytyy olla validoitu kyseiselle työnkululle ja voimakkuudeltaan mielellään keskitasoinen.

**Huomautus:** jos näytteitä on säilytetty jääkaapissa ennen sentrifugointia, parhaan tuloksen saat, kun sekoitat näytteen uudelleen kääntelemällä sitä kolme kertaa ja annat putkien palautua huoneenlämpöön ennen käsittelyä.

2. Pipetoi plasma 15 ml:n kartiopohjaiseen sentrifugiputkeen (ei sisällä pakkaukseen) sekoittamatta tumallista solufraktiota.

3. Sentrifugoi 15 ml:n kartiopohjaista sentrifugiputkea 10 minuuttia huoneenlämmössä (15–25 °C) nopeudella  $1\,600\text{--}3\,000 \times g$  tasapainotetussa sentrifugissa.

**Huomautus:** toissijaisen putken valmistajan suosittelemaa sentrifugoinnin enimmäisnopeutta ei saa ylittää.

4. Pipetoi tarvittava plasmamäärä (katso kohta Näytemäärä sivulla 9) 14 ml:n pyöreäpohjaiseen 17 × 100 mm:n polystyreeniputkeen sekoittamatta mahdollisesti jäljellä olevaa verisolupellettiä.
5. Siirrä plasmanäytteen sisältävä pyöreäpohjainen putki putkitelineeseen ja aseta putkiteline QIASymphony SP -laitteen näytteidensyöttölokeroon.

**Huomautus:** suurimman mahdollisen ccfDNA-sadon saat käsittelemällä mahdollisimman paljon plasmaa.

**Huomautus:** Vaahdon muodostuminen plasmanäytteisiin tai niiden pinnalle pipetoinnin aikana on estettävä. Jos näytteessä on vaahtoa tai ilmakuplia, saatetaan pipetoida väärä määrä näytettä.

**Huomautus:** Kun plasma on siirretty toissijaiseen putkeen, ccfDNA on vakaata plasmassa lämpötilassa 15–25 °C enintään 3 vuorokautta tai lämpötilassa 2–8 °C enintään 7 vuorokautta. Pidempää säilytystä varten suositellaan pakastamista alikvooteissa –20 °C:n tai –80 °C:n lämpötilassa.

**Huomautus:** aiemmin varastoituja (esim. 2–8 °C:ssa tai pakastettuina –20 °C:ssa tai –80 °C:ssa säilytettyjä) plasmanäytteitä käytettäessä näytteiden täytyy antaa tasaantua huoneenlämpöön (15–25 °C) ennen ajon aloittamista.

## B) Plasman valmistelu verestä ensisijaisten putkien

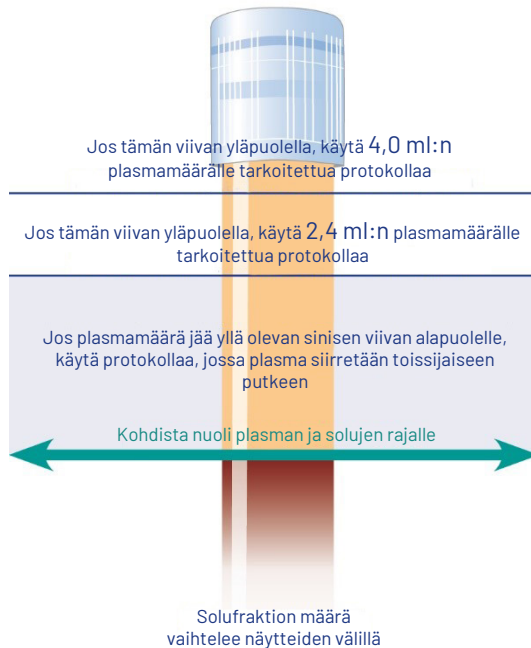
### QIASymphony SP -laitteessa käsittelyä varten

1. Sentrifugoi PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkea huoneenlämmössä (15–25 °C) 15 minuuttia nopeudella  $3\,000 \times g$  tasapainotetussa kääntyväkoteloisessa sentrifugissa. Jos jarrutusta halutaan käyttää, sen täytyy olla validoitu kyseiselle työnkululle ja voimakkuudeltaan mielellään keskitasoinen.

**Huomautus:** jos näytteitä on säilytetty jääkaapissa ennen sentrifugointia, parhaan tuloksen saat, kun sekoitat näytteen uudelleen kääntelemällä sitä kolme kertaa ja annat putkien palautua huoneenlämpöön ennen käsittelyä.

2. Kvantifioi kunkin putken plasmamäärä sentrifugikotelosta poistamisen jälkeen sarjaan sisältyvällä PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalulla (kuva 1). Kun putki poistetaan sentrifugista, työkalun turkoosinvärinen nuoli kohdistetaan plasman ja solujen rajalle. Siniset viivat osoittavat, onko plasman taso riittävä ensisijaisten putkien 2,4 tai 4,0 ml:n käsittelyprotokollalle. Plasmapylvään korkeuden on oltava vähintään 2,3 cm 2,4 ml:n protokollaa varten ja vähintään 3,4 cm 4,0 ml:n protokollaa varten.

Optimaalisen protokollan määrittäminen PAXgene  
Blood ccfDNA Tube -putkien (CE-IVD) suoralle  
käsittelylle QIASymphony SP -laitteessa



Kuva 1. Plasmamäärän määrittäminen PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalulla (Tämä kuva on vain kuvitustarkoitukseen. Älä tulosta sitä, sillä se poikkeaa todellisesta koosta - ei saa käyttää näytteiden mittaamiseen.)

**Huomautus:** jos plasma ja solufraktio eivät ole erottuneet selkeästi tai faasit sekoittuivat vahingossa sentrifugista poiston aikana, sentrifugointi on toistettava.

**Huomautus:** tarkista, että erottelu on selkeä, ennen kuin asetat putken laitteeseen.

3. Poista Hemogard Closure Cap -tulpat PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkista, ennen kuin asetat ne QIASymphony SP -laitteeseen suoraa ccfDNA:n eristystä varten.
4. Aseta avatut, riittävästi plasmata sisältävät PAXgene Blood ccfDNA Tube -putket putkitelineeseen ja aseta putkiteline QIASymphony SP -laitteen näytteidensyöttölokeroon.



## Näytemäärä

Jotta tavallisessa työnkulussa voidaan varmistaa, että laite siirtää 2,4 ml (PAXcircDNA\_2400-protokolla) tai 4,8 ml näytteitä (PAXcircDNA\_4800-protokolla), tarvitaan vastaavasti 0,4 ja 0,5 ml:n tyhjät tilavuudet eli näytettä on syötettävä vähintään 2,8 tai 5,3 ml käytettävän protokollan mukaan. Jos käytettävissä on alle 2,8 tai 5,3 ml:n plasmamäärät, protokollatoimintoon integroitu **Less Sample** (Pienen näytemäärän tila) sallii lueteltuja pienempien plasmamäärien siirtämisen. Tässä tapauksessa laite siirtää vähemmän näytettä. Pipetoidun plasmamäärän ero kirjautuu tulostiedostoon. Lisäksi tällaiset näytteet merkitään **epäselviksi** (virhekoodi 140043, **Enable Less Sample** [Ota pienen näytemäärän tila käyttöön]). Pienimmät mahdolliset syötettävät plasmamäärät **Less Sample** (Pienen näytemäärän tila) -asetuksella ovat 1,6 ml (PAXcircDNA\_2400-protokolla) ja 4,1 ml (PAXcircDNA\_4800-protokolla). Jos näytemäärä on pienempi, näytteitä ei käsitellä ja ne merkitään **epäkelvoiksi**. Ensisijaisten putkien käsittelytyönkulussa oikea näytemäärä varmistetaan sarjaan sisältyvällä PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalulla, josta kerrotaan kohdassa B) Plasman valmistelu verestä ensisijaisten putkien QIASymphony SP -laitteessa käsittelyä varten sivulla 6.

# Sample (Näyte) -lokero

Taulukko 2. Tietoa näytelokeron kokoonpanosta\*

Näytetyyppi	PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin kerätystä laskimokokoverestä johdettu ihmisen plasma
Syötettävä näytemäärä (tyhjä tilavuus mukaan lukien)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Katso PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalusta (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Katso PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalusta (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Ensisijaiset näyteputket	10 ml:n PAXgene Blood ccfDNA Tube -putki (CE-IVD), 16 × 100 mm (BD™, tuotenro 768165)
Toissijaiset näyteputket	14 ml:n pyöreäpohjaiset 17 × 100 mm:n polystyreeniputket (Corning®, tuotenro 352051)
Asettimet	-
Muu	Proteinaasi K, joka tarvitaan 14 ml:n pyöreäpohjaisiin 17 × 100 mm:n polystyreeniputkiin (Corning, tuotenro 352051); käytä vain putkitelineen paikkoja 1 ja 2 (aukko A)

\* Katso myös laboratoriotarvikeluettelo, joka on saatavilla Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä sivulla [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tai Resources (Resurssit) -välilehdessä sivulla [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

n/a, ei olennainen.

# Putkitelineeseen sopivat näyteputket

Taulukko 3. Tietoa putkitelineen kokoonpanosta\*

Nimi kosketusnäytössä	Toimitaja	Materiaali	Esimerkkitulo-tenno	Asetin	PAXcirc DNA_2400	PAXcirc DNA_4800	PAXcirc DNA_Primary Tube_2400	PAXcirc DNA_Primary Tube_4000
BD #352051 FalconPP 17 × 100	Corning <sup>†</sup>	14 ml Falcon® polystyrene round- bottom tube 17 × 100 mm	352051	Asetinta ei tarvita	2,8 ml <sup>†</sup>  1,6 ml <sup>‡§</sup> (Enable Less Sample [Ota pienen näyte- määrän tila käyttöön])	5,3 ml <sup>†</sup>  4,1 ml <sup>‡§</sup> (Enable Less Sample [Ota pienen näytetään tila käyttöön])	–	–
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube 16 × 100 mm	768165	Asetinta ei tarvita	–	–	Katso PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalusta	

\* Katso myös laboratoriotarvikeluettelo, joka on saatavilla Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä sivulla [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tai Resources (Resurssit) -välilehdessä sivulla [www.prealanalytix.com](http://www.prealanalytix.com).

<sup>†</sup> Aiemmin BD:n toimittama.

<sup>‡</sup> Vaadittu vähimmäisnäytämäärä per näyte per protokolla (mukaan lukien tyhjä tilavuus); hyytymien tunnistaminen mahdollista.

<sup>§</sup> Pienempi vähimmäisnäytämäärä **Enable Less Sample** (Ota pienen näytetään tila käyttöön) -toiminnolla. **Enable Less Sample** (Ota pienen näytetään tila käyttöön) -toiminto on suunniteltu käyttämään kaikki saatavilla oleva neste yhteensä nestetason tunnistus ja hyytymien tunnistus huomioiden. **Enable Less Sample** (Ota pienen näytetään tila käyttöön) -toimintoa käytettäessä näytteet merkitään epäselviksi -merkinnän.

n/a, ei olennainen.

## Reagents and Consumables (Reagenssit ja tarvikkeet) - lokero

Sijainti A1 ja/tai A2	Reagenssikasetti
Sijainti B1	–
Kärkitelineen pidike 1-17	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 tai 1 500 µl
Yksikkölaatikon pidike 1-4	Yksikkölaatikot sisältävät näytteenvälikasetit tai 8-Rod Covers -kannet

n/a = ei olennainen.

## Waste (Jäte) -lokero

Yksikkölaatikon pidike 1-4	Tyhjät yksikkölaatikot
Jätepussin pidike	Jätepussi
Nestejätepullon pidike	Tyhjä nestejätepullo

## Eluate (Eluaatti) -lokero

Toimittaja	Materiaali	Esimerkkituoteno	Luokka	Nimi kosketusnäytössä	Adaptteri eluutioaukossa 1 (jäähdytetty)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Toimitetaan sarjan mukana (19588)	Deep Well	QIA#19588* EMTR	Elution Microtube Rack QS
Eppendorf®	1,5 ml DNA LoBind® Tube	0030108.051	Putki, 1,5 ml	EP#0030108.051** T1.5 Snap Cap	Snap-Cap Microtube
Sarstedt®	1,5 ml Microtube, PP, non-skirted	72607	Putki, 1,5 ml/putki, 1,5 ml:n sovitin V1 (ei 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	Putki 2,0 ml/putki_2,0 ml:n sovitin V1(ei BC)	SAR#72.693 *T2.0 Screw	Microtube Screw Cap QS
Starlab®	1,5 ml Microtube, graduated conical tube, non-skirted	E1415-2231	Putki, 1,5 ml/putki_1,5 ml:n sovitin V1(ei BC)	SL#E1415-2231 *T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS, 24-wells, tuoteno 9020674 (jäähdytysaukko 1)
				SL#E1415-2231 **T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (jäähdytysaukko 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1,5/2,0 ml QS (ei-jäähdyttävät aukot 2-4)

\* Tarkoittaa laboratoriotarvikkeita, jotka voidaan jäähdyttää jäähdytyssovitimella ja joissa on viivakoodi (voidaan siirtää ja käyttää QIASymphony AS -laitteessa).

\*\* Tarkoittaa laboratoriotarvikkeita, jotka voidaan jäähdyttää jäähdytyssovitimella ilman viivakoodia (ei voida siirtää eikä käyttää QIASymphony AS -laitteessa).

## Vaaditut muoviastiat

Muoviastiat	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Yksi erä, 24 näytettä*	Kaksi erää, 48 näytettä*	Yksi erä, 24 näytettä*	Kaksi erää, 48 näytettä*
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
	Kolme erää, 72 näytettä*	Neljä erää, 96 näytettä*	Kolme erää, 72 näytettä*	Neljä erää, 96 näytettä*
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

\* Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä. Useampaan kuin yhteen skannaukseen tarvitaan lisää kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

<sup>†</sup> Suodatinkärkitelineessä on 32 suodatinkärkeä.

<sup>‡</sup> Tarvittavien suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen skannaukseen per reagenssikasetti.

<sup>§</sup> Yksikkölaatikossa on 28 näytteenvalmistelukasettia.

<sup>¶</sup> Yksikkölaatikossa on 12 kpl 8-Rod Covers -kantta.

**Huomaus:** Mainittu suodatinkärkien määrä voi poiketa kosketusnäytössä näkyvästä luvusta asetuksista riippuen. Suosittelemme lataamaan suurimman mahdollisen määrän kärkiä.

## Eluutiotilavuus

Valittu eluutiotilavuus (µl)*	Alkuperäinen eluutiotilavuus (µl)†
60	75

\* Tämä on käytettävissä olevan eluaatin vähimmäistilavuus lopullisessa eluutioputkessa QIAGEN EMT -telineessä (tuotenro 19588) ja 1,5 ml:n Sarstedt-kierrekorkkiputkissa (tuotenro 72.607). Yksittäisissä tapauksissa lopullinen eluutiotilavuus yksittäisillä näytteillä voi olla korkeintaan 5 µl vähemmän.

† Vaadittava alkuperäinen eluutiopuskurin tilavuus, jotta voidaan varmistaa, että todellinen eluutiotilavuus on sama kuin yllä valittu tilavuus.

## Proteinaasi K:n valmistelu aukon A paikassa 1 (ja tarvittaessa paikassa 2)

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja sisältää käyttövalmiin Proteinase K -liuoksen. Proteinase K -liuosta voi säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C). Pidempää säilytystä varten Proteinase K -liuosta sisältävät entsyymipullot suositellaan pitämään 2–8 °C:n lämpötilassa.

Näytteen numero	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†

\* Jokaista näytettä kohden tarvitaan 110 µl (2 400 µl plasmatai) tai 220 µl (4 800 / 4 000 µl plasmatai) ja lisäksi 1 100 µl:n tyhjä tilavuus [(n × 110 tai 220 µl) + 1 100 µl].

† Jos tarvitaan yli 11 660 µl näytettä, käytä toissijaista putkea (Corning, tuotenro 352051). Myös toiseen putkeen tarvitaan 1 100 µl:n tyhjä tilavuus.

**Huomaus:** Proteinase K:ta sisältävät putket asetetaan putkitelineeseen. Proteinase K:ta sisältävä putkiteline on asetettava Sample (Näyte)-lokeron aukon A paikkoihin 1 ja 2. Suosittelemme käyttämään Proteinase K -liuokselle 14 ml:n pyöreäpohjaisia 17× 100 mm:n polystyreeniputkia (Corning, tuotenro 352051).

# Asiakirjan muutoshistoria

Päiväys	Muutokset
04/2021	Ensimmäinen versio
05/2022	Poistettu "(CE-IVD)" joissakin tapauksissa. Päivitetty yksi huomautuksista protokollan vaiheessa 5 kohdassa "A) Plasman erottelu verestä vakioprotokollia varten". Päivitetty kohta "Näytämäärä". Sisällytetty <a href="http://www.preanalytix.com">www.preanalytix.com</a> , mistä löytyy lisäresursseja.
07/2023	PreAnalytiX GmbH:n osoite muutettu Feldbachstrassesta osoitteeseen Garstligweg 8. Päivitetty uusien tuotemerkin ohjeiden mukaan.



Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista PreAnalytiX- tai QIAGEN-sarjojen käyttöoppaista tai käsikirjoista. PreAnalytiX- ja QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat löytyvät osoitteesta [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com) ja [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

**Better samples  
More to explore**

Katso lisätietoja: [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)

HB-2866-S01-004 07/2023

 **PreAnalytiX**  
A QIAGEN / BD Company