

Február 2023

# Návod na použitie (Príručka) pre súpravu QIASymphony<sup>®</sup> PAXgene<sup>®</sup> Blood ccfDNA Kit



192

Verzia 1



Na diagnostické použitie in vitro



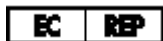
768566



PreAnalytiX GmbH

Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Švajčiarsko

1130770SK



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NEMECKO

PreAnalytiX Company

PreAnalytiX GmbH

8634 Hombrechtikon

Švajčiarsko

[www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com)

Ochranné známky: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH)  
QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, QIASymphony® (skupina QIAGEN)  
BD™ (Becton Dickinson and Company)  
Corning®, Falcon® (Corning, Inc.)  
Eppendorf® (Eppendorf AG)  
SpeedVac® (Thermo Fisher Scientific alebo jej dcérske spoločnosti).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

1130770SK HB-2866-003

© 2023 PreAnalytiX GmbH. Pokiaľ nie je uvedené inak, je PreAnalytiX, logo PreAnalytiX a všetky ostatné ochranné známky majetkom spoločnosti PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

### **Obmedzená licenčná zmluva pre súpravu QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit**

Použitie tohto produktu predstavuje súhlas kupujúceho alebo používateľa súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit s nasledovnými podmienkami:

1. Produkt sa môže používať výlučne v súlade s protokolmi poskytovanými spolu s produktom a touto príručkou, a môže sa používať výlučne s komponentmi obsiahnutými v súprave. Spoločnosť PreAnalytiX® neudeluje žiadnu licenciu v rámci žiadneho zo svojich práv na ochranu duševného vlastníctva na používanie alebo spájanie komponentov tejto súpravy so žiadnymi komponentmi, ktoré netvorí súčasť tejto súpravy s výnimkou ustanovení uvádzaných v protokoloch dodávaných spolu s produktom, tejto príručke a v ďalších protokoloch, ktoré sú dostupné na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) a [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).
2. V prípade iných než výslovne uvedených licencií spoločnosť PreAnalytiX neposkytuje žiadnu záruku na to, že táto súprava a/alebo jej použitie neporuší práva tretích strán.
3. Tento spotrebný materiál a jeho komponenty sú licenčne poskytnuté na jednorazové použitie a nesmú sa opätovne používať, opravovať ani predávať.
4. Spoločnosť PreAnalytiX sa konkrétne zrieka všetkých ostatných výslovných alebo predpokladaných licencií okrem tých, ktoré sú tu výslovne uvedené.
5. Kupujúci a používateľ tejto súpravy súhlasia s tým, že iným osobám neumožnia ani nepovolí vykonať žiadne kroky, ktoré by mohli viesť k akýmkoľvek činnostiam, ktoré sú zakázané vyššie, alebo k nim napomáhať. Spoločnosť PreAnalytiX môže uplatňovať príslušné zákazy uvádzané v tejto obmedzenej licenčnej zmluve pred akýmkoľvek súdom a bude požadovať všetky náklady na vyšetrovanie a súdne konania (vrátane nákladov na právne zastupovanie) pri každom takomto kroku s cieľom uplatniť ustanovenia tejto obmedzenej licenčnej zmluve alebo práv duševného vlastníctva súvisiacich so súpravou a/alebo jej komponentmi.

Aktualizované licenčné podmienky nájdete na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) a [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

## **Distribútori PreAnalytiX**

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

# Obsah

Obsah.....	3
Zamýšľané použitie .....	5
Zamýšľaný používateľ.....	5
Popis a princíp.....	6
Súhrn a vysvetlenie .....	6
Princípy postupu .....	7
Dodávané materiály.....	9
Obsah súpravy.....	9
Požadované materiály, ktoré sa nedodávajú.....	10
Zariadenie.....	10
Varovania a preventívne opatrenia.....	11
Bezpečnostné informácie .....	11
Preventívne opatrenia.....	12
Skladovanie a manipulácia s reagensmi .....	14
Komponenty súpravy.....	14
Odber a príprava vzoriek .....	16
Postup .....	20
Prehľad: Automatizovaná purifikácia ccfDNA na prístroji QIAAsymphony SP .....	20
Prehľad protokolu .....	25
Protokol: Automatizovaná purifikácia ccfDNA na prístroji QIAAsymphony SP .....	28
Kontrola kvality .....	32
Obmedzenia .....	32

Sprievodca riešením problémov.....	33
Symboly .....	36
Príloha: Kvantifikácia ccfDNA .....	38
Informácie o objednávaní .....	39
História úprav dokumentu .....	41

## Zamýšľané použitie

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

Súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit využíva technológiu magnetických častíc na automatizovanú izoláciu a purifikáciu ccfDNA z ľudskej plazmy.

Táto súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit je určená na diagnostické použitie *in vitro* a profesionálnymi používateľmi, ako sú technici a lekári vyškolení v technikách molekulárnej biológie.

## Zamýšľaný používateľ

Táto súprava je určená na profesionálne použitie.

Výrobok smú používať iba pracovníci špeciálne poučení a vyškolení v technikách molekulárnej biológie, ktorí sú oboznámení s touto technológiou.

# Popis a princíp

## Súhrn a vysvetlenie

Cirkulujúca bezbunková DNA (ccfDNA) je v plazme prítomná zvyčajne ako krátke fragmenty (< 1000 bp). Koncentrácia ccfDNA v plazme je zvyčajne nízka (môže byť v rozsahu 1 až 100 ng/ml) a medzi jednotlivými ľuďmi výrazne kolíše. Skúmavka PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube s označením CE predstavuje v kombinácii so súpravou QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit štandardizovaný postup prác pri odbere, uchovávaní a preprave krvi, stabilizácii DNA v uzavretej skúmavke a následnej izolácii ccfDNA a jej purifikácii z ľudskej plazmy pomocou prístroja QIAGEN® QIASymphony SP.

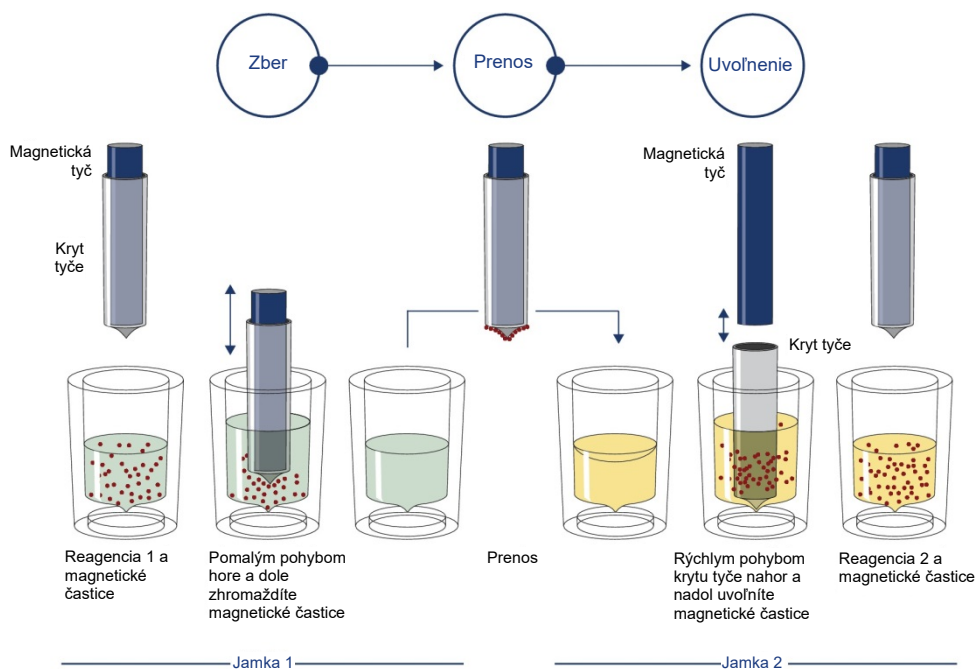
Na extrakciu ccfDNA z 2,4 a 4,8 ml plazmy generovanej zo skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube dvojitým odstredením sú na prístroji QIASymphony SP uvedené protokoly. Plazma sa preniesie v sekundárnej skúmavke a spracuje sa v prístroji QIASymphony SP.

Alternatívne sú v prístroji QIASymphony SP k dispozícii protokoly na manipuláciu s primárnymi skúmavkami pre vstupný objem plazmy 2,4 a 4 ml. V takom prípade nie je potrebný druhý krok odstredovania alebo prenos plazmy do sekundárnej skúmavky.

Technológia magnetických častíc súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit umožňuje purifikáciu vysokokvalitnej ccfDNA bez obsahu proteínov, nukleáz a iných nečistôt. Prístroj QIASymphony SP vykonáva všetky kroky procedúry purifikácie. V jednom cykle sa spracuje až 96 vzoriek v dávkach po 24 kusov. Na izolovanie genómovej DNA (gDNA) z naočkovanej bunkovej frakcie krvi odobratej do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube v prístroji QIASymphony SP si pozrite pokyny uvedené v návode na použitie skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube ([www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com)).

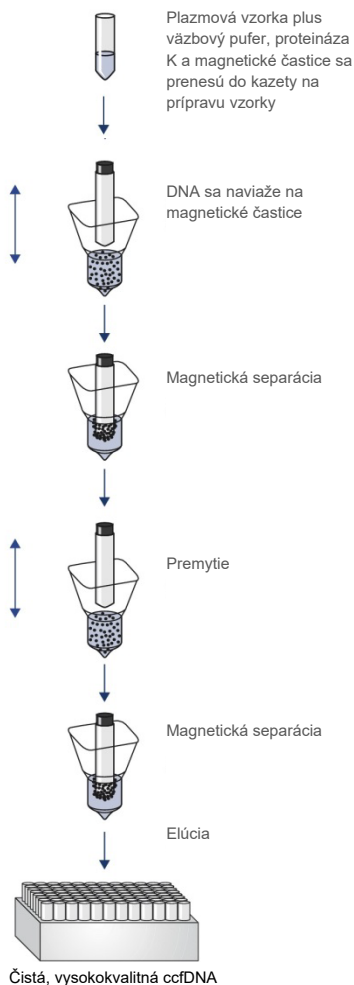
# Princípy postupu

Technológia prístroja QIASymphony SP kombinuje rýchlosť a účinnosť purifikácie nukleových kyselín na báze výmeny aniónov s pohodlnou manipuláciou s magnetickými časticami (obrázok 1). Postup purifikácie je navrhnutý tak, aby zabezpečil bezpečnú a reprodukovateľnú manipuláciu s potenciálne infekčnými vzorkami, a zahŕňa 3 kroky: viazanie, premytie a elúcia (obrázok 2). Používatelia si môžu zvoliť medzi rôznymi vstupnými objemami.



**Obrázok 1. Schematický náčrt princípu prístroja QIASymphony SP.** Prístroj QIASymphony SP spracuje vzorku s obsahom magnetických častíc nasledujúcim spôsobom: magnetická tyč chránená krytom prejde do jamky obsahujúcej vzorku a priťahne magnetické častice. Kryt magnetickej tyče sa umiestni nad ďalšiu jamku a magnetické častice sa uvoľnia. Tieto kroky sa počas spracovania vzorky niekoľkokrát zopakujú. Prístroj QIASymphony SP používa magneticú hlavicu so súpravou 24 magneticých tyčí a môže preto súčasne spracovávať až 24 vzoriek.

## Súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



**Obrázok 2. Kroky na extrakciu ccfDNA so súpravou QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit.** Fragments ccfDNA sa izolujú z plazmy vytvorenej z neupravenej venóznej ľudskej krvi odobratej do skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube. Počas prvého kroku spracovania sú proteíny plazmy natrávené proteinázou K a ccfDNA sa naviaže na povrch magnetických častíc. Tri kroky premývania zaručujú, že sa odstráni nečistoty. ccfDNA sa eluuje z magnetických častí a je pripravená na použitie v následných aplikáciách.



# Dodávané materiály

## Obsah súpravy

Súprava OIA Symphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) Katalógové č. Počet reakcií		(192) 768566 192		
Skratka	Identita	Množstvo	Aktívne zložky	Koncentrácia [%]**
RC	Reagent cartridge (Reagenčná kazeta)*†	2	Neiónový čistiaci prostriedok Magnetické častice s výmenou aniónov NaOH Etanol	≥ 0,5 – < 10 [w/w] – ≥ 0,05 – < 0,1 [w/w] ≥ 70 – < 90 [v/v]
PROTK	Proteinase K (Proteináza K)†	5 × 10 ml	Proteináza K	≥ 1 – < 3 [w/w]
PL	Piercing lid (Dierovacie viečko)	2	–	–
RSS	Reuse Seal Set† (Súprava tesnení na opakované použitie)	2	–	–
	Elution Microtubes CL (Elučné mikroskúmavky CL), v stojane#	2	–	–
	Caps for Elution Microtubes (Uzávery na elučné mikroskúmavky)#	1 × (55 × 8)	–	–
	Instructions for Use (Handbook) (Návod na použitie (Príručka))	1	–	–
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	–	–

\* Obsahuje azid sodný ako konzervačnú látku.

† Pozri stranu 36 so zoznamom symbolov a definícií.

‡ Súprava Reuse Seal Set obsahuje 8 tesniacich pásov na opakované použitie.

# K dispozícii aj samostatne, pozrite si Informácie o objednávaní.

\*\* Maximálna koncentrácia v jednej jamke.

## Požadované materiály, ktoré sa nedodávajú

Pri práci s chemikáliami a biologickými vzorkami vždy dodržiavajte všeobecné bezpečnostné opatrenia a používajte vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare v súlade so zásadami a postupmi vášho zariadenia. Viac informácií nájdete na príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ), ktoré sú k dispozícii u dodávateľa produktov.

Overte, či boli zariadenia skontrolované a kalibrované podľa odporúčaní výrobcu.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, kat. č. 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, kat. č. 997004)
- Filter-Tips, 200 µl a 1500 µl (QIAGEN, kat. č. jednotlivo 990332 a 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, kat. č. 9013395)
- Skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) (PreAnalytiX, kat. č. 768165)
- Skúmavky na vzorky. Kompatibilné primárne a sekundárne formáty skúmaviek nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza na kartách Product Resources (Zdroje produktov) a na kartách Resources (Zdroje) na stránkach produktov na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) a [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).
- Kompatibilné formáty elučných skúmaviek nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza na kartách Product Resources (Zdroje produktov) a na kartách Resources (Zdroje) na produktových stránkach na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) a [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

## Zariadenie\*

- Pipeta (5 ml)
- Prístroj QIASymphony SP (QIAGEN, kat. č. 9001297)

\*Pred použitím zabezpečte, aby sa prístroje skontrolovali a nakalibrovali podľa odporúčaní výrobcu.

# Varovania a preventívne opatrenia

Na diagnostické použitie in-vitro.

Pred použitím súpravy si dôkladne prečítajte všetky pokyny.

Zákazníci v Európskej únii musia zobrať na vedomie, že môžu byť požiadaní, aby nahlásili výrobcovi a kompetentnému orgánu v členskom štáte, ku ktorému používateľ a/alebo pacient prináleží, vážne incidenty, ktoré vznikli v súvislosti s pomôckou.

## Bezpečnostné informácie

Pri práci s chemikáliami a biologickými vzorkami vždy dodržiavajte všeobecné bezpečnostné opatrenia a používajte vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare v súlade so zásadami a postupmi vášho zariadenia. Ďalšie informácie nájdete v príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ). Tieto materiály sú k dispozícii online vo formáte PDF na adrese [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), kde môžete vyhľadať, zobraziť a vytlačiť KBÚ pre každú súpravu PreAnalytiX a jej súčasti.

- Všetky chemikálie a biologické materiály sú potenciálne nebezpečné. Vzorky krvi sú potenciálne infekčné a musí sa s nimi zaobchádzať ako s biologicky nebezpečnými materiálmi.
- Biologicky nebezpečné materiály a odpad zo súprav likvidujte podľa miestnych bezpečnostných postupov.

## Informácie pre prípad núdze

CHEMTREC

USA a Kanada 1-800-424-9300

Mimo USA a Kanady +1 703-527-3887

## Preventívne opatrenia

Pufre v reagenčnej kazete (Reagent Cartridge, RC) obsahujú azid sodný. Ak dôjde k rozliatiu pufrov súpravy, vyčistíte ho vhodným laboratórnym čistiacim prostriedkom a vodou. Ak rozliata kvapalina obsahuje potenciálne infekčné činidlá, vyčistíte postihnuté miesto najskôr laboratórnym čistiacim prostriedkom a vodou a potom 1 % (v/v) chlórnanom sodným (bielidlo).

Na súčasti QIASymphony súpravy PAXgene Blood ccfDNA Kit sa vzťahujú nasledujúce bezpečnostné vyhlásenia a preventívne opatrenia.

### MBS3

Obsahuje: Azid sodný. Varovanie! Môže byť škodlivý pri požití. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

### Proteinase K



Obsahuje: Proteinázu K. Nebezpečenstvo! Spôsobuje mierne podráždenie pokožky. Pri vdýchnutí môže vyvolať alergiu alebo príznaky astmy alebo dýchacie ťažkosti. Vyhňte sa vdychovaniu prachu/dymu/plynu/oparu/pár/aerosólov. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. Používajte respiračnú ochranu. Po expozícii alebo podozrení z nej: Volajte Národné toxikologické informačné centrum alebo lekára. Preneste postihnutého na čerstvý vzduch a ponechajte ho v pokoji v polohe pohodlnej na dýchanie.

## QSE2



Obsahuje: hydroxid sodný. Nebezpečenstvo! Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. Obsah/obal zlikvidujte v schválenom zariadení na zber a likvidáciu odpadov. **Po zasiahnutí očí:** Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. **Pri kontakte s pokožkou (alebo vlasmi):** Všetky kontaminované časti odevu okamžite odstráňte/vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou/sprchou. Okamžite volajte Národné toxikologické informačné centrum alebo lekára. Uchovávajte uzamknuté. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

## QSW9



Obsahuje: etanol. Nebezpečenstvo! Veľmi horľavá kvapalina a výpary. Spôsobuje závažné podráždenie očí. Uchovávajte mimo dosahu tepla/iskier/otvoreného ohňa/horúcich povrchov. Nefajčte. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

# Skladovanie a manipulácia s reagensiami

Súpravu QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit skladujte vzpriamene pri izbovej teplote (15 – 25 °C). Magnetické častice v reagenčných kazetách (Reagent Cartridge, RC) zostávajú aktívne, keď sa skladujú v tomto teplotnom rozsahu.

**Poznámka:** Štítko na škatuli súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit zobrazuje dátum expirácie súpravy. Dátum expirácie platí pre reagenčnú kazetu.

Súpravu QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit nepoužívajte po dátume expirácie.

## Komponenty súpravy

Súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit obsahuje roztok proteínázy K pripravený na použitie, ktorý je možné skladovať pri izbovej teplote (15 – 25 °C).

Reagenčné kazety (Reagent Cartridge, RC) neskladujte pri teplotách nižších ako 15 °C.

Otvorené reagenčné kazety súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit je možné skladovať pri izbovej teplote (15 – 25 °C) maximálne 4 týždne, čo umožňuje cenovo efektívne opätovné využívanie reagensií a flexibilnejšie spracovanie vzoriek, ak sú po použití znova riadne uzavreté. Ak je RC čiastočne použitá, nasadte späť kryt vaničky obsahujúcej magnetické častice a utesnite RC dodanými tesniacimi prúžkami na opätovné použitie Reuse Seal Strips ihneď po ukončení spracovania protokolu, aby nedošlo k odpareniu.

Aby sa zabránilo odparovaniu reagensie, RC by mala byť otvorená maximálne 15 hodín (vrátane časov spracovania) pri maximálnej teplote prostredia 32 °C. Nesprávne skladovanie častí súpravy môže viesť k rýchlejšiemu starnutiu pufrov.

Spracovanie šarží s nízkym počtom vzoriek (< 24) zvýši čas otvorenia RC aj požadované objemy pufra, čo potenciálne zníži celkový možný počet príprav vzoriek na kazetu.

Zabráňte vystaveniu RC UV žiareniu (napr. použitie na dekontamináciu), pretože vystavenie môže spôsobiť zrýchlené starnutie RC a pufrov.

Pozornosť by sa mala venovať dátumom expirácie a podmienkam skladovania vytlačeným na škatuli a štítkoch všetkých komponentov. Nepoužívajte exspirované alebo nesprávne skladované komponenty.

# Odber a príprava vzoriek

Postup purifikácie je optimalizovaný na použitie s plazmou z krvi odobratej do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube. Informácie o odbere krvi, manipulácii s týmito skúmavkami a príprave plazmy si pozrite v návode na použitie skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube, ktorý nájdete na kartách Product Resources (Zdroje produktov) a na kartách Resources (Zdroje) na produktových stránkach na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) a [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

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 x g (prvé odstredenie) 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 tak, že ju trikrát prevrátite, a nechajte skúmavky pred spracovaním zohriať na izbovú teplotu.

2. Pipetujte plazmu do skúmavky na odstredovanie s kužeľovým dnom s objemom 15 ml (nie je súčasťou dodávky), pričom dávajte pozor, aby ste nenarušili naočkovanú bunkovú frakciu.



3. Odstreďujte skúmavku s kužeľovým dnom s objemom 15 ml pri izbovej teplote (15 – 25 °C) v trvaní 10 minút pri rýchlosti 1600 – 3000 x g (druhé odstredenie) použitím vyváženej odstredivky.

**Poznámka:** Neprekračujte maximálnu rýchlosť odstredovania odporúčanú výrobcom sekundárnych skúmaviek.

4. Pipetujte požadovaný objem plazmy (pozrite si časť „Objem vzorky“ na strane 20) 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 ich povrchu. 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. Na 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 °C alebo –80 °C) by sa tieto vzorky mali pred spustením cyklu homogenizovať na izbovú teplotu (15 – 25 °C), informácie o zmrazených vzorkách nájdete v časti „C) Zmrazenie a rozmrazenie plazmových vzoriek spracovaných zo skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube“.

## B) Príprava plazmy z krvi pre manipuláciu s primárnymi skúmavkami v prístroji QIASymphony SP

1. Odstreďujte skúmavku PAXgene Blood ccfDNA Tube pri izbovej teplote (15 – 25 °C) v trvaní 15 minút pri rýchlosti 3 000 × 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 tak, že ju trikrát prevrátite, 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 3). 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.

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

**Poznámka:** Pred umiestnením skúmavky do prístroja skontrolujte jasné oddelenie.

3. Odstráňte uzáver Hemogard zo skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube pred umiestnením do prístroja QIASymphony SP na priamu extrakciu ccfDNA.

**Poznámka:** Odstránenie uzáveru skúmavky a manipuláciu s otvorenými skúmavkami je potrebné vykonávať opatrne, aby sa znížilo prípadné riziko rozliatia vzorky, krížovej kontaminácie medzi skúmavkami a expozície krvi.

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.

**C) Zmrazenie a rozmrazenie plazmových vzoriek spracovaných zo skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube**

1. Na zmrazenie preneste plazmu do vhodných skúmaviek (napr. kryoskúmavky) umiestnených v príslušnom stojane.
2. Zmrazte a uskladnite plazmu pri teplote  $-20^{\circ}\text{C}$ . V prípade uskladnenia pri teplote  $-20^{\circ}\text{C}$ , zmrazte plazmové vzorky najprv pri teplote  $-20^{\circ}\text{C}$  v priebehu 24 hodín, potom ju preneste do teploty  $-80^{\circ}\text{C}$ .

3. Plazmu rozmrazte pri teplote ( $15 - 25^{\circ}\text{C}$ )

**Poznámka:** Nerozmrazujte pri nízkych teplotách (napr.  $4^{\circ}\text{C}$ )

4. Ak sa v plazme vytvoria kryozrazeniny, po rozpustení rozvrite skúmavku na 30 s a použite vzorku na postup izolácie ccfDNA v prístroji QIASymphony SP bez ďalšej úpravy.

**Poznámka:** Na odstránenie kryozrazenín sa neodporúča odstreďovať plazmu, pretože môžu obsahovať ccfDNA.

**Poznámka:** Aby ste sa vyhlí vytvoreniu kryozrazenín, je možné rozmraziť plazmu pri teplote  $30^{\circ}\text{C}$  v priebehu 30 min namiesto rozmrazovania pri izbovej teplote.

# Postup

## Prehľad: Automatizovaná purifikácia ccfDNA na prístroji QIASymphony SP

Vďaka prístroju QIASymphony SP je automatizovaná príprava vzoriek ľahká a pohodlná. Vzorky, reagensy a spotrebný materiál a eluáty sú oddelené do rôznych zásuviek. Pred cyklom jednoducho vložte vzorky, reagensy dodané v špeciálnych kazetách a vopred zabalený spotrebný materiál do príslušnej zásuvky. Spustíte protokol a po spracovaní odstráňte purifikovanú ccfDNA zo zásuvky „Eluate“ (Eluát). Pokyny na obsluhu nájdete v používateľských príručkách dodaných s prístrojom.

**Poznámka:** Voliteľná údržba nie je pre funkciu prístroja povinná, ale dôrazne sa odporúča, aby sa znížilo riziko kontaminácie.

### Objem vzorky

Na zaistenie toho, že pri bežnom pracovnom postupe sa 2,4 ml (protokol PAXcircDNA\_2400) a 4,8 ml vzorky (protokol PAXcircDNA\_4800) preniesu 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 funkcia protokolu automaticky prenos nižších objemov plazmy, ako je uvedené. V takomto prípade sa pomocou prístroja preniesu menej vzorky. Rozdiel napipetovaného objemu plazmy sa zaznamená v súbore 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 a 4,1 ml. 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 (popísaný v časti „Príprava materiálu vzorky“ na strane 24).

## Naloženie RC do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál)

Reagencie na purifikáciu ccfDNA sa nachádzajú v inovatívnej reagenčnej kazete (Reagent Cartridge, RC)(obrázok 3). Každá vanička RC obsahuje konkrétnu reagenziu, ako sú magnetické častice, viazací pufer, premývací pufer alebo elučný pufer. Čiastočne použité RC je možné opätovne uzavrieť tesniacimi pásikmi Reuse Seal Strips na neskoršie opätovné použitie, čím sa zabráni tvorbe odpadu v dôsledku zvyškov reagenzií na konci procesu purifikácie.



Obrázok 3. Reagenčná kazeta QIAAsymphony (Reagent Cartridge, RC). RC obsahuje všetky reagenzie potrebné na spracovanie protokolu.

Pred začatím postupu sa uistite, že magnetické častice sú úplne resuspendované. Vyberte vaničku s magnetickými časticami z rámu RC, intenzívne ho vírivo pretrepávajte najmenej 3 min a pred prvým použitím ho vložte späť do rámu RC.

**Poznámka:** Magnetické častice môžu zmeniť farbu. Toto nemá žiadny vplyv na ich vlastnosti.

RC hneď vložte do držiaka RC. Pred prvým použitím RC položte dierovacie viečko na vrch RC (obrázok 3).

**Poznámka:** Dierovacie viečko je ostré. Buďte opatrní, keď ho ukladáte na RC. Uistite sa, že ste dierovacie viečko nasadili na RC v správnej polohe.

Po odobratí krytu vaničky s magnetickými časticami sa RC následne vloží do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál).

Čiastočne použité RC je možné skladovať, kým ich opäť nebudete potrebovať (pozrite si „Skladovanie a manipulácia s reagenciami“ na strane 14).

**Poznámka:** Je potrebné pridať proteínázu K (pozrite si „Postup, ktorý sa má vykonať pred začatím“ na strane 26).

**Poznámka:** Uistite sa, že RC, vaničky s magnetickými časticami a fľaše s proteínázou K sa nezamenia medzi rôznymi šaržami súpravy.

## Naloženie plastového vybavenia do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál)

Kazety na prípravu vzoriek, kryty 8-Rod Covers (obidve vopred zabalené v jednotkových nádobách) a jednorazové filtračné špičky (200 µl špičky dodávané v modrých zásobníkoch, 1500 µl špičky dodávané v čiernych zásobníkoch) sú vložené do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál).

**Poznámka:** Pred naložením jednotkových nádob do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál) sa uistite, že sú odstránené kryty jednotkových nádob.

**Poznámka:** Špičky majú filtre, ktoré zabraňujú krížovej kontaminácii.

Sloty na stojany na špičky na pracovnom stole prístroja QIASymphony SP je možné naplniť ktorýmkoľvek typom stojanu na špičky. Prístroj QIASymphony SP identifikuje typ špičiek načítaných počas skenovania inventáru.

**Poznámka:** Pred začatím ďalšieho protokolu znovu nenapíňajte stojany na špičky alebo jednotkové nádoby pre kazety na prípravu vzoriek alebo kryty 8-Rod Covers. Prístroj QIASymphony SP môže používať čiastočne použité stojany na špičky a jednotkové nádoby.

Informácie o objednávaní plastového vybavenia nájdete na strane 39.

## Naloženie zásuvky „Waste“ (Odpad)

Kazety na prípravu vzoriek a kryty 8-Rod Covers použité počas spracovania sú opätovne uložené v prázdnych jednotkových nádobách v zásuvke „Waste“ (Odpad). Uistite sa, že zásuvka „Waste“ (Odpad) obsahuje dostatok prázdnych jednotkových nádob pre plastový odpad generovaný počas spracovania protokolu.

**Poznámka:** Pred naložením jednotkových nádob do zásuvky „Waste“ (Odpad) sa ubezpečte, že sú odstránené kryty jednotkových nádob. Ak používate boxy krytu 8-Rod Cover na zber použitých kaziet na prípravu vzoriek a kryty 8-Rod Covers, skontrolujte, či bola odstránená dištančná vložka boxu.

Vrečko na likvidáciu špičiek s filtrom musia byť pripojené k prednej strane zásuvky „Waste“ (Odpad).

**Poznámka:** Prítomnosť vrečka na likvidáciu špičiek systém nekontroluje. Pred spustením spracovania protokolu sa uistite, že vrečko na likvidáciu špičiek je správne pripevnené. Ďalšie informácie nájdete v príručkách používateľa dodaných s prístrojom. Po spracovaní maximálne 96 vzoriek vrečko so špičkami vyprázdňte, aby nedošlo k zaseknutiu špičiek.

Odpadová nádoba zhromažďuje kvapalný odpad vznikajúci počas procesu purifikácie. Zásuvku „Waste“ (Odpad) je možné zatvoriť len vtedy, ak je zásobník na odpad na svojom mieste. Kvapalný odpad likvidujte podľa miestnych predpisov o bezpečnosti a ochrane životného prostredia. Naplnenú fľašu na odpad nesterilizujte v autokláve. Po spracovaní maximálne 96 vzoriek vyprázdňte fľašu na odpad.

## Naloženie zásuvky „Eluate“ (Eluát)

Naložte požadovaný elučný stojan do zásuvky „Eluate“ (Eluát). Pretože dlhodobé skladovanie eluátov v zásuvke „Eluate“ (Eluát) môže viesť k odparovaniu eluátov, musí sa používať chladiaca poloha. Používajte len „Elution slot 1“ (Blok na elúcie 1) s príslušným chladiacim adaptérom.

Zvolený elučný objem (μl)*	Počiatkový elučný objem (μl) <sup>†</sup>
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 maximálne 5 μl.

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

## Skenovanie inventáru

Pred spustením spracovania prístroj skontroluje, či bol do príslušných zásuviek vložený dostatočný spotrebný materiál pre dávku(y) v poradí.

## Príprava materiálu vzorky

Pozri časť „Odber a príprava vzoriek“, strana 16.

## Uchovávanie ccfDNA

Po príprave vzorky je možné eluáty ccfDNA uskladniť pri teplote -20 alebo -80 °C. Zmrazené eluáty by sa nemali rozmraziť viac ako trikrát. Najaktuálnejšie informácie o stabilite ccfDNA v eluátoch nájdete na produktovej stránke na adrese **www.qiagen.com** alebo **www.PreAnalytiX.com**.



# Prehľad protokolu

Tabuľka 1. Prehľad protokolu

Vzorka	Spracovanie skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube	Vstupný objem vzorky (vrátane prázdneho objemu) (ml)	Objem vzorky použitý na extrakciu ccfDNA (ml)	Elučný objem (µl)	Protokol prístroja QIASymphony SP
Plazma vytvorená z neupravenej venózneho plnej krvi odobratej do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube	2x odstredenie, prenos plazmy do sekundárnej skúmavky	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	1x odstredenie, priame spracovanie na prístroji QIASymphony SP	Podľa zvoleného nástroja	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

## Dôležité body pred začatím činnosti

- Počas práce s chemikáliami a biologickými vzorkami noste vždy vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare. Ďalšie informácie nájdete v príslušných kartách bezpečnostných údajov.
- Uistite sa, že ste oboznámení s ovládaním prístroja QIASymphony SP. Pokyny na obsluhu nájdete v používateľských príručkách dodaných s prístrojom.

**Poznámka:** Požadovaná konfigurácia softvéru na IVD použitie je **predvolený profil 1**.

- Pred začatím spracovania si prečítajte časť „Princípy postupu“.
- Uistite sa, že ste oboznámení s listom protokolu a zoznamom laboratórneho vybavenia (môžete ich nájsť na karte Product Resources (Zdroje produktov) a na kartách Resources (Zdroje) na produktových stránkach na adrese **www.qiagen.com** a **www.PreAnalytiX.com**).
- Snažte sa zabrániť intenzívnemu pretrepávaniu RC, inak by mohlo dôjsť k tvorbe peny, ktorá môže viesť k problémom s detekciou hladiny kvapaliny.

- Krv je potrebné odobrať do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; PreAnalytiX, kat. č. 768165). Pokyny o odbere krvi a manipulácii s ňou a o spracovaní plazmy nájdete v návode na použitie skúmaviek uvedenom na karte Product Resources (Zdroje produktov) a na karte Resources (Zdroje) na produktovej stránke **www.qiagen.com** alebo **www.PreAnalytiX.com**.

## Postup, ktorý sa má vykonať pred začatím

- Pred začatím postupu sa uistite, že magnetické častice sú úplne resuspendované. Pred prvým použitím intenzívne vírivo premiešavajte vaničku obsahujúcu magnetické častice najmenej 3 min.
- Uistite sa, že dierovacie viečko nasadené na RC a viečko vaničky na magnetické častice boli odstránené, alebo ak používate čiastočne použitú RC, skontrolujte, či tesniace pásky na opakované použitie boli odstránené.
- Proteináza K nie je zahrnutá do RC, ale musí ju zabezpečiť používateľ (zásuvka na vzorky, slot A, poloha 1 a/alebo 2). Uistite sa, že máte k dispozícii správny objem proteinázy K.

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

Počet vzoriek	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400* (µl)	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* (µl)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11660 <sup>†</sup>
96	11660 <sup>†</sup>	23320 <sup>†</sup>

\* Pre každú vzorku sa vyžaduje 110 µl (pre 2400 µl plazmy) alebo 220 µl (pre 4800/4000 µl plazmy) plus dodatočný prázdny objem 1100 µl [(n x 110 alebo 220 µl) + 1100 µl].

<sup>†</sup> Ak sa vyžaduje viac ako 11 660 µl, použite druhú skúmavku (Corning, kat. č. 352051). Pre druhú skúmavku sa vyžaduje dodatočný prázdny objem 1100 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 objemom 14 ml, 17 × 100 mm, s okrúhlym dnom (Corning, kat. č. 352051).

- Ak sú vzorky označené čiarovým kódom, orientujte vzorky v držiaku skúmaviek tak, aby boli čiarové kódy otočené smerom k čítačke čiarových kódov na ľavej strane prístroja QIASymphony SP.
- Informácie o skúmavkách na vzorky a minimálnych objemoch vzoriek kompatibilných s protokolmi nájdete v príslušnom zozname laboratórneho vybavenia, ktorý nájdete na kartách Product Resource (Zdroje produktov) a na kartách Resources (Zdroje) na produktových stránkach na adrese **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)** a **[www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com)**.

## Protokol: Automatizovaná purifikácia ccfDNA na prístroji QIASymphony SP

Detailné informácie pre každý protokol vrátane objemov a skúmaviek sú uvedené v protokolovom liste a zozname laboratórneho vybavenia na kartách Product Resource (Zdroje produktov) a na kartách Resources (Zdroje) na produktových stránkach na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) a [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com). Informácie o príprave materiálu vzoriek (plazma vytvorená z neupravenej ľudskej venóznej plnej krvi odobratej do skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube) si pozrite v časti „Odber a príprava vzoriek“ a „Príprava materiálu vzorky“ v tejto príručke ako aj v návode na použitie skúmaviek, ktorý nájdete na karte Product Resources (Zdroje produktov) a na karte Resources (Zdroje) na produktovej stránke na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) alebo [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

1. Zatvorte všetky zásuvky a kryt.
2. ZAPNITE prístroj QIASymphony SP a počkajte, kým sa zobrazí obrazovka Sample Preparation (Príprava vzorky) a kým sa inicializačný postup neskončí.
3. Vypínač sa nachádza v ľavom dolnom rohu prístroja QIASymphony SP.
4. Prihláste sa do prístroja.

Naložte požadovaný elučný stojan do zásuvky „Eluate“ (Eluát).

Nevkladajte 96-jamkovú platničku do „Elution slot 4“ (Blok na elúcie 4). Musí sa použiť „Elution slot 1“ (Blok na elúcie 1) s príslušným chladiacim adaptérom.

Pri použití 96-jamkovej doštičky sa uistite, že je správne orientovaná, pretože nesprávne umiestnenie môže spôsobiť zámenu vzoriek pri následnej analýze.

Ak používate stojan Elution Microtubes CL, odstráňte spodok otočením stojana, kým sa spodná časť neoddelí.

5. Uistite sa, že zásuvka „Waste“ (Odpad) je správne pripravená a vykonajte kontrolu zásob zásuvky „Waste“ (Odpad) vrátane žľabu na špičky, stanice na odkladanie špičiek, prázdnej nádoby na tekutý odpad a prázdnych jednotkových nádob. V prípade potreby vymeňte vrečko na likvidáciu špičiek.

6. Naložte požadovanú(-é) RC a spotrebný materiál do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál).
7. Vykonajte skenovanie inventáru zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál).
8. Vložte vzorky do príslušného nosiča vzoriek a vložte ich do zásuvky „Sample“ (Vzorka).

**Poznámka:** Okrem bežného spracovania vrátane prenosu plazmy do vhodnej sekundárnej skúmavky (14 ml polystyrénová skúmavka s okrúhlym dnom Falcon® 17 × 100 mm) umiestnenej do vhodného nosiča vzoriek umožňuje pracovný postup manipulácie so skúmavkou PAXgene Blood ccfDNA Tube extrakciu ccfDNA priamo zo skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (10 ml skúmavka PAXgene Blood ccfDNA Tube, 16 × 100 mm). Ďalšie informácie o manipulácii s primárnou skúmavkou nájdete v liste protokolu, zozname laboratórneho vybavenia a v návode na použitie skúmaviek, ktoré sú uvedené na karte Product Resources (Zdroje produktov) a na karte Resources (Zdroje) na produktovej stránke na adrese **www.qiagen.com** alebo **www.PreAnalytiX.com**.

9. Pomocou dotykovej obrazovky zadajte požadované informácie pre každú dávku vzoriek a pre proteínázu K, ktoré majú byť spracované.

Zadajte nasledujúce informácie:

- Informácie o vzorke (v závislosti od použitých stojanov na vzorky vyberte BD #352051 FalconPP 17 × 100 alebo BD\_#768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100)
- Protokol, ktorý sa má spustiť („Súbor kontroly testu“)
- Elučný objem a výstupná poloha

Po zadaní informácií o dávke sa stav zmení z „LOADED“ (VLOŽENÝ) na „QUEUED“ (ZARADENÝ). Po zaradení jednej dávky sa objaví tlačidlo „Run“ (Spracovať).

10. Vložte proteínázu K do príslušného nosiča na vzorky do polohy 1 a 2 a vložte ich do slotu A zásuvky „Sample“ (Vzorka).
11. Proteínázu K definujte stlačením tlačidla **IC**.

12. Stlačením tlačidla „Run“ (Spracovať) spustíte postup purifikácie. Všetky kroky spracovania sú plne automatizované. Na konci spracovania protokolu sa stav dávkový zmení z „RUNNING“ (SPRACOVANIE) na „COMPLETED“ (DOKONČENÉ).
13. Vyberte elučný stojan obsahujúci purifikovanú ccfDNA zo zásuvky „Eluate“ (Eluát). Softvérom prístroja QIASymphony SP potvrdíte odstránenie elučného stojana.
14. ccfDNA je pripravená na použitie alebo sa môže uskladniť na najviac 6 mesiacov pri teplote  $-20^{\circ}\text{C}$  alebo  $-80^{\circ}\text{C}$ . Spoločnosť QIAGEN odporúča vybrať eluátovú doštičku zo zásuvky „Eluate“ (Eluát) ihneď po ukončení cyklu. V závislosti od teploty a vlhkosti môžu elučné doštičky, ktoré zostanú v prístroji QIASymphony SP po dokončení cyklu, podliehať kondenzácii alebo odparovaniu.

**Poznámka:** V priebehu nočných cyklov je možné použiť funkciu chladenia prístroja QIASymphony SP.

Vo všeobecnosti sa magnetické častice neprenášajú do eluátov. Ak dôjde k prenosu, neovplyvnia magnetické častice v eluátoch väčšinu následných aplikácií.

Ak sa musia magnetické častice pred vykonaním následných aplikácií odstrániť, musia sa najprv skúmavky, alebo platničky obsahujúce eluáty umiestniť na vhodný magnet a eluáty sa prenesú do čistej skúmavky (pozrite si časť „Príloha: Kvantifikácia ccfDNA“). Súbory s výsledkami sa generujú pre každú elučnú platničku.

15. Ak je RC použitá iba čiastočne, utesnite ju dodanými tesniacimi pásikmi na opakované použitie po skončení spracovania protokolu, aby nedošlo k odpareniu.

**Poznámka:** Ďalšie informácie o skladovaní čiastočne použitých RC nájdete v časti „Skladovanie a manipulácia s reagensmi“.

16. Použitú skúmavku a odpad likvidujte podľa miestnych bezpečnostných predpisov. Bezpečnostné informácie nájdete v časti „Varovania a preventívne opatrenia“.

17. Vyčistite prístroj QIASymphony SP.

Postupujte podľa pokynov na údržbu uvedených v používateľských príručkách dodávaných s prístrojom. Nezabudnite pravidelne čistiť kryty hrotov, aby ste minimalizovali riziko krížovej kontaminácie.

18. Zatvorte zásuvky prístroja QIASymphony SP a vypnite ho.

# Kontrola kvality

V súlade s certifikovaným systémom riadenia kvality QIAGEN ISO je každá šarža súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit testovaná na základe vopred určených špecifikácií, aby bola zaistená konzistentná kvalita produktu.

## Obmedzenia

Výkonnosť systému bola stanovená v štúdiách hodnotenia výkonnosti pri purifikovaní ccfDNA z plazmy vytvorenej z neupravenej venózne ľudskej plnej krvi odobratej do skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube.

Charakteristiky výkonnosti súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit boli stanovené s fragmentmi ribozomálnej 18S a DYS14 Y-chromozomálnej ccfDNA v plazme.

Používateľ je zodpovedný za overenie výkonnosti systému pre všetky postupy používané v jeho laboratóriu, na ktoré sa nevzťahujú hodnotiace štúdie výkonnosti QIAGEN a PreAnalytiX.

Aby sa minimalizovalo riziko negatívneho vplyvu na diagnostické výsledky, mali by sa použiť adekvátne kontroly pre následné aplikácie. Všetky získané diagnostické výsledky sa musia interpretovať v spojení s inými klinickými alebo laboratórnymi nálezmi.



# Sprievodca riešením problémov

Tento sprievodca riešením problémov môže byť užitočný pri riešení akýchkoľvek problémov, ktoré môžu nastať. Kontaktné informácie a zoznam najčastejších otázok nájdete na príslušných produktových stránkach na adrese [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com) alebo [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Komentáre a návrhy	
<b>Všeobecná manipulácia</b>	
a) Chybové hlásenie zobrazené na dotykovej obrazovke	Ak sa počas chodu protokolu zobrazí chybové hlásenie, pozrite si používateľské príručky dodávané s prístrojom.
b) Rôzny objem eluátu po nočných cykloch	Na optimalizáciu priepustnosti podporuje súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit spracovanie vzoriek cez noc schladením eluátov v prístroji QIASymphony SP. V priebehu dlhých období chladenia sa objemy eluátu môžu zmeniť v závislosti od teploty a vlhkosti v laboratóriu. Ak bol zvolený objem napríklad 60 µl pri teplote 15 – 25 °C a vlhkosti 30 – 60 %, môže sa objem po 12-hodinovom skladovaní v prístroji pohybovať v rozsahu 50 – 85 µl.
<b>Kryozrazeniny po rozmrazení plazmových vzoriek</b>	
a) V plazme sa tvoria kryozrazeniny	Aby ste sa vyhli vytvoreniu kryozrazenín, je možné rozmraziť plazmu pri teplote 30 °C v priebehu 30 min namiesto rozmrazovania pri izbovej teplote. Nerozmrazujte pri nižších teplotách (napr. 4 °C) Skúmavku po rozmrazení vírivo premiešajte po dobu 30 sekúnd
b) Nízky výťažok ccfDNA z plazmy po odstránení kryozrazenín	Na odstránenie kryozrazenín neodstreďujte plazmu, pretože môžu obsahovať ccfDNA.
<b>Nedostatočný objem plazmy zo skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube</b>	
a) Menej ako 10 ml krvi odobranej v skúmavke PAXgene Blood ccfDNA Tube	Zabezpečte odobratie 10 ml krvi do skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube. Pozrite si návod na použitie skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube.
b) Veľká frakcia buniek	Veľká úroveň frakcie buniek (hematokrit) v ľudskej plnej krvi (napr. vyššia ako 51 % u mužov alebo 47 % u žien) môže viesť k zníženému objemu plazmy.
c) Nízky výťažok plazmy po odstredení	Na výťažky plazmy môže mať vplyv dlhšie skladovanie krvi a dlhší čas prepravy, prípadne podmienky odstredovania odlišné od špecifikovaných.

Komentáre a návrhy	
<b>Precipitát vo vaničke otvorenej reagenčnej kazety v súprave QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit</b>	
a) Odparovanie pufru	Nadmerné odparovanie môže viesť k zvýšeniu koncentrácie soli v pufrach. Zlikvidujte RC. Nezabudnite uzavrieť vaničky s puframi čiastočne použitej RC pomocou tesniacich pásov na opakované použitie, ak sa nepoužili na purifikáciu.
b) Skladovanie RC	Skladovanie RC pri teplote nižšej ako 15 °C môže viesť k vzniku precipitátu.
<b>Nízky výťažok ccfDNA</b>	
a) Magnetické častice neboli úplne resuspendované	Pred začatím postupu zaistíte, aby magnetické častice boli úplne resuspendované. Pred použitím vírivo pretrepávajte aspoň 3 minúty. Neúplná resuspendácia môže viesť k chybám pipetovania.
b) Zanesenie hrotu pipety nerozpustným materiálom	Nerozpustný materiál nebol zo vzorky odstránený pred začatím procesu purifikácie v prístroji QIASymphony SP.
c) Materiál vzorky obsahuje nízku koncentráciu ccfDNA.	Pre veľmi nízke množstvá ccfDNA v plazmových vzorkách môže byť meranie koncentrácie ccfDNA náročné v závislosti od použitej kvantifikačnej metódy. Na kontrolu koncentrácie ccfDNA v eluátoch sa odporúča použiť citlivý test qPCR.
d) Neúplne opätovné zatvorenie RC	Výmena s okolitým vzduchom môže viesť k zníženej stabilite pufrów, čo bude mať za následok zníženie účinnosti extrakcie ccfDNA s čiastočne použitou RC. Nezabudnite dôkladne uzavrieť vaničky s puframi čiastočne použitej RC pomocou tesniacich pásov na opakované použitie, ak sa nepoužili na purifikáciu.
<b>Nízka výkonnosť ccfDNA v následných aplikáciách</b>	
a) Eluát koncentrovaný vákuovým odstredením	Eluát nekoncentrujte vákuovým odstredovaním (napr. v prístroji SpeedVac® alebo podobnom prístroji). Môže to viesť k zníženiu kvality z dôvodu vysokých teplôt a koncentrovaných solí v eluáte, ktoré môžu narušiť následné použitia.
b) Prenos guľôčok	Vo všeobecnosti sa magnetické častice neprenášajú do eluátov. Ak dôjde k prenosu, neovplyvnia magnetické častice v eluátoch väčšinu následných aplikácií. Ak sú pre konkrétne následné testy potrebné vysoké podiely eluátov, je možné ich oddeliť odstredením a preniesť do čistej skúmavky.












## Komentáre a návrhy

### Žiadny/neúplný prenos vzorky

a)	Vloží sa nesprávny objem vzorky na štandardné protokoly	Ak sa vloží menší než špecifikovaný objem vzorky, zvyšuje sa riziko nejasného príznaku vzorky alebo neprebehne prenos vzorky (neplatný príznak). Vložte správny objem vzorky podľa popisu v príslušnom liste protokolu a zozname laboratórneho vybavenia.
b)	Bublínky a/alebo pena v skúmavke	Bublínky alebo pena vo vzorke a/alebo vo vstupnej skúmavke na vzorky môže mať za následok nesprávnu detekciu hladiny tekutiny a následne neúplný prenos vzorky. Odstráňte bublínky zo skúmavky.

# Symboly

Nasledujúce symboly sa môžu objaviť v návode na použitie alebo na balení a štítkoch. Ďalšie symboly vysvetľuje Obsah súpravy (strana 9).

Symbol	Definícia symbolu
	Obsahuje reagentie postačujúce pre <N> testov Určuje celkový počet IVD testov, ktoré je možné vykonať s IVD.
	Použite do
	Zdravotnícka diagnostická pomôcka na použitie v podmienkach in vitro
	CE označenie. Tento produkt spĺňa požiadavky Európskeho nariadenia 2017/746 pre in vitro diagnostické zdravotnícke pomôcky.
	Katalógové číslo
	Číslo šarže
	Číslo materiálu (t. j. označenie komponentu)
	Komponenty (t. j. zoznam zahrnutých)
	Obsahuje (obsah)
	Počet (t. j. liekovky, fľaše)
	Identifikátor GTIN (Global Trade Item Number)
R <sub>n</sub>	R označuje revíziu návodu na použitie (príručky) a n je číslo revízie



Teplotné obmedzenia



Výrobca



Prečítajte si návod na použitie



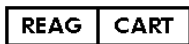
Upozornenie



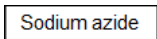
Proteináza K



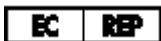
Číslo jamky (t. j. jamka RC)



Reagenčná kazeta



Azid sodný



Európsky autorizovaný zástupca podľa nariadenia (EÚ) 2017/746

## Príloha: Kvantifikácia ccfDNA

Z dôvodu veľmi nízkych koncentrácií ccfDNA v materiáloch vzoriek sa neodporúča merať DNA pomocou spektrofotometra. Na stanovenie koncentrácie ccfDNA by sa mal použiť citlivý a presný kvantitatívny test na báze fluorescencie alebo test real-time PCR.

Ak sa musia odstrániť magnetické častice, vložte skúmavku obsahujúcu DNA do vhodného magnetického separátora (napr. QIAGEN 12-Tube Magnet, kat. č. 36912), kým sa magnetické častice neoddelia.

Ak je DNA v mikrodôštičkách, vložte mikrodôštičku do vhodného magnetického separátora (napr. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, kat. č. 36915), kým sa magnetické častice neoddelia. Ak nie je vhodný magnetický separátor k dispozícii, odstredte skúmavku s DNA na 1 minútu pri plnej rýchlosti v mikrocentrifúge, aby sa všetky zvyšné magnetické častice zgranulovali.

# Informácie o objednávaní

Produkt	Obsah	Kat. č.
<b>PreAnalytiX</b>		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)(192)	Obsahuje 2 RC, skúmavky proteínázy K a príslušenstvo	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)(100)	100 skúmaviek: 16 × 100 mm, 1,5 ml prísady, 10 ml objem odobratej krvi	768165
<b>QIAGEN</b>		
QIASymphony SP instrument	Modul na prípravu vzorky QIASymphony, 1-ročná záruka na diely a prácu	9001297
<b>Súvisiace produkty QIAGEN</b>		
Proteinase K (10 mL)	1 × 10 ml fľaštička	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	Držiak RC na použitie s prístrojmi QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym	Chladiaci adaptér pre 2 ml skúmavky so skrutkovacím uzáverom. Na použitie v zásuvke prístroja QIASymphony SP „Eluate“ (Eluát)	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Chladiaci adaptér pre stojany EMT. Na použitie v zásuvke prístroja QIASymphony SP „Eluate“ (Eluát)	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Chladiaci adaptér pre skúmavky 1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock. Na použitie v zásuvke prístroja QIASymphony SP „Eluate“ (Eluát)	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8-jamkové kazety na prípravu vzoriek na použitie s prístrojom QIASymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	8-tyčkové kryty na použitie s prístrojom QIASymphony SP	997004

Produkt	Obsah	Kat. č.
Filter-Tips, 200 µL (1024)	Jednorazové filtračné hroty, v stojane; (8 × 128). Na použitie s prístrojmi QIAcube® a QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024)	Jednorazové filtračné hroty, v stojane; (8 × 128). Na použitie s prístrojom QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Vrecká na likvidáciu špičiek Tip disposal bags na použitie s prístrojom QIASymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Magnet na separáciu magnetických častíc v skúmavkách 12 × 1,5 ml alebo 2 ml	36912
96-Well Magnet Type A	Magnet na separáciu magnetických častíc v jamkách 96-jamkových platničiek, 2 × 96-jamkové mikrodoštičky FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Súpravy tesnení na opätovné použitie Reuse Seal Set na utesnenie čiastočne použitých RC QIASymphony	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Nesterilné polypropylénové skúmavky (maximálna kapacita 0,85 ml, skladovacia kapacita menej ako 0,7 ml, elučná kapacita 0,4 ml); 2304 v regáloch po 96; obsahuje viečkové pružky	19588
Caps for Elution Microtubes (50 × 8)	Uzávery na elučné mikroskúmavky (50 × 8)	19591
14 mL Falcon Tube	Polystyrénová skúmavka s okrúhlym dnom 17 × 100 mm používaná ako nosič vzoriek pre prístroj QIASymphony SP	Corning, 352051



# História úprav dokumentu

Revízia	Popis
R1, máj 2021	Prvé vydanie
R2, máj 2022	V niektorých výskytoch odstránený výraz „(CE-IVD)“. Aktualizovaná tabuľka obsahu súpravy. Zahnutá stránka <a href="http://www.PreAnalytiX.com">www.PreAnalytiX.com</a> v súvislosti s miestom, kde možno nájsť súvisiace zdroje. V časti Bezpečnostné informácie špecifikované „vzorky“ ako „vzorky krvi“ V časti Bezpečnostné informácie zmenený výraz „Zlikvidujte odpad vzoriek a testov“ na „Zlikvidujte biologicky nebezpečné materiály a odpad zo súprav“. Aktualizované časti „A) Príprava plazmy z krvi pre štandardné protokoly“ a „B) Príprava plazmy z krvi na manipuláciu s primárnymi skúmkavkami v prístroji QIASymphony SP“.
R3, február 2023	Ulica spoločnosti PreAnalytiX GmbH zmenená z ulica „Feldbachstrasse“ na „Garstligweg 8“: Aktualizácia časti Preventívne opatrenia. Pridané núdzové informácie v časti Bezpečnostné informácie. Opravené katalógové číslo proteínázy K (100 ml) v informáciách o objednávaní. Zmeny rozloženia a úpravy.

## Poznámky

## Poznámky



Aktuálne licenčné informácie a právne informácie týkajúce sa produktu nájdete v sprievodcovi alebo používateľskej príručke k súprave PreAnalytiX® alebo QIAGEN®. Sprievodcov a používateľské príručky k súpravám PreAnalytiX a QIAGEN nájdete na lokalite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) alebo o ne môžete požiadať oddelenie technických služieb spoločnosti QIAGEN alebo svojho miestneho distribútora.

Viac informácií nájdete na stránke:

**[www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com)**

HB-2866-003 02/2023



A QIAGEN / BD Company