

Júl 2023

Návod na použitie pre prístroj QIASymphony® SP (Protokolový list)

Pre súpravu PreAnalytiX QIASymphony PAXgene® Blood ccfDNA Kit a skúmavku
PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube

Protokoly PAXgene Blood ccfDNA IVD:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 a PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Verzia 1

IVD

Na diagnostické použitie in vitro



REF

768566



PreAnalytiX GmbH
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Švajčiarsko

EC

REP

R4

MAT

Ochranné známky: 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. Ak nie je uvedené inak je PreAnalytiX, logo PreAnalytiX a všetky ostatné ochranné známky majetkom spoločnosti PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

Distribútori PreAnalytiX

Produkty PreAnalytiX vyrába a distribuuje spoločnosť QIAGEN a BD pre PreAnalytiX.

Všeobecné informácie

Na diagnostické použitie in-vitro.

Súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit je určená na automatizovanú izoláciu a purifikáciu cirkulujúcej bezbunkovej DNA (ccfDNA) z plazmy vytvorenej z neupravenej venózne ľudskej krvi odobratej do skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube.

Postup purifikácie je optimalizovaný na použitie s plazmou vytvorenou z neupravenej venózne ľudskej krvi odobratej do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube. Pokyny k postupu odberu krvi nájdete v návode na použitie pre skúmavku PAXgene Blood ccfDNA Tube na domovskej stránke produktu (www.preanalytix.com).

Na automatizovanú izoláciu ccfDNA z plazmy vytvorenej z neupravenej venózne ľudskej krvi odobratej do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube boli vypracované štyri rôzne protokoly. V štandardných verziách je možné vybrať vstupné objemy vzorky plazmy 2,4 alebo 4,8 ml. Protokoly pre manipuláciu s primárnymi skúmavkami navyše umožňujú priame umiestnenie skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube do prístroja QIASymphony SP. Protokoly pre manipuláciu s primárnymi skúmavkami sú k dispozícii pre vstupné objemy vzorky plazmy 2,4 alebo 4,0 ml (pozrite si tabuľky na nasledujúcich stranách).

Každý objem plazmy použitý na extrakciu ccfDNA vyžaduje príslušný vstupný objem vzorky vrátane prázdneho objemu a protokolového skriptu tak, ako je zhrnuté v Tabuľke 1.

Tabuľka 1. Prehľad protokolu

Materiál vzorky	Ľudská plazma vytvorená z neupravenej venózne ľudskej krvi odobratej do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube			
Súprava	Súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)(192), kat. č. 768566			
Verzia softvéru	Verzia 5.0 alebo vyššia			
Konfigurácia softvéru na použitie pri diagnostike in vitro	Predvolený profil 1			
Protokoly	Protokolová línia	Vstupný objem vzorky (vrátane prázdneho objemu)(ml)	Objem vzorky použitý na extrakciu ccfDNA (ml)	(Assay Control_) Názov protokolu
	Standard (Štandard)	2,8 5,3	2,4 4,8	(ACS_)PAXcircDNA_2400 (ACS_)PAXcircDNA_4800
	Manipulácia s primárnymi skúmavkami	podľa zvoleného nástroja	2,4 4,0	(ACS_)PAXcircDNA PrimaryTube_2400 (ACS_)PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Príprava plazmy sa môže vykonať použitím (A) štandardného protokolu s dvojitým odstredením alebo (B) prostredníctvom manipulácie s primárnymi skúmavkami: priame spracovanie jednorazových skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube s jedným odstredením v prístroji QIASymphony SP.

A) Príprava plazmy z krvi pre štandardné protokoly

1. Odstreďujte skúmavku PAXgene Blood ccfDNA Tube pri izbovej teplote (15 – 25 °C) v trvaní 15 minút pri rýchlosti 1600 – 3000 × g použitím odstredivky s vyváženými výkyvnými komorami. Ak sa uprednostňuje brzdenie, odporúčame používať strednú úroveň brzdienia, ktorá by mala byť schválená pre váš konkrétny pracovný postup.

Poznámka: Na dosiahnutie čo najlepšej výkonnosti pre vzorky uložené v chladničke pred odstredovaním premiešajte vzorku otočením trikrát a nechajte skúmavky pred spracovaním zohriať na izbovú teplotu.

2. Pipetujte plazmu do skúmavky na odstreďovanie s kužeľovým dnom s objemom 15 ml (nie je súčasťou dodávky), pričom dávajte pozor, aby ste nenarušili naočkovanú bunkovú frakciu.
3. Odstreďujte skúmavku na odstreďovanie s kužeľovým dnom s objemom 15 ml po dobu 10 minút pri izbovej teplote (15 – 25 °C) pri rýchlosti 1 600 – 3 000 × g použitím vyváženej odstredivky.

Poznámka: Neprekračujte maximálnu rýchlosť odstreďovania odporúčanú výrobcom sekundárnych skúmaviek.

4. Pipetujte požadovaný objem plazmy (pozrite si časť „Objem vzorky“ na strane 9) do polystyrénovej skúmavky s okrúhlym dnom s objemom 14 ml, 17 × 100 mm, pričom dávajte pozor, aby ste nenarušili zvyškovú peletu krvných buniek, ak je prítomná.
5. Preneste skúmavku s okrúhlym dnom s plazmovou vzorkou do nosiča na skúmavky a vložte nosič na skúmavky do vstupnej zásuvky na vzorky prístroja QIASymphony SP.

Poznámka: Na dosiahnutie maximálneho výťažku ccfDNA spracujte maximálny dostupný objem plazmy.

Poznámka: Počas pipetovania zabráňte tvorbe peny v plazmových vzorkách alebo na nich. Pena alebo vzduchové bublinky na vzorkách môže spôsobiť pipetovanie nesprávneho objemu vzorky.

Poznámka: Po prenose plazmy v sekundárnej skúmavke je ccfDNA stabilná v plazme pri teplote 15 – 25 °C maximálne 3 dni alebo pri teplote 2 – 8 °C maximálne 7 dní. Pre dlhšie skladovanie odporúčame zmrazenie alikvót na teplotu –20 °C alebo –80 °C.

Poznámka: Pri použití predtým uskladnených plazmových vzoriek (uložených napríklad pri teplote 2 – 8 °C alebo zmrazených pri teplote –20 alebo –80 °C) by sa tieto vzorky mali pred spustením cyklu homogenizovať na izbovú teplotu (15 – 25 °C).

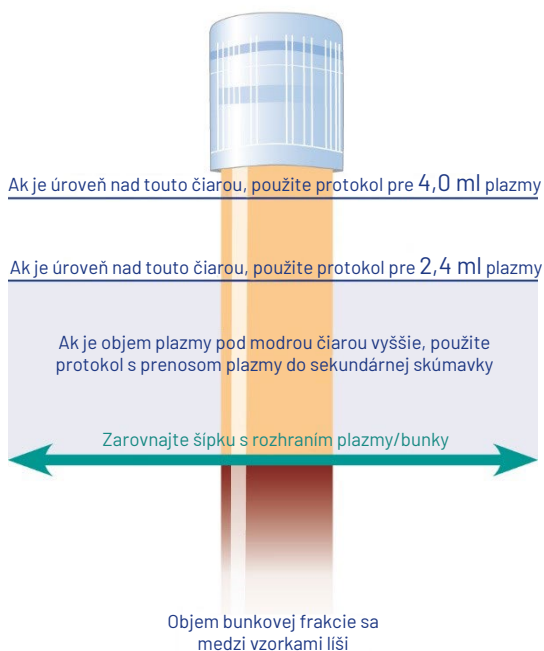
B) Príprava plazmy z krvi pre manipuláciu s primárnou skúmavkou v prístroji QIASymphony SP

1. Odstreďujte skúmavku PAXgene Blood ccfDNA Tube pri izbovej teplote (15 – 25 °C) v trvaní 15 minút pri rýchlosti 3000 × g použitím odstredivky s vyváženými výkyvnými komorami. Ak sa uprednostňuje brzdenie, odporúčame používať strednú úroveň brzdienia, ktorá by mala byť schválená pre váš konkrétny pracovný postup.

Poznámka: Na dosiahnutie čo najlepšej výkonnosti pre vzorky uložené v chladničke pred odstredovaním premiešajte vzorku otočením trikrát a nechajte skúmavky pred spracovaním zohriať na izbovú teplotu.

2. Kvantifikujte objem plazmy v každej skúmavke po vybratí z komory odstredivky pomocou nástroja na výber purifikačného protokolu PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, ktorý je k dispozícii ako súčasť súpravy (Obrázok 1). Po vybratí skúmavky z odstredivky je šípka na nástroji zarovnaná s rozhraním plazmy/bunky. Modré čiary udávajú, či je úroveň plazmy dostatočná pre protokol manipulácie s primárnymi skúmavkami s objemom 2,4 alebo 4,0 ml. Minimálna výška stĺpca plazmy 2,3 cm je potrebná pre protokol 2,4 ml a minimálna výška 3,4 cm je potrebná pre protokol 4,0 ml.

Stanovte optimálny protokol pre spracovanie
skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)
priamo v prístroji QIASymphony SP



Obrázok 1. Stanovenie objemu plazmy pomocou nástroja na výber purifikačného protokolu PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (tento slúži len na ilustračné účely, netlačte, pretože skutočná veľkosť sa líši – neslúži na použitie so vzorkami).

Poznámka: Ak nedôjde k jasnému oddeleniu plazmy a bunkovej frakcie alebo sa fázy neúmyselne pomiešali pri vyberaní z odstredivky, je potrebné zopakovať odstreďovanie.

Poznámka: Pred umiestnením skúmavky do prístroja skontrolujte, či došlo k jasnej separácii.

3. Odstráňte uzáver Hemogard zo skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube pred umiestnením do prístroja QIASymphony SP na priamu extrakciu ccfDNA.
4. Umiestnite otvorené skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube, ktoré obsahujú dostatočné množstvo plazmy, do nosiča na skúmavky a vložte nosič na skúmavky do vstupnej zásuvky na vzorky prístroja QIASymphony SP.

Objem vzorky

Na zaistenie toho, že pri bežnom pracovnom postupe sa 2,4 ml (protokol PAXcircDNA_2400) a 4,8 ml vzoriek (protokol PAXcircDNA_4800) preniesie do prístroja, sa vyžaduje prázdny objem 0,4, resp. 0,5 ml, čo znamená že musí byť k dispozícii minimálny vstupný objem vzorky 2,8 a 5,3 ml. Ak sú k dispozícii nižšie objemy plazmy než 2,8 alebo 5,3 ml umožňuje režim **Less Sample mode** (Režim pre menšie vzorky) ako integrovaná súčasť funkcie protokolu prenos nižších objemov plazmy, ako je uvedené. V tomto prípade prístroj preniesie menej vzorky. Rozdiel objemu pipetovanej plazmy sa zaznamená do súboru výsledkov. Príslušné vzorky sa navyše označia ako **nejasné** (chybový kód 140043, **Enable Less Sample mode** (Aktivovať režim pre menšie vzorky)). Minimálne vstupné objemy plazmy na aktiváciu režimu **Less Sample mode** (Režim pre menšie vzorky) sú 1,6 ml (protokol PAXcircDNA 2400) a 4,1 ml (protokol PAXcircDNA 4800). Vzorky sa nespracujú a budú označené ako **neplatné**, ak sa poskytne nižší objem vzorky. Pre pracovný postup manipulácie s primárnymi skúmavkami je vhodný objem vzorky zaistený použitím nástroja na výber purifikačného protokolu PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, ktorý je súčasťou súpravy a je popísaný v časti „B) Príprava plazmy z krvi pre manipuláciu s primárnou skúmavkou v prístroji QIASymphony SP“ na strane 6.

Zásuvka „Sample“ (Vzorka)

Tabuľka 2. Informácie týkajúce sa nastavenia zásuvky pre vzorky*

Typ vzorky	Ľudská plazma vytvorená z neupravenej venóznej ľudskej krvi odobratej do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube
Vstupný objem vzorky (vrátane prázdneho objemu)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400), 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Pozrite si nástroj na výber purifikačného protokolu PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Pozrite si nástroj na výber purifikačného protokolu PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Primárne skúmavky na vzorky	10 ml skúmavka PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 × 100 mm (BD™, kat. č. 768165)
Sekundárne skúmavky na vzorky	Polystyrénové skúmavky s okrúhlym dnom s objemom 14 ml, 17 × 100 mm (Corning®, kat. č. 352051)
Vložky	nevzťahuje sa
Iné	Proteináza K sa vyžaduje pre polystyrénové skúmavky s okrúhlym dnom s objemom 14 ml, 17 × 100 mm (Corning, kat. č. 352051), používajte len pozície 1 a 2 nosiča na skúmavky (pre slot A)

* Pozrite si aj zoznam laboratórneho vybavenia na karte Product Resources (Zdroje produktov) na stránke www.qiagen.com alebo na karte Resources (Zdroje) na stránke www.prealalytix.com.

n/a, nevzťahuje sa.

Skúmavky na vzorky pre nosič na skúmavky

Tabuľka 3. Informácie týkajúce sa nastavenia nosiča na vzorky*

Názov na dotykovej obrazovke	Dodávateľ	Materiál	Príklad kat. č.	Vložka	PAXcircDNA_2400	PAXcircDNA_4800	PAXcircDNA_PrimaryTube_2400	PAXcircDNA_PrimaryTube_4000
BD #352051 FalconPP 17 × 100	Corning†	14 ml polystyrénová skúmavka s guľatým dnom Falcon® 17 × 100 mm	352051	Nie je potrebná žiadna vložka	2,8 ml† 1,6 ml [§] (Enable Less Sample mode) (Aktivovať režim pre menšie vzorky))	5,3 ml† 4,1 ml [§] (Enable Less Sample mode) (Aktivovať režim pre menšie vzorky))	nevtáhuje sa	nevtáhuje sa
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube 16 × 100 mm	768165	Nie je potrebná žiadna vložka	nevtáhuje sa	nevtáhuje sa	Pozrite si nástroj na výber purifikačného protokolu PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

* Pozrite si aj zoznam laboratórneho vybavenia na karte Product Resources (Zdroje produktov) na stránke www.qiagen.com alebo na karte Resources (Zdroje) na stránke www.prenalytix.com.

† Predtým dodávala spoločnosť BD.

‡ Minimálny objem vzorky požadovaný na vzorku podľa protokolu (vrátane prázdneho objemu); možná detekcia zrazeniny.

§ Znížený minimálny objem vzorky použitím funkcie **Enable Less Sample mode** (Aktivovať režim pre menšie vzorky). Funkcia **Enable Less Sample mode** (Aktivovať režim pre menšie vzorky) je navrhnutá na použitie všetkej dostupnej tekutiny v kombinácii s detekciou hladiny tekutiny a detekciou zrazeniny. Použitie funkcie **Enable Less Sample mode** (Aktivovať režim pre menšie vzorky) má za následok označenie vzoriek ako **nejasné**.

n/a, nevtáhuje sa.

Zásuvka „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál)

Pozícia A1 a/alebo A2	Reagenčná kazeta
Pozícia B1	nevtáhuje sa
Držiak stojana na špičky 1–17	Disposable filter-tips, 200 alebo 1 500 µl
Držiak jednotkovej krabice 1–4	Jednotkové krabice obsahujúce kazety s preparátmi vzoriek alebo 8-Rod Covers

n/a = neaplikovateľné.

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držiak jednotkovej krabice 1–4	Prázdne krabice na jednotky
Držiak odpadového vrečka	Odpadové vrečko
Držiak fľaše na tekutý odpad	Prázdna fľaša na tekutý odpad

Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Dodávateľ	Materiál	Príklad kat. č.	Kategória	Názov na dotykovej obrazovke	Adaptér na elučný slot 1 (chladený)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Dodáva sa v rámci súpravy (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, kat. č. 9020674 (chladiaci slot 1)
				SL#E1415-2231 **T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (chladiaci slot 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1,5/2,0 ml QS (sloty 2 – 4 bez chladenia)

* Označuje laboratórne vybavenie, ktoré sa dá chladiť použitím chladiaceho adaptéra s čiarovým kódom (prenosné a použiteľné s prístrojom QIASymphony AS).

** Označuje laboratórne vybavenie, ktoré sa dá chladiť použitím chladiaceho adaptéra bez čiarového kódu (neprenosné a nepoužiteľné s prístrojom QIASymphony AS).

Požadované plastové vybavenie

Plastové vybavenie	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Jedna dávka, 24 vzoriek*	Dve dávky, 48 vzoriek*	Jedna dávka, 24 vzoriek*	Dve dávky, 48 vzoriek*
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 dávky, 72 vzoriek*	Štyri dávky, 96 vzoriek*	Tri dávky, 72 vzoriek*	Štyri dávky, 96 vzoriek*
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

* Použitie menej ako 24 vzoriek na dávku znižuje počet jednorazových filtračných špičiek potrebných na cyklus. Vykonalenie viac než jedného inventárneho skenu si vyžaduje doplnkové jednorazové filtrovacie špičky.

[†] V stojane na filtrovacie špičky sa nachádza 32 filtrovacích špičiek.

[‡] Počet potrebných filtrovacích špičiek zahŕňa filtrovacie špičky pre 1 inventárny sken na kazetu s reagensiami.

[§] V jednotkovej krabici je 28 kaziet s preparátmi vzoriek.

[¶] V škatuľke jednotky je dvanásť krytov 8-Rod Covers.

Poznámka: Počet daných filtrovacích špičiek sa môžu líšiť od počtu zobrazených na dotykovej obrazovke v závislosti od nastavení. Odporúčame vložiť maximálny možný počet špičiek.

Elučný objem

Zvolený elučný objem (μl)*	Počiatkový elučný objem (μl)†
60	75

* Toto je minimálny dostupný objem eluátu vo výslednej elučnej skúmavke pre stojan QIAGEN EMT (kat. č. 19588) a 1,5 ml skúmavky so skrutkovým uzáverom Sarstedt (kat. č. 72.607). V jednotlivých prípadoch môže byť výsledný elučný objem pre samostatné vzorky až o 5 μl menší.

† Počiatkový objem elučného pufráčného roztoku potrebný na zabezpečenie toho, aby bol skutočný objem eluátu rovnaký ako zvolený objem.

Príprava proteínázy K v pozícii 1 (a ak sa vyžaduje, v pozícii 2) slotu A

Súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit obsahuje roztok proteínázy K pripravený na použitie. Proteínáza K sa môže skladovať pri izbovej teplote (15 – 25 °C). Pri dlhšom skladovaní odporúčame uchovávať enzymatické liekovky s proteínázou K pri teplote 2 – 8 °C.

Počet vzoriek	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400* (μl)	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* (μl)
8	1 980	2 860
24	3 740	6 380
48	6 380	11 660†
96	11 660†	23 320†

* Pre každú vzorku sa vyžaduje 110 μl (pre 2 400 μl plazmy) alebo 220 μl (pre 4 800/4 000 μl plazmy) plus dodatočný prázdny objem 1 100 μl [(n × 110 alebo 220 μl) + 1 100 μl].

† Ak sa vyžaduje viac ako 11 660 μl, použite druhú skúmavku (Corning, kat. č. 352051). Pre druhú skúmavku sa vyžaduje dodatočný prázdny objem 1 100 μl.

Poznámka: Skúmavky obsahujúce proteínázu K sú umiestnené v nosiči na skúmavky. Nosič na skúmavky s obsahom proteínázy K musí byť umiestnený v pozíciách 1 a 2 v slotu A zásuvky „Sample“ (Vzorka). Pre proteínázu K odporúčame použiť polystyrénové skúmavky s okrúhlym dnom s objemom 14 ml, 17 × 100 mm (Corning, kat. č. 352051).

História úprav dokumentu

Dátum	Zmeny
04/2021	Prvé vydanie
05/2022	Odstránený výraz „(CE-IVD)“ v niektorých prípadoch. Aktualizovaná jedna z poznámok o kroku protokolu 5 v časti „A) Priprava plazmy z krvi pre štandardné protokoly“. Aktualizovaná časť „Objem vzorky“. Zahrnutá stránka www.preanalytix.com v súvislosti s miestom, kde možno nájsť súvisiace zdroje.
07/2023	Ulica spoločnosti PreAnalytiX GmbH zmenená z „Feldbachstrasse“ na „Garstligweg 8“. Aktualizované podľa nových usmernení pre marketing značky.



Aktuálne licenčné informácie a právne informácie týkajúce sa produktu nájdete v príslušnom sprievodcovi alebo používateľskej príručke k súprave PreAnalytiX alebo QIAGEN. Sprievodcov a používateľské príručky k súpravám PreAnalytiX a QIAGEN nájdete na stránkach www.preanalytix.com a www.qiagen.com alebo o ne môžete požiadať oddelenie technických služieb spoločnosti QIAGEN alebo vášho miestneho distribútora.

**Better samples
More to explore**

Viac informácií nájdete na: www.preanalytix.com

HB-2866-S01-004 07/2023

 **PreAnalytiX**
A QIAGEN / BD Company