

Duben 2021

Návod k použití přístroje QIASymphony[®] SP (protokolový list)

Pro soupravu PreAnalytiX QIASymphony
PAXgene[®] Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) a
zkumavku PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA
Tube (CE-IVD; **CE**₀₁₂₃)

Protokoly PAXgene Blood ccfDNA pro diagnostiku in vitro:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 a PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Všeobecné informace

Pro diagnostiku in vitro.

Souprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), na použití s přístrojem QIASymphony SP, je určena na automatickou izolaci a čištění cirkulující bezbuněčné DNA (ccfDNA) z plazmy generované z plně lidské venózní krve odebrané ve zkumavce PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Postup purifikace je optimalizován pro použití s plazmou generovanou z plně lidské venózní krve odebrané ve zkumavkách PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Pokyny k odběru krve najdete v Návodu k použití zkumavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) na domovské stránce produktu na adrese (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 (CE-IVD). 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 (CE-IVD) 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. Obecné informace pro použití soupravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

Materiál vzorku	Lidská plazma generovaná z plně venózní krve odebraná do zkumavek ccfDNA PAXgene Blood Tube (CE-IVD)			
Souprava	Souprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, kat. č. 768566			
Verze softwaru	Verze 5.0 nebo vyšší			
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 (CE-IVD) na přístroji QIASymphony SP.

A) Výroba plazmy z krve pro standardní protokoly

1. Odstředíte zkumavku PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 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: Pro nejlepší funkčnost vzorků uchovávaných v chladu před centrifugací nechte zkumavky před zpracováním ohřát na pokojovou teplotu.

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

Poznámka: Nepřekračujte maximální rychlost odstředování doporučenou výrobcem sekundární zkumavky.

4. Napipetujte požadovaný objem plazmy (viz část „Objem vzorku“ na straně 5) do 14ml polystyrenové zkumavky s kulatým dnem o rozměrech 17 x 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. Pěna nebo vzduchové bubliny na vzorcích mohou vést k pipetování nesprávného objemu vzorku.

Poznámka: Po odběru krve a odstředění lze plazmu skladovat při teplotě 2–8 °C po dobu až 7 dnů. Při delším skladování doporučujeme zmrazení alikvotních podílů.

Poznámka: Při použití dříve uložených vzorků plazmy (např. skladovaných při 2–8 °C nebo zmrazených na -20 nebo -70 °C / -80 °C) je třeba je před spuštěním zpracování uvést na pokojovou teplotu (15–25 °C).

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

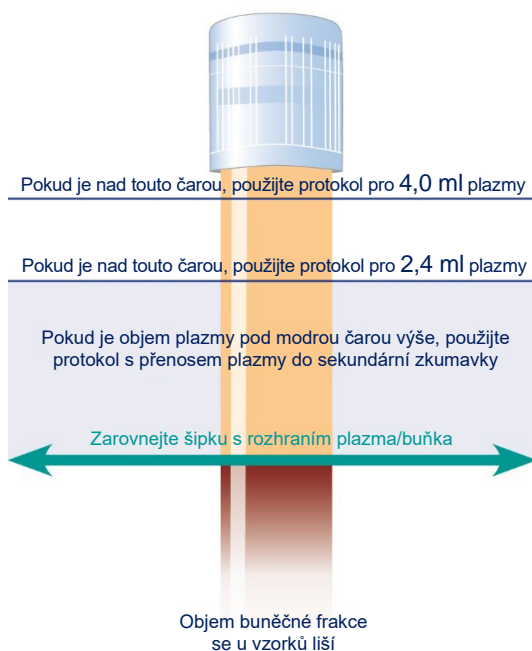
1. Odstředíte zkumavku PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) při pokojové teplotě (15–25 °C) po dobu 15 minut při 3 000 × g pomocí vyvážené vytahovací lopatkové odstředivky. Pokud se upřednostňuje brzdění, doporučujeme použít střední úroveň brzdění, kterou je potřeba validovat pro váš konkrétní pracovní postup.

Poznámka: Pro nejlepší funkčnost vzorků uchovávaných v chladu před centrifugací 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 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 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.

3. Před umístěním na přístroj QIASymphony SP pro přímou extrakci ccfDNA sejměte ze zkumavek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) uzávěr Hemogard Closure Cap.
4. Do nosiče zkumavek vložte otevřené zkumavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), 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 nástrojem přeneslo 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 a 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) jako integrovaná součást funkce protokolu přenos nižších objemů plazmy, než je uvedeno. V tomto případě se nástrojem přeneše méně vzorku a přenesený objem je zdokumentován v 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) Výroba plazmy z krve pro manipulaci s odběrovou zkumavkou na přístroji QIASymphony SP“ na straně 3.

Zásuvka „Sample“ (Vzorek)

Tabulka 2. Informace k nastavení zásuvky na vzorky*

Typ vzorku	Lidská plazma generovaná z plné venózní krve odebraná do zkumavek ccfDNA PAXgene Blood Tube (CE-IVD)
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 PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm (BD™, kat. č. 768165)
Zkumavky sekundárního vzorku	107. 14 ml 17 x 100 mm polystyrenové zkumavky s kulatým dnem (Corning®, kat. č. 352051)
Vložky	–
Jiné	Proteináza K požadovaná ve 14 ml polystyrene, round-bottom tubes 17 x 100 mm (Corning, kat. č. 352051); použijte 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.
–, neuvedeno.

Zkumavky na vzorky pro nosič zkumavek

Tabulka 3. Informace o nastavení nosiče zkumavek*

Název na dotykové obrazovce	Dodavatel	Materiál	Příklad kat. č.	Vložka	PAXcircDNA_2400	PAXcircDNA_4800	PAXcircDNA_PrimaryTube_2400	PAXcircDNA_PrimaryTube_4000
BD #352051 FalconPP 17 x 100	Corning†	14 ml Falcon® polystyrene round-bottom tube 17 x 100 mm	352051	Vložka není nutná	2,8 ml‡ 1,6 ml‡§ (režim Enable Less Sample) (povolit méně vzorků)	5,3 ml‡ 4,1 ml‡§ (režim Enable Less Sample) (povolit méně vzorků)	–	–
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 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.

† Dříve dodáváno společností BD.

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

§ 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. –, neuvédno.

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

Pozice A1 a/nebo A2	Kazeta s reagenty
Pozice B1	–
Držák se stojánkem pro špičky 1–17	Filtrační špičky k jednorázovému použití 200 µl nebo 1500 µl
Držák jednotkové krabice 1–4	Jednotkové krabice obsahující kazety pro přípravu vzorků nebo 8-Rod Covers

– = neuvédno.

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

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

Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Dodavatel	Materiál	Příklad kat. č.	Kategorie	Název na dotykové obrazovce	Adaptér na elučním slotu 1 (chlazený)
společnost QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Dodává se spolu se soupravou (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_2.0ml 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_1.5ml AdapterV1 (no BC)	SL#E1415-2231 *T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS, 24-wells, 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_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Jedna šarže, 24 vzorků*	Dvě šarže, 48 vzorků*	Jedna šarže, 24 vzorků*	Dvě šarže, 48 vzorků*
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
	Tři šarže, 72 vzorků*	Čtyři šarže, 96 vzorků*	Tři šarže, 72 vzorků*	Čtyři šarže, 96 vzorků*
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

* 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 přídavné 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.

Elučňi objem

Zvolený elučňi objem (µl)*	Původní elučňi objem (µl)†
60	75

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

† Původní objem elučňiho 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 QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) obsahuje roztok proteinázy K připravený k okamžitému použití. Proteinázu K lze skladovat při pokojové teplotě (15–25 °C). Pro dlouhodobém skladování doporučujeme uchovávat injekční lahvičky s enzymem proteinázy K při teplotě 2–8 °C.

Číslo vzorku	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11660 µl†
96	11660 µl†	23320 µl†

* Pro každý vzorek se vyžaduje 110 µl (na 2400 µl plazmy) nebo 220 µl (na 4800/4000 µl plazmy), plus další prázdný objem 1100 µl [(n x 110 nebo 220 µl) + 1100 µl].

† Pokud je zapotřebí více než 11 660 µl, použijte druhou zkumavku (Corning, kat. č. 352051). Pro druhou zkumavku je požadován další prázdný objem 1100 µl.

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

Historie revizí

Datum	Změny
R1, 04/2021	První vydání.
R2, 04/2021	„(CE 0123)“ bylo v textu běžného formátu nahrazeno textem, který se řídí požadavky na design podle přílohy X nařízení o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro.

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifické pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro soupravu QIAGEN nebo uživatelské příručce. Příručky k soupravám QIAGEN a uživatelské příručky jsou k dispozici na stránkách www.qiagen.com nebo si je lze vyžádat od technických služeb společnosti QIAGEN nebo místního distributora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN Group); PAXgene® (PreAnalytiX GmbH); BD™ (Becton Dickinson and Company); Corning®, Falcon® (Corning, Inc.); Eppendorf®, LoBind® (Eppendorf AG); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.); Starlab® (Starlab International GmbH). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když takto nejsou konkrétně označeny, nesmějí být považovány za nechráněné zákonem.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

Objednávky www.qiagen.com/shop | Technická podpora support.qiagen.com | Webová stránka www.qiagen.com