

Juli 2023

Bruksanvisning till QIASymphony® SP Instrument (protokollblad)

För PreAnalytiX QIASymphony PAXgene® Blood ccfDNA Kit och PreAnalytiX PAXgene
Blood ccfDNA Tube

PAXgene Blood ccfDNA IVD-protokoll:

PAXcircDNA _2400, PAXcircDNA _4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 och PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Version 1

IVD

För in vitro-diagnostisk användning



REF

768566



PreAnalytiX GmbH
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Schweiz

EC

REP

R4

MAT

Varumärken: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH)
QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN-gruppen)
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. Om inte annat har angetts, tillhör PreAnalytiX, PreAnalytiX-logotypen och alla andra varumärken PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

PreAnalytiX-distributörer

PreAnalytiX-produkter tillverkas och distribueras av QIAGEN och BD för PreAnalytiX.

Allmän information

För in vitro-diagnostisk användning.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit är avsedd för automatisk isolering och rening av cirkulerande cellfritt DNA (ccfDNA) från plasma genererat från humant venöst helblod som tagits med PAXgene Blood ccfDNA Tube.

Reningsprocessen är optimerad för användning med plasma som genererats från humant venöst helblod som tagits med PAXgene Blood ccfDNA Tubes. Instruktioner om förfarandet för blodprovtagning finns i bruksanvisningen för PAXgene Blood ccfDNA Tube på produktens hemsida (www.PreAnalytiX.com).

Fyra olika protokoll togs fram för automatisk isolering av ccfDNA från plasma genererat från humant venöst helblod som tagits med PAXgene Blood ccfDNA Tubes. I standardversionerna kan inmatningsvolymen för provtagning på 2,4 eller 4,8 mL plasma väljas. Dessutom tillåter hanteringsprotokollen för primärrör direkt placering av PAXgene Blood ccfDNA Tube i QIASymphony SP-instrumentet. Hanteringsprotokollen för primärrör finns tillgängliga för inmatningsvolymen för provtagning på 2,4 eller 4,0 mL plasma (se tabellerna på kommande sidor).

Varje plasmavolym som används för ccfDNA-extraktion kräver relevanta provinmatningsvolym inklusive tom volym och relevant protokollskript som det sammanfattas i Tabell 1.

Tabell 1. Protokollöversikt

| Provmaterial | Human plasma genererad från venöst helblod som tagits med PAXgene Blood ccfDNA Tubes | | | |
|---|--|---|---|--|
| Kit | QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)(192), kat.nr. 768566 | | | |
| Programversion | Version 5.0 eller senare | | | |
| Programvarukonfiguration för IVD-användning | Standardprofil 1 | | | |
| Protokoll | Protokollinje | Provinmatningsvolym (ink. tom volym) (mL) | Provvolyml som används för ccfDNA-extraktion (mL) | (Assay Control_) Protokollnamn |
| | Standard | 2,8 5,3 | 2,4 4,8 | (ACS_) PAXcircDNA_2400 |
| | Primärrörshantering | enligt urvalsverktyg | 2,4 4,0 | (ACS_) PAXcircDNA_4800 (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400 (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000 |

Plasmaberedning kan utföras med (A) standardprotokollet med dubbelcentrifugering eller (B) via primärrörshantering: direktbearbetning av det enkelcentrifugerade PAXgene Blood ccfDNA Tubes för engångsbruk på QIASymphony SP-instrumentet.

A) Plasmaberedning från blod för standardprotokoll

1. Centrifugera PAXgene Blood ccfDNA Tube i rumstemperatur (15–25 °C) i 15 min vid 1600–3000 × g med en balanserad swing out bucket-centrifug. Om du föredrar bromsning rekommenderas att du använder medelhög bromsning och att den valideras för ditt specifika arbetsflöde.

OBS! För bästa prestanda för prov som förvarats kylda innan centrifugering, låt dem komma upp i rumstemperatur innan bearbetning.

2. Pipettera plasma till ett 15 mL konformat centrifugrör (medföljer inte) och se till att du inte stör den kärnbildade cellfraktionen.

- Centrifugera det 15 mL konformade centrifugröret i 10 minuter i rumstemperatur (15–25 °C) i 1600– 3000 × g med en balanserad centrifug.

OBS! Överstig inte den sekundära rörtillverkarens max rekommenderade centrifugeringshastighet.

- Pipettera den nödvändiga plasmavolymen (se avsnitt "Provvolum" på sida 9) i ett 14 mL, 17 × 100 mm polystyrenrör med rund botten och se till att den kvarvarande blodkroppspelleten inte störs i förekommande fall.

- Överför provröret med rund botten med plasmaprovet till provrörshållaren och ladda den i provinmatningslådan på QIASymphony SP-instrumentet.

OBS! Bearbeta den maximala volymen tillgänglig plasma för maximalt ccfDNA-utbyte.

OBS! Undvik skumbildning i eller på ytan av plasmaproven vid pipettering. Skum eller luftbubblor på proven kan leda till pipettering av fel provvolum.

OBS! Efter överföring av plasma till ett sekundärt rör är, ccfDNA stabilt i plasma i upp till 3 dagar vid 15–25 °C eller i upp till 7 dagar vid 2–8 °C. För längre förvaring rekommenderar vi frysning av alikvoter vid -20 °C eller -80 °C.

OBS! Vid användning av tidigare förvarade plasmaprov (t.ex. förvarade i 2–8 °C eller frusna i -20 °C eller -80 °C), ska dessa ekvibreras till rumstemperatur (15–25 °C) innan du startar körningen.

B) Plasmaberedning från blod för primärrörshantering på QIASymphony SP-instrumentet

1. Centrifugera PAXgene Blood ccfDNA Tube i rumstemperatur (15–25 °C) i 15 min vid 3000 × g med en balanserad swing out bucket-centrifug. Om du föredrar bromsning, rekommenderas att du använder medelhög bromsning och att den valideras för ditt specifika arbetsflöde.

OBS! För bästa prestanda för prov som förvarats kylda innan centrifugering, låt dem komma upp i rumstemperatur innan bearbetning.

2. Kvantifiera plasmavolymen i varje rör efter borttagning från centrifugen med PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool som medföljer kitet (Bild 1). När provröret tas ut från centrifugen ska den teal-färgade pilen på verktyget vara i linje med plasma-/cellgränssnittet. De blå linjerna indikerar om plasmanivån är tillräcklig för 2,4 eller 4,0 mL primärrörshanteringsprotokollet. En minsta plasmakolonnhöjd på 2,3 cm krävs för ett 2,4 mL-protokoll och minst 3,4 cm krävs för ett 4,0 mL-protokoll.

Fastställ optimalt protokoll för att bearbeta
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) direkt
på QIASymphony SP-instrumentet

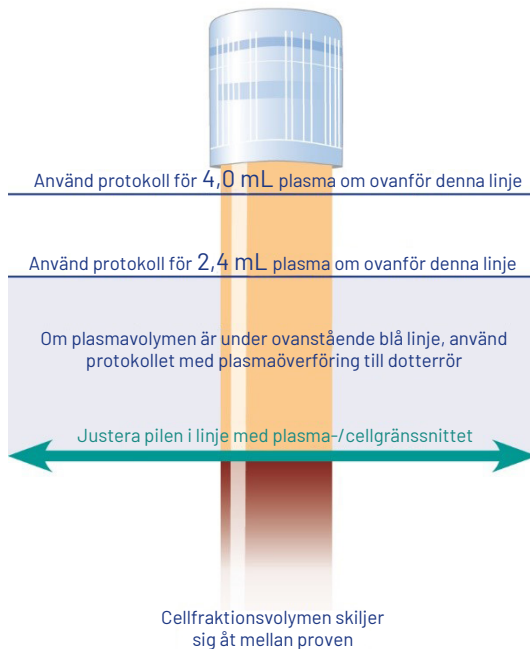


Bild 1. Plasmavolym bestämning med PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (enbart i illustrativt syfte, skriv inte ut eftersom faktisk storlek skiljer sig. Ej för användning med prov).

OBS! I fall där en tydlig separation mellan plasma och cellfraktion inte inträffade, eller när faserna av misstag blandades när de togs ut från centrifugen, bör centrifugeringen upprepas.

OBS! Kontrollera att separationen är tydlig innan röret placeras i instrumentet.

3. Ta bort Hemogard-locket från PAXgene Blood ccfDNA Tubes innan de placeras i instrumentet QIASymphony SP för direkt ccfDNA-extraktion.
4. Placera de öppnade PAXgene Blood ccfDNA Tubes som innehåller tillräckligt med plasma i provrörshållaren och ladda den i provinmatningslådan på QIASymphony SP-instrumentet.

Provvolymer

För att se till att prov om 2,4 mL (PAXcircDNA_2400-protokoll) och 4,8 mL (PAXcircDNA_4800-protokoll) överförs av instrumentet i det vanliga arbetsflödet, krävs en tom volym på 0,4 respektive 0,5 mL, vilket innebär att en provinmatning på minst 2,8 och 5,3 mL tillförs. I de fall när lägre plasmavolymer än 2,8 eller 5,3 mL finns att tillgå, tillåter **Less Sample mode** (mindre prov-läget), en integrerad del av protokollfunktionen överföring av lägre plasmavolymer än de som listas. I detta fall överförs en mindre provvolym av instrumentet. Skillnaden mellan den pipetterade plasmavolymer kommer att registreras i resultatfilen. Dessutom flaggas respektive prov som **oklart** (felkod 140043, **Enable Less Sample mode** (aktivera mindre prov-läget)). De minsta volymerna för plasmainmatning som aktiverar **Less Sample mode** (mindre prov-läget) är 1,6 mL (PAXcircDNA 2400-protokollet) och 4,1 mL (PAXcircDNA 4800-protokollet). Proverna kommer inte bearbetas och kommer att flaggas som **ogiltiga** om mindre provvolym matas in. För arbetsflödet för primärrörshandling, tillses korrekt provvolym genom att använda PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool som ingår i kitet och beskrivs i avsnitt "B) Plasmaberedning från blod för primärrörshandling på QIASymphony SP-instrumentet" på sida 6.

Lådan "Sample" (prov)

Tabell 2. Information för konfiguration av provlådan*

| | |
|--------------------------------------|---|
| Provtyp | Human plasma genererad från venöst helblod som tagits med PAXgene Blood ccfDNA Tubes |
| Provinmatningsvolym (ink. tom volym) | 2,8 mL (PAXcircDNA_2400); 5,3 mL (PAXcircDNA_4800) Se PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Se PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000) |
| Primära provrör | 10 mL PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)16 × 100 mm (BD™, kat.nr. 768165) |
| Sekundära provrör | 14 mL 17 × 100 mm provrör i polystyren med rund botten (Corning®, kat.nr. 352051) |
| Insatser | Ej relevant |
| Annat | Proteinas K krävs i 14 mL 17 × 100 mm provrör i polystyren med rund botten (Corning, kat.nr. 352051); använd enbart position 1 och 2 på provrörshållaren (för fack A) |

* Se även listan med labbmateriel under fliken Product Resources (produktresurser) på www.qiagen.com eller fliken Resources (resurser) på www.preanalytix.com.

n/a, ej relevant.

Provrör för provrörshållare

Tabell 3. Information för konfiguration av provrörshållare*

| Namn på pekskärm | Leverantör | Material | Exempel på kat.nr. | Insats | PAXcirc DNA_2400 | PAXcirc DNA_4800 | PAXcirc DNA_Primary Tube_2400 | PAXcircDNA_PrimaryTube_4000 |
|---|----------------------|--|--------------------|-------------------------|--|--|--|-----------------------------|
| BD nr. 352051 FalconPP 17 × 100 | Corning [†] | 14 mL Falcon [®] provrör i polystyren med rund botten 17 × 100 mm | 352051 | Det behövs ingen insats | 2,8 mL [‡] 1,6 mL [§] (Enable Less Sample mode (aktivera mindre prov-läget)) | 5,3 mL [‡] 4,1 mL [§] (Enable Less Sample mode (aktivera mindre prov-läget)) | Ej relevant | Ej relevant |
| BD nr. 768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100 | BD | 10 mL PAXgene Blood ccfDNA Tube 16 × 100 mm | 768165 | Det behövs ingen insats | Ej relevant | Ej relevant | Se PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool | |

* Se även listan med labbmateriel under fliken Product Resources (produktresurser) på www.qiagen.com eller fliken Resources (Resurser) på www.preanalytix.com.

[†] Tidigare tillhandahållet av BD.

[‡] Minsta provvolym som krävs per prov per protokoll (inklusive tom volym); koageldetektering möjlig.

[§] Minskad minsta provvolym med hjälp av **Enable Less Sample mode** (aktivera mindre prov-läget). **Enable Less Sample mode**/aktivera mindre prov-läget har utformats för att använda all tillgänglig vätska i kombination med vätskenivådetektering och koageldetektering. Aktivera mindre prov-läget resulterar i **oklar** flaggning av prov. n/a, ej relevant.

Lådan "Reagents and Consumables" (reagens och förbrukningsmaterial)

| | |
|-----------------------------|---|
| Position A1 och/eller A2 | Reagenskassett |
| Position B1 | Ej relevant |
| Spetsrackhållare 1-17 | Filterspetsar för engångsbruk, 200 eller 1500 µL |
| Hållare för enhetslådor 1-4 | Enhetslådor som innehåller provprepareringskassetter eller 8-Rod Covers |

n/a = ej relevant.

Lådan "Waste" (avfall)

| | |
|--|--------------------------------|
| Hållare för enhetslådor 1-4 | Tomma enhetslådor |
| Avfallspåshållare | Avfallspåse |
| Hållare för flaska för flytande avfall | Tom flaska för flytande avfall |

Lådan "Eluate" (eluat)

| Leverantör | Material | Exempel på kat.nr. | Kategori | Namn på pekskärm | Adapter på elueringsckåra 1 (kyld) |
|------------|---|---------------------------|---|--|---|
| QIAGEN | Elution Microtubes CL 96 | Medföljer i kitet (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, koniska (non-skirted) | 72607 | Tube, 1,5 mL / Tube, 1,5 mL Adapter V1 (ingen BC) | SAR#72.607* T1.5 Screw/SAR#72.607** T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS |
| Sarstedt | 2,0 mL Microtube, PP, koniska (non-skirted) | 72693 | Tube 2,0 / Tube_2,0 mL AdapterV1 (ingen BC) | SAR#72.693 *T2.0 Screw | Microtube Screw Cap QS |
| Starlab® | 1,5 mL Microtube, graderat konformat rör, non-skirted | E1415-2231 | Tube, 1,5 mL / Tube_1,5 mL AdapterV1 (ingen BC) | SL#E1415-2231 *T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS, 24-wells, kat.nr. 9020674 (kylfack 1) |
| | | | | SL#E1415-2231 **T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS (kylfack 1) |
| | | | | SL#E1415-2231 T1.5 Screw | 1,5/2,0 mL QS (ej nedkyllning fack 2-4) |

* Indikerar labbmateriel som kan kylas med en kyladapter med streckkod (överföringsbar och användbar på QIASymphony AS).

** Indikerar labbmateriel som kan kylas med en kyladapter utan streckkod (icke-överföringsbar och inte användbar på QIASymphony AS).

Erforderliga plastartiklar

| Plastartiklar | PAXcircDNA_2400 | | PAXcircDNA_4800 | |
|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | PAXcircDNA PrimaryTube_2400 | | PAXcircDNA PrimaryTube_4000 | |
| | En batch, 24 prover* | Två batcher, 48 prover* | En batch, 24 prover* | Två batcher, 48 prover* |
| Filterspetsar för engångsbruk, 200 µL [†] | 24 | 48 | 24 | 48 |
| Filterspetsar för engångsbruk, 1500 µL [†] | 64 | 128 | 104 | 200 |
| Sample prep cartridges [§] | 15 | 30 | 18 | 36 |
| 8-Rod Covers [¶] | 3 | 6 | 3 | 6 |
| | Tre batcher, 72 prover* | Fyra batcher, 96 prover* | Tre batcher, 72 prover* | Fyra batcher, 96 prover* |
| Filterspetsar för engångsbruk, 200 µL [†] | 72 | 96 | 72 | 96 |
| Filterspetsar för engångsbruk, 1500 µL [†] | 192 | 256 | 296 | 392 |
| Sample prep cartridges [§] | 45 | 60 | 54 | 72 |
| 8-Rod Covers [¶] | 9 | 12 | 9 | 12 |

* Om färre än 24 prover per batch används minskas antalet engångsfilterspetsar som krävs per körning. Om du utför mer än en inventarieskanning krävs det extra engångsfilterspetsar.

[†] Det finns 32 filterspetsar/filterspetsställ.

[‡] Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

[§] Det finns 28 provberedningskassetter/enhetslåda.

[¶] Det finns tolv 8-Rod Covers/enhetslåda.

OBS! Beroende på inställningarna kan antalet givna filterspetsar skilja sig från de siffror som visas på pekskärmen. Vi rekommenderar att det maximala antalet spetsar laddas.

Elueringsvolym

| Vald elueringsvolym (µL)* | Första elueringsvolym (µL)† |
|---------------------------|-----------------------------|
| 60 | 75 |

* Detta är den minsta eluatvolym som är tillgänglig i det slutliga elueringsröret för QIAGEN EMT-stället (kat.nr. 19588) och 1,5 mL Sarstedt rör med skruvlock (kat.nr. 72.607). I enskilda fall kan slutlig eluatvolym för enskilda prover vara upp till 5 µL mindre.

† Den initiala volym elueringsbuffert som krävs för att säkerställa att den faktiska eluatvolymen är densamma som den valda volymen.

Beredning av proteinas K i position 1 (och vid behov i position 2) för fack A

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit innehåller proteinas K-lösning som är klar att använda. Protein K kan förvaras i rumstemperatur (15–25 °C). Vid förvaring under längre tid rekommenderar vi att enzymflaskorna med proteinas K förvaras i 2–8 °C.

| Provnummer | 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† |

* För varje prov behövs 110 µL (för 2 400 µL plasma) eller 220 µL (för 4 800/4 000 µL plasma) plus en extra tom volym på 1100 µL [(n× 110 eller 220 µL) + 1100 µL].

† Om mer än 11 660 µL krävs, använd ett andra provrör (Corning, kat.nr. 352051). För det andra röret behövs ytterligare en tom volym på 1100 µL.

OBS! Provrör innehållandes proteinas K placeras i en provrörshållare.

Provrörshållaren med proteinas K måste placeras i positionerna 1 och 2 i fack A på lådan "Sample" (prov). Vi rekommenderar att du använder 14 mL 17 × 100 mm provrör i polystyren med rund botten (Corning, kat.nr. 352051) för proteinas K.

Dokumentrevisioner

| Datum | Ändringar |
|---------|--|
| 04/2021 | Startversion |
| 05/2022 | Tog bort "(CE-IVD)" i vissa instanser. Uppdaterade en av anteckningarna om protokollsteg 5 under avsnitt "A) Plasmaberedning från blod för standardprotokoll". Uppdaterade avsnittet "Provvolymer". Lade till www.preanalytix.com där relaterade resurser kan hittas. |
| 07/2023 | Gatuadressen för PreAnalytiX GmbH ändrades från Feldbachstrasse till Garstligweg 8. Uppdaterad till nya riktlinjer för varumärket. |



Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive bruksanvisning eller handbok för PreAnalytiX eller QIAGEN kit. Handböcker och bruksanvisningar för PreAnalytiX and QIAGEN kit finns att tillgå på www.preanalytix.com och www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller från din lokala återförsäljare.

**Better samples
More to explore**

Läs mer på: www.preanalytix.com

HB-2866-S01-004 07/2023

 **PreAnalytiX**
A QIAGEN / BD Company