

Červenec 2023

# Návod k použití přístroje QIASymphony® SP (protokolový list)

Pro soupravu PreAnalytiX QIASymphony PAXgene® Blood ccfDNA Kit a zkumavku  
PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube

Protokoly PAXgene Blood ccfDNA pro diagnostiku in vitro:

PAXcircDNA \_2400, PAXcircDNA \_4800, PAXcircDNA\_PrimaryTube\_2400 a PAXcircDNA\_PrimaryTube\_4000

Verze 1

IVD

Pro diagnostické použití in vitro



REF

768566



PreAnalytiX GmbH  
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Švýcarsko

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. Pokud není uvedeno jinak, PreAnalytiX, logo PreAnalytiX a ostatní ochranné známky jsou majetkem společnosti PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

## **Distributoři společnosti PreAnalytiX**

Produkty PreAnalytiX vyrábějí nebo distribuují společnosti QIAGEN a BD pro společnost PreAnalytiX.

## Všeobecné informace

Pro diagnostické použití in vitro.

Souprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit je určena k automatické izolaci a purifikaci cirkulující bezbuněčné DNA (ccfDNA) z plazmy generované z plně lidské venózní krve odebrané ve zkumavce PAXgene Blood ccfDNA Tube.

Postup purifikace je optimalizován pro použití s plazmou generovanou z plně lidské venózní krve odebrané ve zkumavkách PAXgene Blood ccfDNA Tube. Pokyny k odběru krve najdete v návodu k použití zkumavky PAXgene Blood ccfDNA Tube na domovské stránce produktu ([www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)).

Byly vytvořeny čtyři různé protokoly pro automatickou izolaci ccfDNA z plazmy generované z plně lidské venózní krve odebrané ve zkumavkách PAXgene Blood ccfDNA Tube. Ve standardních verzích lze zvolit vstupní objem vzorku 2,4 nebo 4,8 ml plazmy. Protokoly pro manipulaci s odběrovou zkumavkou navíc umožňují přímé umístění zkumavky PAXgene Blood ccfDNA Tube na přístroj QIASymphony SP. Protokoly pro manipulaci s odběrovou zkumavkou jsou k dispozici pro vstupní objemy vzorku 2,4 nebo 4,0 ml plazmy (viz tabulky na následujících stranách).

Každý objem plazmy použitý k extrakci ccfDNA vyžaduje příslušný vstupní objem vzorku, včetně prázdného objemu a příslušného skriptu protokolu, jak je shrnuto v tabulce 1.

**Tabulka 1. Přehled protokolu**

Materiál vzorku	Lidská plazma generovaná z plně venózní krve odebraná do zkumavek ccfDNA PAXgene Blood Tube			
Souprava	Souprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), (192), kat. č. 768566			
Verze softwaru	Verze 5.0 nebo vyšší			
Konfigurace softwaru pro použití IVD	Výchozí profil 1			
Protokoly	Řada protokolu	Vstupní objem vzorku (vč. prázdného objemu) (ml)	Objem vzorku použitý pro odběr ccfDNA (ml)	(Assay Control) Název protokolu
	Standard	2,8 5,3	2,4 4,8	(ACS_) PAXcircDNA_2400 (ACS_) PAXcircDNA_4800
	Manipulace s odběrovou zkumavkou	podle nástroje Selection Tool pro výběr	2,4 4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400 (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Výrobu plazmy lze provádět A) pomocí standardního protokolu dvojitého odstředění nebo B) prostřednictvím manipulace s odběrovou zkumavkou: přímého zpracování jednotlivých jednorázových odstředěných zkumavek PAXgene Blood ccfDNA Tube na přístroji QIASymphony SP.

## A) Příprava plazmy z krve pro standardní protokoly

1. Odstřeďte zkumavku PAXgene Blood ccfDNA Tube při pokojové teplotě (15–25 °C) po dobu 15 minut při 1600–3000 × g pomocí vyvážené vytahovací lopatkové odstředivky. Pokud se upřednostňuje brzdění, doporučujeme použít střední úroveň brzdění, kterou je potřeba validovat pro váš konkrétní pracovní postup.

**Poznámka:** Aby vzorky uchovávané před centrifugací v chladu fungovaly co nejlépe, promíchejte znovu vzorek tak, že jej třikrát převrátíte, a nechte zkumavky před zpracováním ohřát na pokojovou teplotu.

2. Napipetujte plazmu do 15 ml odstředivkové zkumavky s kónickým dnem (není součástí dodávky), přičemž dbejte na to, abyste neporušili jadernou buněčnou frakci.
3. Odstřeďte 15 ml odstředivkovou zkumavku s kónickým dnem při teplotě místnosti (15–25 °C) po dobu 10 minut při 1600–3000 × g pomocí vyvážené odstředivky.

**Poznámka:** Nepřekračujte maximální rychlost odstřeďování doporučenou výrobcem sekundární zkumavky.

4. Napipetujte požadovaný objem plazmy (viz část „Objem vzorku“, strana 9) do 14 ml polystyrenové zkumavky s kulatým dnem o rozměrech 17 × 100 mm, přičemž dbejte na to, aby nedošlo k narušení pelet zbytkových krevních buněk, pokud jsou přítomny.
5. Přeneste zkumavku s kulatým dnem se vzorkem plazmy do nosiče zkumavek a vložte nosič zkumavek do zásuvky pro vložení vzorku přístroje QIASymphony SP.

**Poznámka:** Pro maximální výtěžek ccfDNA zpracujte maximální dostupný objem plazmy.

**Poznámka:** Zamezte vytvoření pěny na povrchu nebo uvnitř vzorků plazmy během pipetování. Pěna nebo vzduchové bubliny na vzorcích mohou vést k pipetování nesprávného objemu vzorku.

**Poznámka:** Po přenosu plazmy do sekundární zkumavky je ccfDNA stabilní v plazmě při teplotě 15–25 °C po dobu až 3 dnů nebo při teplotě 2–8 °C po dobu až 7 dnů. Při delším skladování doporučujeme zmrazení alikvotních podílů na teplotu –20 °C nebo –80 °C.

**Poznámka:** Při použití dříve uložených vzorků plazmy (např. skladovaných při teplotě 2–8 °C nebo zmrazených na –20 nebo –80 °C) je třeba je před zahájením zpracování nechat vytemperovat na pokojovou teplotu (15–25 °C).

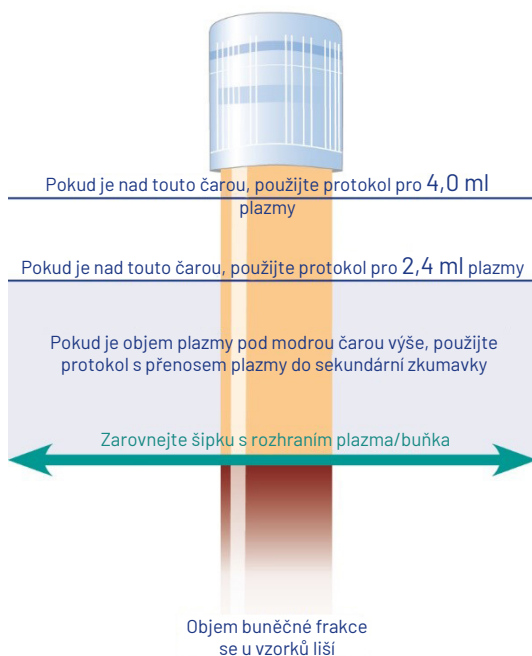
## B) Příprava plazmy z krve pro manipulaci s odběrovou zkumavkou na přístroji QIASymphony SP

1. Odstředíte zkumavku PAXgene Blood ccfDNA Tube při pokojové teplotě (15–25 °C) po dobu 15 minut při 3000 × g pomocí vyvážené vytahovací lopatkové odstředivky. Pokud se upřednostňuje brzdění, doporučujeme použít střední úroveň brzdění, kterou je potřeba validovat pro váš konkrétní pracovní postup.

**Poznámka:** Aby vzorky uchovávané před centrifugací v chladu fungovaly co nejlépe, promíchejte znovu vzorek tak, že jej třikrát převrátíte, a nechte zkumavky před zpracováním ohřát na pokojovou teplotu.

2. Po vyjmutí z kádinky odstředivky kvantifikujte objem plazmy v každé zkumavce pomocí nástroje PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, který se dodává jako obsah soupravy (obrázek 1). Po vyjmutí zkumavky z odstředivky se modrozelená šipka na nástroji zarovná s rozhraním plazma/buňka. Modré čáry označují, zda je plazmatická hladina dostatečná pro protokol manipulace s odběrovou zkumavkou o objemu 2,4 nebo 4,0 ml. Pro protokol 2,4 ml je zapotřebí minimální výška sloupce plazmy 2,3 cm a pro protokol 4,0 ml je zapotřebí výška minimálně 3,4 cm.

Určete optimální protokol pro zpracování zkumavek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) přímo na přístroji QIASymphony SP



Obrázek 1. Stanovení objemu plazmy pomocí nástroje PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (slouží pouze pro ilustraci; netiskněte, skutečná velikost se totiž liší – nepoužívejte u vzorků).

**Poznámka:** V případě, že nedojde k jasnému oddělení plazmatické a buněčné frakce nebo dojde k náhodnému smíchání fází po vyjmutí z odstředivky, odstředování je potřeba zopakovat.

**Poznámka:** Před umístěním zkumavky na přístroj zkontrolujte, jestli došlo k jasnému oddělení.

3. Před umístěním na přístroj QIASymphony SP pro přímou extrakci ccfDNA sejměte ze zkumavek PAXgene Blood ccfDNA Tube uzávěr Hemogard Closure Cap.
4. Do nosiče zkumavek vložte otevřené zkumavky PAXgene Blood ccfDNA Tube, které obsahují dostatečné množství plazmy, a nosič zkumavek vložte do vstupní zásuvky pro vzorky přístroje QIASymphony SP.



## Objem vzorku

Aby se při běžném pracovním postupu přístrojem přenesl objem vzorku 2,4 ml (protokol PAXcircDNA\_2400) a 4,8 ml (protokol PAXcircDNA\_4800), vyžaduje se prázdný objem 0,4, respektive 0,5 ml, což znamená, že je nutno poskytnout vstup vzorku minimálně 2,8, respektive 5,3 ml. V případě, že jsou k dispozici nižší objemy plazmy než 2,8 nebo 5,3 ml, umožňuje **režim Less Sample** (Méně vzorků), aby byla integrována součástí funkce protokolu, přenos nižších objemů plazmy, než je uvedeno. V tomto případě se nástrojem přeneše méně vzorku. Rozdíl v pipetovaném objemu plazmy se zaznamená do souboru s výsledky. Kromě toho se příslušné vzorky označí jako **nejasné** (chybový kód 140043, **režim Enable Less Sample** povolit méně vzorků). Minimální vstupní objemy plazmy pro aktivaci **režimu Less Sample** (Méně vzorků) jsou 1,6 ml (protokol PAXcircDNA 2400) a 4,1 ml (protokol PAXcircDNA 4800). Pokud bude k dispozici menší objem vzorků, vzorky nebudou zpracovány a budou označeny jako **neplatné**. Pro postup manipulace s odběrovou zkumavkou se vhodný objem vzorku zajišťuje pomocí nástroje PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, který se dodává jako obsah soupravy a je popsán v části „B) Příprava plazmy z krve pro manipulaci s odběrovou zkumavkou na přístroji QIASymphony SP“ na straně 6.

## Zásuvka „Sample“ (Vzorek)

Tabulka 2. Informace k nastavení zásuvky na vzorky\*

Typ vzorku	Lidská plazma generovaná z plně venózní krve odebraná do zkumavek ccfDNA PAXgene Blood Tube
Vstupní objem vzorku (včetně prázdného objemu)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Viz PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Viz PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Odběrové zkumavky vzorku	10 ml zkumavka PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), 16 × 100 mm (BD™, kat. č. 768165)
Zkumavky sekundárního vzorku	14 ml polystyrenové zkumavky s kulatým dnem, 17 × 100 mm (Corning®, kat. č. 352051)
Vložky	–
Jiné	Proteináza K požadovaná ve 14 ml polystyrenové zkumavce s kulatým dnem o velikosti 17 × 100 mm (Corning, kat. č. 352051); používejte pouze pozice 1 a 2 nosiče zkumavek (ve slotu A)

\* Viz také seznam laboratorního vybavení na záložce Product Resources (Zdroje produktů) na webu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) nebo na záložce Resources (Zdroje) na webu [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

–, neuvedeno.

## Zkumavky na vzorky pro nosič zkumavek

Tabulka 3. Informace o nastavení nosiče zkumavek\*

Název na dotykové obrazovce	Dodavatel	Materiál	Příklad kat. č.	Vložka	PAXcirc DNA_2400	PAXcirc DNA_4800	PAXcirc DNA_PrimaryTube_2400	PAXcirc DNA_PrimaryTube_4000
BD #352051 FalconPP 17 × 100	Corning <sup>†</sup>	14 ml polystyrenová zkumavka Falcon® s kulatým dnem, 17 × 100 mm	352051	Vložka není nutná	2,8 ml <sup>‡</sup>  1,6 ml <sup>§</sup> (režim Enable Less Sample) (Povolit méně vzorků)	5,3 ml <sup>‡</sup>  4,1 ml <sup>§</sup> (režim Enable Less Sample) (Povolit méně vzorků)	–	–
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100	BD	10 ml zkumavka PAXgene Blood ccfDNA Tube 16 × 100 mm	768165	Vložka není nutná	–	–	Viz PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

\* Viz také seznam laboratorního vybavení na záložce Product Resources (Zdroje produktů) na webu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) nebo na záložce Resources (Zdroje) na webu [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

<sup>†</sup> Dříve dodáváno společností BD.

<sup>‡</sup> Minimální objem vzorku vyžadovaný pro vzorek podle protokolu (včetně prázdného objemu); možná detekce sraženin.

<sup>§</sup> Snížený minimální objem vzorku za použití režimu **Enable Less Sample** (povolit méně vzorků). **Režim Enable Less Sample** (povolit méně vzorků) byl navržen tak, aby využil veškerou dostupnou tekutinu v kombinaci s detekcí hladiny tekutiny a detekcí sraženin. **Režim Enable Less Sample** (povolit méně vzorků) vede k označení vzorků jako **nejasných**.  
–, neuvedeno.

## Zásuvka „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotřební materiál)

Pozice A1 a/nebo A2	Kazeta s reagenciemi
Pozice B1	–
Držák se stojánkem pro špičky 1–17	Jednorázové filtrační špičky Disposable filter-tips, 200 nebo 1500 µl
Držák jednotkové krabice 1–4	Jednotkové krabice obsahující kazety pro přípravu vzorků nebo 8-Rod Covers

– = neuvedeno.

## Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držák jednotkové krabice 1–4	Prázdné jednotkové krabice
Držák odpadních sáčků	Odpadní sáček
Držák nádoby na tekutý odpad	Prázdná lahev na kapalný odpad

## Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Dodavatel	Materiál	Příklad kat. č.	Kategorie	Název na dotykové obrazovce	Adaptér na elučním slotu 1 (chlazený)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Dodává se spolu se soupravou (19588)	Deep Well	QIA#19588* EMTR	Elution Microtube Rack QS
Eppendorf®	1,5 ml zkumavka DNA LoBind® Tube	0030108,051	Zkumavka,1,5 ml	EP#0030108.051** T1.5 Snap Cap	Snap-Cap Microtube
Sarstedt®	1,5 ml mikrozukavka, PP, neolemovaná	72607	Zkumavka, 1,5 ml / Zkumavka, 1,5 ml Adaptér V1 (bez BC)	SAR#72.607* T1.5 Screw/SAR#72.607** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS
Sarstedt	2,0 ml mikrozukavka, PP, neolemovaná	72693	Zkumavka 2,0 ml / Zkumavka_2,0 ml AdaptérV1(bez BC)	SAR#72.693 *T2.0 Screw	Microtube Screw Cap QS
Starlab®	1,5 ml mikrozukavka, kónická zkumavka se stupnicí, neolemovaná	E1415-2231	Zkumavka, 1,5 ml / Zkumavka_1,5 ml AdaptérV1(bez BC)	SL#E1415-2231 *T1.5 Screw	Šroubovací uzávěr mikrozukavky QS, 24 jamek, kat. č. 9020674 (chladičí slot 1)
				SL#E1415-2231 **T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (chladičí slot 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1,5/2,0 ml QS (nechladičí sloty 2–4)

\* Označuje laboratorní vybavení, které lze chladit chladičím adaptérem s čárovým kódem (přenositelné a použitelné na přístroji QIASymphony AS).

\*\* Označuje laboratorní vybavení, které lze chladit chladičím adaptérem bez čárového kódu (nepřenositelné a nepoužitelné na přístroji QIASymphony AS).

## Požadované plastové vybavení

Plastové vybavení	PAXcircDNA_2400 PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA_4800 PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Jedna šarže, 24 vzorků*	Dvě šarže, 48 vzorků*	Jedna šarže, 24 vzorků*	Dvě šarže, 48 vzorků*
	Tři sady, 72 vzorků*	Čtyři šarže, 96 vzorků*	Tři sady, 72 vzorků*	Čtyři šarže, 96 vzorků*
Jednorázové špičky s filtrem Disposable filter-tips, 200 µl <sup>††</sup>	24	48	24	48
Jednorázové špičky s filtrem 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
Jednorázové špičky s filtrem Disposable filter-tips, 200 µl <sup>††</sup>	72	96	72	96
Jednorázové špičky s filtrem 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

\* Použití méně než 24 vzorků na šarži snižuje počet filtračních špiček k jednorázovému použití požadovaných na jeden cyklus. Provedení více než jednoho inventárního skenu vyžaduje přidavné filtrační špičky k jednorázovému použití.

† Ve stojánku na filtrační špičky je 32 filtračních špiček.

‡ Počet požadovaných filtračních špiček zahrnuje filtrační špičky pro 1 inventární sken na kazetu s reagensy.

§ V jednotkové krabici je 28 kazet pro přípravu vzorků.

¶ V jednotkové krabici je dvanáct 8-Rod Covers.

**Poznámka:** Udávaný počet filtračních špiček se liší od počtu zobrazeného na dotykové obrazovce v závislosti na nastaveních. Doporučujeme načíst maximální možný počet špiček.

## Eluční objem

Zvolený eluční objem (μl)*	Počáteční eluční objem (μl)†
60	75

\* Toto je minimální dosažitelné množství eluátu ve výsledné eluční zkumavce u stojanu QIAGEN EMT (kat. č. 19588) a zkumavky Sarstedt se šroubovacím uzávěrem, o objemu 1,5 ml (kat. č. 72.607). V jednotlivých případech může být konečný eluční objem pro jednotlivé vzorky nižší až o 5 μl.

† Původní objem elučního pufru je vyžadován, aby bylo zajištěno, že skutečný objem eluátu odpovídá zvolenému objemu.

## Příprava proteinázy K v pozici 1 (a pokud je to nutné, v pozici 2) slotu A

Souprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit obsahuje roztok proteinázy Proteinase K připravený k okamžitému použití. Proteinázu Proteinase K lze skladovat při pokojové teplotě (15–25 °C). Pro dlouhodobém skladování doporučujeme uchovávat injekční lahvičky s enzymem proteinázy Proteinase K při teplotě 2–8 °C.

Číslo vzorku	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†

\* Pro každý vzorek se vyžaduje 110 μl (na 2 400 μl plazmy) nebo 220 μl (na 4 800 / 4 000 μl plazmy), plus další prázdný objem 1 100 μl [(n × 110 nebo 220 μl) + 1 100 μl].

† Pokud je zapotřebí více než 11 660 μl, použijte druhou zkumavku (Corning, kat. č. 352051). Pro druhou zkumavku je požadován další prázdný objem 1 100 μl.

**Poznámka:** Zkumavky obsahující proteinázu Proteinase K jsou umístěny v nosiči zkumavek. Nosiče zkumavek obsahující proteinázu Proteinase K musí být umístěny na pozicích 1 nebo 2 ve slotu A zásuvky „Sample“ (Vzorek). Na proteinázu K doporučujeme použít polystyrenové zkumavky o objemu 14 ml a rozměrech 17 × 100 mm, s kulatým dnem (Corning, kat. č. 352051).

# Historie revizí dokumentu

Datum	Změny
04/2021	První vydání
05/2022	V některých výskytech odstraněna závorka „(CE-IVD)“. Aktualizována jedna z poznámek ke kroku 5 protokolu v části „A) Příprava plazmy z krve pro standardní protokoly“. Aktualizována část „Sample volume: (Objem vzorku:)“. Začleněna webová stránka <a href="http://www.preanalytix.com">www.preanalytix.com</a> , kde lze nalézt související zdroje.
07/2023	Adresa společnosti PreAnalytiX GmbH změněna z ulice „Feldbachstrasse“ na „Garstligweg 8“. Aktualizováno podle nových pokynů pro tvorbu značky.



Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifické pro výrobek jsou uvedeny v příslušné příručce pro sadu PreAnalytiX či QIAGEN nebo v uživatelské příručce. Příručky a uživatelské návody sady PreAnalytiX a QIAGEN jsou k dispozici na webových stránkách [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com) a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) nebo si je lze vyžádat u Technických služeb společnosti QIAGEN, případně u lokálního distributora.

**Better samples  
More to explore**

Více informací na stránkách: [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)

HB-2866-S01-004 07/2023

 **PreAnalytiX**  
A QIAGEN / BD Company