

srpanj 2023.

# Upute za uporabu instrumenta QIASymphony<sup>®</sup> SP (list protokola)

Za komplet PreAnalytiX QIASymphony PAXgene<sup>®</sup> Blood ccfDNA Kit i epruvetu  
PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube

IVD protokoli za PAXgene Blood ccfDNA:

PAXcircDNA\_2400, PAXcircDNA\_4800, PAXcircDNA\_PrimaryTube\_2400 i PAXcircDNA\_PrimaryTube\_4000

Inačica 1

IVD

Za in vitro dijagnostičku uporabu



REF

768566



PreAnalytiX GmbH  
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Švicarska

EC REP

R4 MAT

Zaštitni znakovi: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH)  
QIAGEN®, QIASymphony® (grupa QIAGEN)  
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. PreAnalytiX, logotip PreAnalytiX i svi drugi zaštitni znakovi u vlasništvu su društva PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH, osim ako nije drugačije navedeno.

## Distributeri proizvoda društva PreAnalytiX

Proizvode društva PreAnalytiX za PreAnalytiX proizvode i distribuiraju QIAGEN i BD.

## Općenite informacije

Za in vitro dijagnostičku uporabu.

Komplet QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit namijenjen je za automatiziranu izolaciju i pročišćenje cirkulirajuće DNK bez stanica (circulating cell-free DNA, ccfDNA) iz plazme dobivene iz humane venske pune krvi prikupljene u epruvetu PAXgene Blood ccfDNA Tube.

Postupak pročišćenja optimiran je za uporabu s plazmom dobivenom iz humane venske pune krvi prikupljene u epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tubes. Upute o postupku prikupljanja krvi potražite u uputama za uporabu epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tube na početnoj stranici proizvoda ([www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)).

Utvrdena su četiri različita protokola za automatiziranu izolaciju ccfDNA iz plazme dobivene iz humane venske pune krvi prikupljene u epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tubes. U standardnim inačicama moguće je odabrati ulazne volumene uzoraka plazme od 2,4 ili 4,8 ml. Osim toga, protokoli za rukovanje primarnom epruvetom omogućavaju izravno postavljanje epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tube na instrument QIASymphony SP. Protokoli za rukovanje primarnom epruvetom dostupni su za ulazne volumene uzoraka plazme od 2,4 ili 4,0 ml (pogledajte tablice na sljedećim stranicama).

Za svaki volumen plazme koji se upotrebljava za ekstrakciju ccfDNA potreban je odgovarajući ulazni volumen uzorka, uključujući prazan volumen, te odgovarajuća skripta protokola, kako je sažeto u tablici 1.

Tablica 1. Pregled protokola

Materijal uzorka	Humana plazma dobivena iz venske pune krvi prikupljena u epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tubes			
Komplet	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)(192) kat. br. 768566			
Inačica softvera	Inačica 5.0 ili novija			
Konfiguracija softvera za IVD uporabu	Zadani profil 1			
Protokoli	Linija protokola	Ulazni volumen uzorka (uklj. prazan volumen) (ml)	Volumen uzorka koji se upotrebljava za ekstrakciju ccfDNA (ml)	(Assay Control_) Naziv protokola
	Standardno	2,8	2,4	(ACS_)PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	(ACS_)PAXcircDNA_4800
	Rukovanje primarnom epruvetom	u skladu s alatom za odabir	2,4	(ACS_)PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	(ACS_)PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Priprema plazme može se obavljati primjenom (A) standardnog protokola dvostrukog centrifugiranja ili (B) rukovanjem primarnom epruvetom: izravna obrada jednokratnih pojedinačno centrifugiranih epruveta PAXgene Blood ccfDNA Tubes na instrumentu QIASymphony SP.

## A) Priprema plazme iz krvi za standardne protokole

1. Centrifugirajte epruvetu PAXgene Blood ccfDNA Tube na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C) u trajanju od 15 minuta pri 1600 – 3000 × g primjenom ravnomjerno opterećene centrifuge s nižim vjedrima. Ako više preferirate kočenje, preporučuje se primjena kočenja srednje razine koje je odobreno za vaš specifičan tijek rada.

**Napomena:** za najbolji radni učinak uzoraka pohranjenih u hladnjaku prije centrifugiranja ponovno promiješajte uzorak tako da ga preokrenete tri puta i ostavite epruvete da prije obrade dosegnu sobnu temperaturu.

2. Pipetirajte plazmu u epruvetu za centrifugiranje s konusnim dnom i volumenom od 15 ml (nije isporučena), pazeći pritom da ne ometate frakciju nukleiranih stanica.
3. Centrifugirajte epruvetu za centrifugiranje s konusnim dnom i volumenom od 15 ml u trajanju od 10 minuta na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C) pri 1600 – 3000 × g primjenom ravnomjerno opterećene centrifuge.

**Napomena:** ne prelazite maksimalnu brzinu centrifugiranja koju je preporučio proizvođač sekundarne epruvete.

4. Pipetirajte potrebni volumen plazme (pogledajte odjeljak „Volumen uzorka“ na stranici 9) u polistirensku epruvetu sa zaobljenim dnom od 14 ml, veličine 17 x 100 mm, pazeći pritom da ne ometate preostali talog krvnih stanica, ako postoji.
5. Prenesite epruvetu sa zaobljenim dnom koja sadržava uzorak plazme u nosač epruveta i postavite nosač epruveta u ladicu za unos uzoraka na instrumentu QIASymphony SP.

**Napomena:** za maksimalan prinos ccfDNA obradite maksimalni volumen dostupne plazme.

**Napomena:** spriječite stvaranje pjene u uzorcima plazme ili na njihovoj površini tijekom pipetiranja. Pjena ili mjehurići zraka na uzorcima mogu dovesti do pipetiranja pogrešnog volumena uzorka.

**Napomena:** nakon prijenosa plazme u sekundarnu epruvetu, ccfDNA stabilna je u plazmi pri 15 – 25 °C do 3 dana ili pri 2 – 8 °C do 7 dana. Za dulje čuvanje preporučujemo zamrzavanje alikvota na –20 °C ili –80 °C.

**Napomena:** kada se upotrebljavaju prethodno pohranjeni uzorci plazme (npr. pohranjeni na 2 – 8 °C ili zamrznuti na –20 °C ili –80 °C), prije pokretanja postupka potrebno ih je izjednačiti sa sobnom temperaturom (15 – 25 °C).

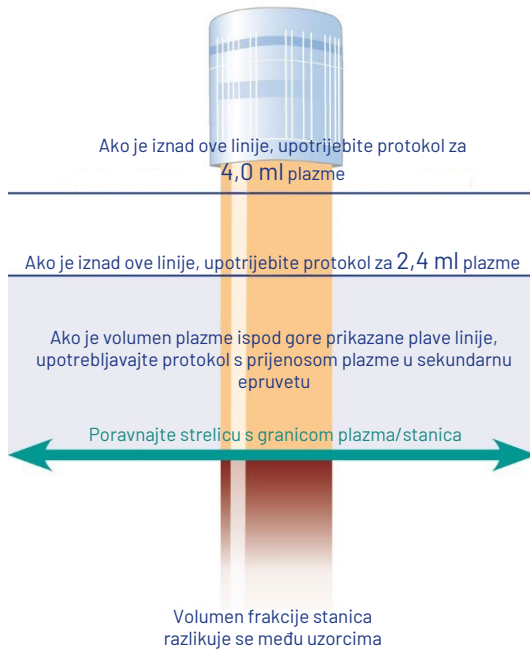
## B) Priprema plazme iz krvi za rukovanje primarnom epruvetom na instrumentu QIASymphony SP

1. Centrifugirajte epruvetu PAXgene Blood ccfDNA Tube na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C) u trajanju od 15 minuta pri 3000 × g primjenom ravnomjerno opterećene centrifuge s njišućim vjedrima. Ako više preferirate kočenje, preporučuje se primjena kočenja srednje razine koje je odobreno za vaš specifičan tijek rada.

**Napomena:** za najbolji radni učinak uzoraka pohranjenih u hladnjaku prije centrifugiranja ponovno promiješajte uzorak tako da ga preokrenete tri puta i ostavite epruvete da prije obrade dosegnu sobnu temperaturu.

2. Kvantificirajte volumen plazme u svakoj epruveti nakon uklanjanja iz vjedra centrifuge s pomoću alata PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool isporučenog u kompletu (slika 1). Nakon uklanjanja epruvete iz centrifuge plavozelena strelica na alatu poravnata je s granicom plazma/stanica. Plave linije označavaju je li razina plazme dovoljna za protokol rukovanja primarnom epruvetom od 2,4 ml ili 4,0 ml. Za protokol od 2,4 ml potrebna je minimalna visina kolone za plazmu od 2,3 cm, a za protokol od 4,0 ml potrebna je minimalna visina od 3,4 cm.

Optimalni protokol za obradu epruveta PAXgene  
Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) odredite izravno na  
instrumentu QIASymphony SP



Slika 1. Određivanje volumena plazme s pomoću alata PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (služi samo za ilustraciju; nemojte ispisivati jer se stvarna veličina može razlikovati – nije za uporabu s uzorcima).

**Napomena:** u slučaju da nije došlo do jasnog odvajanja plazme i frakcije stanica ili su se faze slučajno izmiješale nakon uklanjanja iz centrifuge, centrifugiranje je potrebno ponoviti.

**Napomena:** provjerite je li došlo do jasnog odvajanja prije postavljanja epruvete na instrument.

3. Uklonite čep Hemogard s epruveta PAXgene Blood ccfDNA Tube prije postavljanja na instrument QIASymphony SP radi izravne ekstrakcije ccfDNA.
4. Otvorene epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tubes koje sadržavaju dovoljnu količinu plazme stavite na nosač epruveta te postavite nosač epruveta u ladicu za unos uzoraka na instrumentu QIASymphony SP.



## Volumen uzorka

Kako biste se uvjerali da je instrument prenio uzorke uobičajenog tijeka rada od 2,4 ml (protokol PAXcircDNA\_2400) i 4,8 ml (protokol PAXcircDNA\_4800), potreban je prazan volumen od 0,4 ml odnosno 0,5 ml, što znači da se mora osigurati unos uzorka od minimalno 2,8 ml i 5,3 ml. U slučaju da su dostupni volumeni plazme manji od 2,8 i 5,3 ml, način **Less Sample** (Manji uzorak) kao sastavni dio funkcije protokola omogućava prijenos volumena plazme manjih od navedenog. U ovom slučaju instrument prenosi manju količinu uzorka. Razlika pipetiranih volumena plazme zabilježiti će se u datoteci rezultata. Osim toga, odgovarajući uzorci označavaju se kao **nejasno** (kod pogreške 140043, načina **Enable Less Sample** (Omogući manji uzorak)). Minimalni ulazni volumeni plazme za omogućavanje načina **Less Sample** (Manji uzorak) iznose 1,6 ml (protokol PAXcircDNA 2400) i 4,1 ml (protokol PAXcircDNA 4800). Ako se isporuči manji volumen uzorka, uzorci se neće obraditi i bit će označeni s **nevažće**. Za tijek rada rukovanja primarnom epruvetom odgovarajući volumen uzorka osigurava se primjenom alata PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool isporučenog u kompletu i opisanog u odjeljku „B) Priprema plazme iz krvi za rukovanje primarnom epruvetom na instrumentu QIASymphony SP“ na stranici 6.

## Ladica „Sample“ (Uzorak)

Tablica 2. Informacije o postavljanju ladice za uzorak\*

Vrsta uzorka	Humana plazma dobivena iz venske pune krvi prikupljene u epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tubes
Ulazni volumen uzorka (uklj. prazan volumen)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400), 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Pogledajte alat PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Pogledajte alat PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Primarne epruvete za uzorke	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 × 100 mm (BD™, kat. br. 768165)
Sekundarne epruvete za uzorke	Polistirenske epruvete sa zaobljenim dnom od 14 ml veličine 17 × 100 mm (Corning®, kat. br. 352051)
Umeci	N/P
Ostalo	Proteinaza K potrebna u polistirenskim epruvetama sa zaobljenim dnom od 14 ml veličine 17 × 100 mm (Corning, kat. br. 352051); upotrebljavajte samo pozicije 1 i 2 nosača epruveta (za utor A)

\* Pogledajte i Popis laboratorijskih proizvoda dostupan na kartici Product Resources (Resursi za proizvod) na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ili na kartici Resources (Resursi) na web-mjestu [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

N/P, nije primjenjivo.

## Epruvete s uzorkom za nosač epruveta

Tablica 3. Informacije o postavljanju nosača epruveta\*

Naziv na zaslonu osjetljivom na dodir	Dobavljač	Materijal	Primjer kat. br.	Umetak	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	Nije potreban umetak	2,8 ml <sup>†</sup>  1,6 ml <sup>†§</sup> (Način Enable Less Sample (Omogući manji uzorak))	5,3 ml <sup>†</sup>  4,1 ml <sup>†§</sup> (Način Enable Less Sample (Omogući manji uzorak))	N/P	N/P
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100	BD	10 mL PAXgene Blood ccfDNA Tube 16 × 100 mm	768165	Nije potreban umetak	N/P	N/P	Pogledajte alat PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

\* Pogledajte i Popis laboratorijskih proizvoda dostupan na kartici Product Resources (Resursi za proizvod) na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ili na kartici Resources (Resursi) na web-mjestu [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

<sup>†</sup> Prethodno isporučivala tvrtka BD.

<sup>‡</sup> Minimalni volumen uzorka potreban po uzorku i protokolu (uključujući prazan volumen); moguća detekcija ugruška.

<sup>§</sup> Minimalni volumen uzorka smanjen s pomoću načina **Enable Less Sample** (Omogući manji uzorak). **Način Enable Less Sample** (Omogući manji uzorak) osmišljen je za uporabu svih dostupnih tekućina u kombinaciji s detekcijom razine tekućine i detekcijom ugruška. **Način Enable Less Sample** (Omogući manji uzorak) dovodi do označavanja uzoraka s **nejasno**.

N/P, nije primjenjivo.

## Ladica „Reagents and Consumables“ (Reagensi i potrošni materijal)

Pozicija A1 i/ili A2	Uložak reagensa
Pozicija B1	N/P
Držač nosača vršaka 1 – 17	Disposable filter-tips, 200 ili 1500 µl
Držač kutije jedinice 1 – 4	Kutije jedinica koje sadržavaju uloške za pripremu uzoraka ili poklopce 8-Rod Covers

N/P = nije primjenjivo.

## Ladica „Waste“ (Otpad)

Držač kutije jedinice 1 – 4	Prazne kutije jedinica
Držač vrećice za otpad	Vrećica za otpad
Držač boce za tekući otpad	Prazna boca za tekući otpad

## Ladica „Eluate“ (Eluat)

Dobavljač	Materijal	Primjer kat. br.	Kategorija	Naziv na zaslonu osjetljivom na dodir	Adapter na utoru za eluciju 1 (rashlađeni)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Isporučuje se s kompletom (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 jažice, kat. br. 9020674 (rashladni utor 1)
				SL#E1415-2231 **T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (rashladni utor 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1,5/2,0 ml QS (utori 2 – 4 nisu rashladni)

\* Označava laboratorijske proizvode koji se mogu hladiti s pomoću adaptera za hlađenje s crtičnim kodom (može se prenositi i upotrebljavati na instrumentu QIASymphony AS).

\*\* Označava laboratorijske proizvode koji se mogu hladiti s pomoću adaptera za hlađenje bez crtičnog koda (ne može se prenositi i upotrebljavati na instrumentu QIASymphony AS).

## Potreban plastični pribor

Plastični pribor	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Jedna serija, 24 uzorka*	Dvije serije, 48 uzoraka*	Jedna serija, 24 uzorka*	Dvije serije, 48 uzoraka*
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
	Tri serije, 72 uzorka*	Četiri serije, 96 uzoraka*	Tri serije, 72 uzorka*	Četiri serije, 96 uzoraka*
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

\* Upotrebom manje od 24 uzorka po seriji smanjuje se broj jednokratnih vršaka filtara koji su potrebni po postupku. Za provedbu više od jednog skeniranja uzoraka neophodni su dodatni jednokratni vršci filtara.

† Na nosaču vršaka filtara nalaze se 32 vrška filtara.

‡ Broj potrebnih vršaka filtara uključuje vrške filtara za 1 skeniranje uzoraka po ulošku reagensa.

§ Jedinica kutije sadržava 28 uložaka za pripremu uzoraka.

¶ Jedinica kutije sadržava dvanaest poklopaca 8-Rod Covers.

**Napomena:** navedeni broj vršaka filtara može se razlikovati od broja prikazanog na zaslonu osjetljivom na dodir ovisno o postavkama. Mi preporučujemo postavljanje najvišeg mogućeg broja vršaka.

## Volumen elucije

Odabrani volumen elucije (μl)*	Početni volumen elucije (μl)†
60	75

\* To je minimalni dostupni volumen eluata u epruveti za konačnu eluciju za nosač QIAGEN EMT rack (kat. br. 19588) i epruvete Sarstedt screw cap tube od 1,5 ml (kat. br. 72.607). U pojedinim slučajevima volumen konačnog eluata za pojedinačne uzorke može biti i do 5 μl manji.

† Početni volumen pufera za eluciju potreban kako bi se osiguralo da je stvarni volumen eluata jednak odabranom volumenu.

## Priprema proteinaze K na poziciji 1 (i na poziciji 2, ako je to potrebno) utora A

Komplet QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit sadržava otopinu proteinaze K spremnu za uporabu. Proteinaza K može se pohraniti na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C). Za pohranu tijekom duljeg vremenskog razdoblja preporučujemo čuvanje enzimskih bočica s proteinazom K na temperaturi od 2 – 8 °C.

Broj uzorka	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†

\* Za svaki uzorak potrebno je 110 μl (za 2400 μl plazme) ili 220 μl (za 4800/4000 μl plazme), plus dodatan prazan volumen od 1100 μl [(n x 110 ili 220 μl) + 1100 μl].

† Ako je potrebno više od 11.660 μl, upotrijebite drugu epruvetu (Corning, kat. br. 352051). Za drugu je epruvetu potreban dodatan prazan volumen od 1100 μl.

**Napomena:** epruvete koje sadržavaju proteinazu K postavljaju se na nosač epruveta. Nosač epruveta s proteinazom K mora se postaviti na pozicije 1 i 2 u utoru A ladice „Sample“ (Uzorak). Preporučujemo da za proteinazu K upotrebljavate polistirenske epruvete sa zaobljenim dnom od 14 ml veličine 17 x 100 mm (Corning, kat. br. 352051).

# Povijest revizija dokumenta

Datum	Izmjene
04/2021	Prvo izdanje
05/2022	Na nekim mjestima uklonjeno „(CE-IVD)“. Ažurirana jedna od napomena u koraku 5 protokola u odjeljku „A) Priprema plazme iz krvi za standardne protokole“. Ažuriran odjeljak „Volumen uzorka“. Uključena poveznica <a href="http://www.preanalytix.com">www.preanalytix.com</a> kao mjesto na kojem se mogu pronaći povezani resursi.
07/2023	Ulica u adresi društva PreAnalytiX GmbH promijenjena iz „Feldbachstrasse“ u „Garstligweg 8“. Ažurirano na nove smjernice za brendiranje.



Ažurirane informacije o licenciranju i izjave specifične za proizvod pogledajte u odgovarajućem priručniku za komplet tvrtke PreAnalytiX ili QIAGEN ili priručniku za korisnika. Priručnici i korisnički priručnici za komplete PreAnalytiX i QIAGEN dostupni su na [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com) i [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ili ih možete zatražiti od tehničke službe društva QIAGEN ili svojeg lokalnog distributera.

**Better samples  
More to explore**

Dodatno istražite na: [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)

HB-2866-S01-004 07/2023

 **PreAnalytiX**  
A QIAGEN / BD Company