

Máj 2021

Návod na použitie súpravy (Príručka) QIASymphony[®] PAXgene[®] Blood ccfDNA Kit (CE IVD)



192

Verzia 1



Na diagnostické použitie in vitro



768566



PreAnalytiX GmbH, Feldbachstrasse, CH - 8634
Hombrechtikon, Švajčiarsko



1123518SK



A QIAGEN / BD Company

Ochranné známky: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH); QIAGEN®, QIAcube®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Corning®, Falcon® (Corning, Inc.); Eppendorf® (Eppendorf AG); SpeedVac® (Thermo Fisher Scientific alebo jej dcérske spoločnosti). Registrované názvy, ochranné známky atď., použité v tomto dokumente sa nesmú považovať za známky nechránené podľa zákona, i keď neboli ako také označené príslušným symbolom.

Obmedzená licenčná zmluva pre prípravu QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit

Použitie tohto produktu predstavuje súhlas kupujúceho alebo používateľa tohto produktu 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 paneli. Spoločnosť PreAnalytiX® neudeľuje žiadnu licenciu v rámci žiadneho zo svojich práv na ochranu duševného vlastníctva na používanie alebo spájanie komponentov tohto panela s akýmkoľvek komponentmi, ktoré netvoria 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 a www.PreAnalytiX.com.
2. Iné než výslovne uvedené licencie – spoločnosť PreAnalytiX neposkytuje žiadnu záruku na to, že tento panel a/alebo jeho použitie neporuší práva tretích strán.
3. Tento panel a jeho komponenty sú licenčne poskytnuté na jednorazové použitie a nesmú sa opätovne používať, opravovať ani predávať.
4. Spoločnosť PreAnalytiX sa špecificky zrieka všetkých ostatných výslovných alebo implicitných licencií okrem tých, ktoré sú tu výslovne uvedené.
5. Kupujúci a používateľ tohto panela súhlasia s tým, že iným osobám neumožnia ani nepovolia 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 zmluvy alebo práv duševného vlastníctva súvisiacich s panelom a/alebo jeho komponentmi.

Aktualizované licenčné podmienky nájdete na adrese www.qiagen.com a www.PreAnalytiX.com.

HB-2866-001 1123518 © 2021 PreAnalytiX GmbH, všetky práva vyhradené.

Obsah

Účel použitia	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 reagensiami.....	14
Komponenty súpravy	14
Odber a príprava vzoriek	16
Postup	20
Overview: Nástroj automatizovanej purifikácie ccfDNA na prístroji QIASymphony SP	20
Prehľad protokolu	25
Protokol: Nástroj automatizovanej purifikácie ccfDNA na prístroji QIASymphony SP	28
Kontrola kvality	31
Obmedzenia	31
Sprievodca riešením problémov	32

Symboly.....	34
Príloha: Kvantifikácia ccfDNA.....	36
Informácie o objednávaní	37
História úprav dokumentu.....	40

Účel použitia

Súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) na použitie s prístrojom QIASymphony SP je určená na automatizovanú izoláciu a purifikáciu cirkulujúcej bezbunkovej DNA (circulating cell-free DNA, ccfDNA) z plazmy vytvorenej z neupravenej venóznej ľudskej krvi odobratej do skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) využíva technológiu magnetických častíc na automatizované izolovanie a purifikáciu ccfDNA z ľudskej plazmy.

Súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) je určená na diagnostické použitie in vitro a na použitie profesionálnymi používateľmi, ako sú napríklad technici a lekári, ktorí sú vzdelaní v oblasti techník 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 (circulating cell-free DNA, ccfDNA) je v plazme prítomná zvyčajne ako krátke fragmenty (< 1000 bp). Koncentrácia ccfDNA v plazme je zvyčajne nízka (môže dosahovať hodnoty od 1 do 100 ng/ml) a výrazne medzi jednotlivcami kolíše. Skúmvka PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) s označením CE v kombinácii so súpravou QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) pozostáva zo štandardizovaného pracovného postupu na odber, skladovanie a prepravu krvi, stabilizácie DNA v uzatvorenej skúmavke a následnej izolácii a purifikácii ccfDNA z ľudskej plazmy pomocou prístroja QIAGEN® QIASymphony SP.

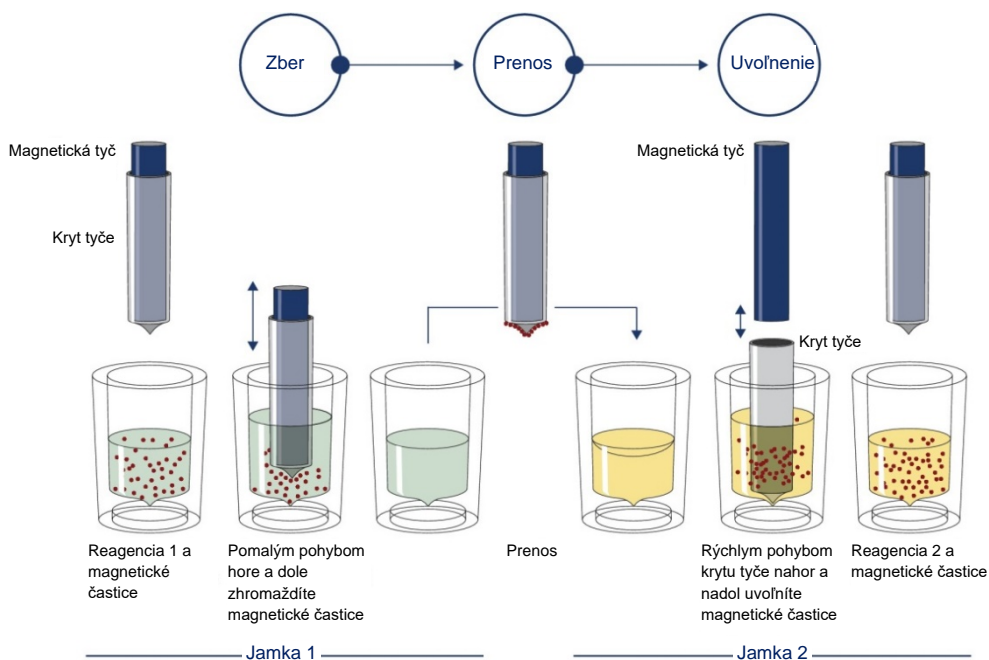
Sú dostupné protokoly na prístroji QIASymphony SP na extrakciu ccfDNA z 2,4 a 4,8 ml plazmy vygenerovanej zo skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) pomocou dvojitej centrifugácie. Plazma sa preniesie a spracuje v sekundárnej skúmavke na prístroji QIASymphony SP.

Prípadne sú dostupné primárne protokoly pre manipuláciu so skúmavkou na prístroji QIASymphony SP pre vstup plazmy v objeme 2,4 a 4 ml. V tomto prípade nie je potrebný krok so sekundárnou centrifugáciou alebo prenosom plazmy do sekundárnej skúmavky.

Technológia magnetických častí súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit umožňuje purifikáciu vysokokvalitnej ccfDNA, ktorá je bez bielkovín, nukleáz a iných nečistôt. Prístroj QIASymphony SP vykonáva všetky kroky procedúry čistenia. V jednom cykle sa spracuje až 96 vzoriek v dávkach po 24 kusov. Na izolovanie genómovej DNA (gDNA) z bunkovej frakcie s jadrom z krvi odobranej do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) na prístroji QIASymphony SP si prečítajte pokyny uvedené v návode na použitie skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) (www.PreAnalytiX.com).

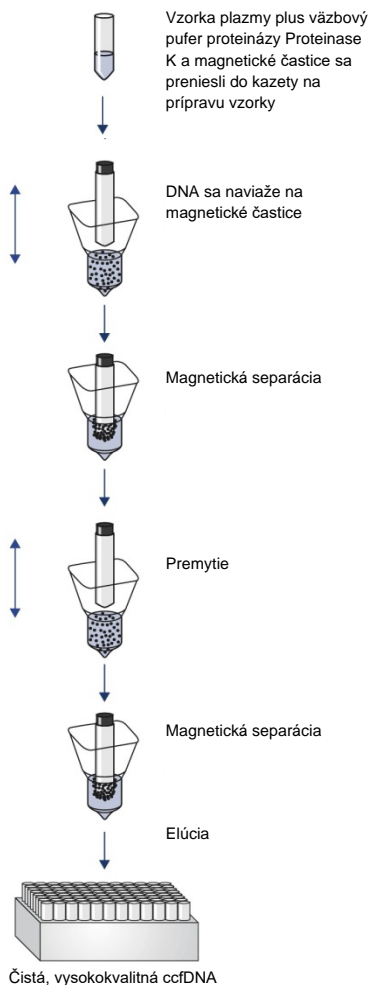
Princípy postupu

Prístroj QIASymphony SP kombinuje rýchlosť a účinnosť purifikácie nukleových kyselín na báze výmeny aniónov s pohodlnou manipuláciou s magnetickými časticami (obrázok 1). Procedúra čistenia je navrhnutá tak, aby zabezpečila 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 vzorky.



Obrázok 1. Schematický náčrt princípu prístroja QIASymphony SP. Prístroj QIASymphony SP pracuje vzorku obsahujúcu magnetické častice nasledovne: magnetický tyč chránená krytom tyče vojde do jamky, v ktorej sa nachádza vzorka, a pritiahne magnetické častice. Kryt magnetickej tyče je umiestnený nad ďalšou jamkou a magnetické častice sú uvoľnené. Tieto kroky sa počas spracovania vzorky niekoľkokrát opakujú. Prístroj QIASymphony SP používa magnetickú hlavicu so súpravou 24 magnetických tyčí, a môže preto súčasne spracovávať až 24 vzoriek.

Súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



Obrázok 2. Kroky na extrahovanie ccfDNA pomocou súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD). Fragmenty ccfDNA sa izolujú z plazmy vygenerovanej z ľudskej venózneho plnej krvi odobratej do skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Počas prvého kroku spracovania sa proteíny plazmy digestujú pomocou proteinázy Proteinase K, zatiaľ čo ccfDNA sa naviaže na povrch magnetických častíc. Tri kroky umývania zaručujú odstránenie kontaminantov. Nakoniec sa ccfDNA eluuje z magnetických častíc a je pripravená na použitie v ďalších procesoch.

Dodávané materiály

Obsah súpravy

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

* Obsahuje azid sodný ako konzervačnú látku.

† Pozri stranu 34 so zoznamom symbolov a definícií.

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

Dostupné tiež samostatne, pozri Informácie o objednávaní.

** Maximálna koncentrácia v jednej jamke.

Požadované materiály, ktoré sa nedodávajú

Pri práci s chemikáliami a biologickými vzorkami vždy dodržiavajte univerzálne preventívne opatrenia a noste vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare podľa zásad a postupov vášho pracoviska. 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 and 1500 µl (QIAGEN, kat. č. 990332 a 997024 v tomto poradí)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, kat. č. 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (PreAnalytiX, kat. č. 768165)
- Skúmavky na vzorky. Kompatibilné primárne a sekundárne formáty skúmaviek nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov výrobku na strane výrobku na adrese **www.qiagen.com**.
- Kompatibilné formáty elučných skúmaviek nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov výrobku na strane výrobku na adrese **www.qiagen.com**.

Zariadenie*

- Pipeta (5 ml)
- QIASymphony SP instrument (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.

V prípade zákazníkov z Európskej únie vezmite na vedomie, že môžete byť požiadaní, aby ste nahlásili výrobcovi a kompetentnému orgánu členského štátu, 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 univerzálne preventívne opatrenia a noste vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare podľa zásad a postupov vášho pracoviska. Ďalšie informácie nájdete v príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ). Tieto materiály sú k dispozícii online vo formáte PDF na adrese www.qiagen.com/safety, kde môžete vyhľadať, zobraziť a vytlačiť KBÚ pre jednotlivé súpravy PreAnalytiX a ich súčasti.

- Všetky chemikálie a biologické materiály sú potenciálne nebezpečné. Vzorky sú potenciálne infekčné a musí sa s nimi zaobchádzať ako s biologicky nebezpečnými materiálmi.
- Odpad vzoriek a testov likvidujte podľa miestnych bezpečnostných postupov.

Preventívne opatrenia

Pufre v reagenčnej kazete (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 súčasť súpravy QIASymphony 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 Proteinase K. Nebezpečenstvo! Spôsobuje mierne podráždenie pokožky. Pri vdýchnutí môže vyvolať alergiu alebo príznaky astmy alebo dýchacie ťažkosti. Vyhnite 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 pokojí 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 (CE-IVD) skladujte vzpriamene pri izbovej teplote (15 – 25 °C). Magnetické častice v reagenčných kazetách (RC) zostávajú aktívne, keď sa skladujú pri tomto teplotnom rozsahu.

Poznámka: Štítok na škatuli súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) zobrazuje dátum expirácie súpravy. Dátum expirácie platí pre reagenčnú kazetu.

Súpravu QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) nepoužívajte po dátume expirácie.

Komponenty súpravy

Súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) obsahujú roztok proteinázy Proteinase K pripravený na použitie, ktorý je možné skladovať pri izbovej teplote (15 – 25 °C).

Reagenčné kazety neskladujte pri teplotách pod 15 °C.

Otvorené reagenčné kazety súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) sa môžu skladovať pri izbovej teplote (15 – 25 °C) po dobu maximálne 4 týždne, ktorá umožňuje nákladovo efektívne opätovné použitie reagensí a flexibilnejšie spracovanie vzoriek. Ak je reagenčná kazeta (RC) čiastočne použitá, nasadte späť kryt vaničky obsahujúcej magnetické častice a reagenčnú kazetu (RC) utesnite dodanými tesniacimi prúžkami na opätovné použitie ihneď po ukončení spracovania protokolu, aby nedošlo k odpareniu.

Aby sa zabránilo odparovaniu reagensie, reagenčná kazeta (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 reagenčnej kazety (RC) aj požadované objemy pufra, čo potenciálne zníži celkový možný počet príprav vzoriek na kazetu.

Zabráňte vystaveniu reagenčných kaziet (RC) UV žiareniu (napr. použitie na dekontamináciu), pretože vystavenie môže spôsobiť zrýchlené starnutie reagenčných kaziet (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 vytvorenou z neupravenej krvi odobratej do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Informácie o odbere krvi, manipulácii s týmito skúmavkami a príprave plazmy nájdete v návode na použitie skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), ktorý sa nachádza na kartách zdrojov výrobu stránok výrobu na adrese www.qiagen.com a www.PreAnalytiX.com v tomto poradí.

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

A) Príprava plazmy z krvi pre štandardné protokoly

1. Odstreďujte skúmavku PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) pri izbovej teplote (15 – 25 °C) v trvaní 15 minút pri rýchlosti 1600 – 3000 × g (prvá centrifugácia) a na 10 minút pri rýchlosti 1600 – 3000 × g (druhá centrifugácia) použitím odstredivky s vyváženými výkyvnými komorami. Ak sa uprednostňuje brzdenie, odporúčame používať strednú úroveň brzdzenia, ktorá by mala byť schválená pre váš konkrétny pracovný postup.

Poznámka: Na dosiahnutie čo najlepšej výkonnosti pre vzorky uložené v chladničke pred odstredovaním 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. Centrifugujte skúmavku na odstredovanie s kužeľovým dnom s objemom 15 ml pri izbovej teplote (15 – 25 °C) počas 15 minút pri rýchlosti 1600 – 3000 × g (prvá centrifugácia) a na 10 minút pri rýchlosti 1600 – 3000 × g (druhá centrifugácia) použitím vyvázenej odstredivky.

Poznámka: Neprekračujte maximálnu rýchlosť odstredovania odporúčanú výrobcom sekundárnych skúmaviek.

- Pipetujte požadovaný objem plazmy (pozrite si časť „Objem vzorky“ na strane 20) do polystyrénovej skúmavky s okrúhlym dnom s objemom 14 ml, 17 x 100 mm, pričom dávajte pozor, aby ste nenarušili zvyškovú peletu krvných buniek, ak je prítomná.
- Preneste skúmavku s okrúhlym dnom s plazmovou vzorkou do nosiča na skúmavky a vložte nosič na skúmavku do vstupnej zásuvky na vzorky prístroja QIAAsymphony SP.

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

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

Poznámka: Po odbere krvi a centrifugácii stabilizuje skúmavka PAXgene Blood ccfDNA Tubes (IVD) ccfDNA (profil ccfDNA) v plazme na teplote 2 – 8 °C na 7 dní pred spracovaním plazmy. Pri dlhšom skladovaní odporúčame zmrazenie alikvotných dielov.

Poznámka: Pri použití predtým uskladnených plazmových vzoriek (uložených napríklad pri teplote 2 – 8 °C alebo zmrazených pri teplote –20 alebo –70 °C/–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 primárnymi skúmavkami v prístroji QIAAsymphony SP

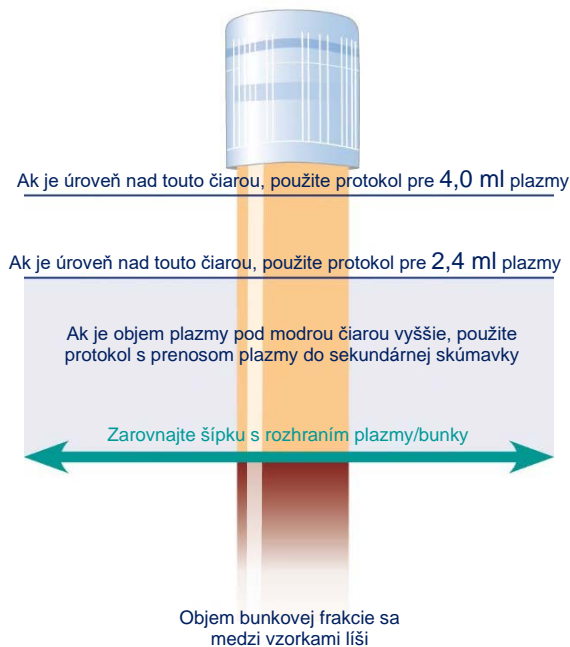
- Odstreďte skúmavku PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) pri izbovej teplote (15 – 25 °C) v trvaní 15 minút pri rýchlosti 3 000 x g použitím odstredivky s vyváženými výkyvnými komorami. Ak sa uprednostňuje brzdenie, odporúčame používať strednú úroveň brzdienia, ktorá by mala byť schválená pre váš konkrétny pracovný postup.

Poznámka: Na dosiahnutie čo najlepšej výkonnosti pre vzorky uložené v chladničke pred odstredovaním 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.



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



Obrázok 3. 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.

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

Poznámka: Pri skladaní uzáverov skúmaviek a manipulácii s otvorenými skúmavkami postupujte opatrne, aby ste predišli potenciálnemu riziku vyliatia vzorky, skríženej kontaminácie medzi skúmavkami a expozícii krvi.

4. Umiestnite otvorené skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), 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 vzoriek plazmy spracovaných zo skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube

1. Na zmrazenie, prenos plazmy do vhodných skúmaviek (napr. kryoskúmavky) umiestnené vo vhodnom stojane.
5. Plazmu zmrazte a skladujte pri teplote -20 °C. Na skladovanie pri teplote nižšej ako -20 °C zmrazte vzorky plazmy najprv pri teplote -20 °C na minimálne 24 hodín a potom ich preneste do teploty -70 alebo -80 °C.
6. Plazmu rozmrazte pri izbovej teplote (15 – 25 °C).

Poznámka: Nerozmrazujte ju pri nízkych teplotách (napr. 4 °C).

7. Ak sa v plazme vytvoria kryoprecipitáty, premiešajte skúmavku po rozmrazení na 30 sekúnd vo vortexe a použite postup na izolovanie vzorky ccfDNA v prístroji QIASymphony SP bez ďalšej úpravy.

Poznámka: Neodporúča sa centrifúgovať plazmu a odstraňovať kryoprecipitáty, pretože môžu obsahovať ccfDNA.

Poznámka: Aby ste predišli tvorbe kryoprecipitátov, môže sa plazma rozmraziť pri teplote 30 °C na 30 minút namiesto izbovej teploty.

Postup

Overview: Nástroj automatizovanej purifikácie ccfDNA na prístroji QIASymphony SP

Vďaka prístroju QIASymphony SP je automatizovaná príprava vzoriek ľahká a pohodlná. Vzorky, reagenty a spotrebný materiál a eluáty sú oddelené do rôznych zásuviek. Pred cyklom jednoducho vložte vzorky, reagenty 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) 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 je k dispozícii nižší objem plazmy než 2,8 alebo 5,3 ml, automaticky umožňuje režim **Less Sample mode** (Režim pre menšie vzorky) ako integrovaná funkcia protokolu prenos nižších objemov vzorky, ako je uvedené. V takomto prípade sa menej vzorky preniesie pomocou prístroja a prenesený objem sa zdokumentuje do výsledného súboru. 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 a 4,1 ml. Vzorky sa nespracujú a budú označené ako **neplatné**, ak sa poskytnú nižší objem vzorky. Pre pracovný postup manipulácie s primárnymi skúmvkami 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 reagenčných kaziet do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál)

Reagencie na purifikáciu ccfDNA sa nachádzajú v inovatívnej reagenčnej kazete (RC) (obrázok 4). Každá vanička reagenčnej kazety obsahuje konkrétnu reagenciu, ako sú magnetické častice, viazací pufer, premývací pufer alebo elučný pufer. Čiastočne použité reagenčné kazety je možné opätovne uzavrieť tesniacimi pásikmi na opakované použitie na neskoršie opätovné použitie, čím sa zabráni tvorbe odpadu v dôsledku zvyškov reagencií na konci procesu purifikácie.



Obrázok 4. Reagenčná kazeta QIAAsymphony (RC). Reagenčná kazeta obsahuje všetky reagenty potrebné na spracovanie protokolu.

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

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

Reagenčnú kazetu (RC) umiestnite do stojana. Pred prvým použitím reagenčnej kazety (RC) položte prepichovacie viečko na vrch reagenčnej kazety (RC) (Obrázok 4).

Poznámka: Dierovacie viečko je ostré. Budte opatrní, keď ho ukladáte na reagenčnú kazetu. Uistite sa, že ste dierovacie viečko nasadili na reagenčnú kazetu (RC) v správnej polohe.

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

Čiastočne použité reagenčné kazety (RC) je možné skladovať, kým ich opäť nebudete potrebovať (pozri „Skladovanie a manipulácia s reagenčiami“ na strane 14).

Poznámka: Musí sa pridať proteináza Proteinase K (pozri „Postup, ktorý sa má vykonať pred začatím“ na strane 26).

Poznámka: Uistite sa, že reagenčné kazety, vaničky s magnetickými časticami a fľaše s proteinázou Proteinase K sa nezamienia 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 prípravku 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 37.

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 vyprázdnite, aby nedošlo k zaseknutiu špičiek.

Odpadová nádoba zhromažďuje kvapalnú odpad vznikajúci počas procesu purifikácie. Zásuvku „Waste“ (Odpad) je možné zatvoriť len vtedy, ak je zásobník na odpad na svojom mieste. Kvapalnú 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)†
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.

† 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.

Skladovanie ccfDNA

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

Prehľad protokolu

Tabuľka 1. Prehľad protokolu

Vzorka	Spracovanie skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)	Vstupný objem vzorky (vrátane prázdneho objemu) (ml)	Objem vzorky použitéj na extrakciu ccfDNA (ml)	Elučný objem (µl)	Protokol prístroja QIAasymphony SP
Plazma vygenerovaná z venóznejs ľudskej plnej krvi odobratej do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)	2x centrifugácia, prenos plazmy do sekundárnej skúmavky	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	1x centrifugácia, priame spracovanie na prístroji QIAasymphony 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 KBÚ.
- Uistite sa, že ste oboznámení s ovládaním prístroja QIAasymphony SP. Pokyny na obsluhu nájdete v používateľských príručkách dodaných s prístrojom.
- Pred začatím spracovania si prečítajte časť „Princípy postupu“.
- Nezabudnite sa oboznámiť s protokolovým listom a zoznamom laboratórneho vybavenia (nájdete ich na karte zdrojov výrobku na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com).
- Snažte sa zabrániť intenzívnemu pretrepávaniu reagenčnej kazety, inak by mohlo dôjsť k tvorbe peny, ktorá môže viesť k problémom s detekciou hladiny kvapaliny.

- Krv sa musí odobrať do skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD; PreAnalytiX, kat. č. 768165). Pokyny na odber krvi a manipuláciu a spracovanie plazmy nájdete v návode na použitie, ktorý sa nachádza v karte zdrojov výrobku na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com alebo www.PreAnalytiX.com v tomto poradí.

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 minúty.
- Uistite sa, že dierovacie viečko nasadené na reagenčnej kazete a viečko vaničky na magnetické častice boli odstránené, alebo ak používate čiastočne použitú reagenčnú kazetu, skontrolujte, či tesniace pásky na opakované použitie boli odstránené.
- Proteínáza Proteinase K nie je zahrnutá do reagenčnej kazety, ale musí ju zabezpečiť používateľ (zásobník na vzorky, slot A, poloha 1 a/alebo 2). Uistite sa, že je dostupný správny objem proteínázy Proteinase K.

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

Počet vzoriek	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11 660 µl [†]
96	11 660 µl [†]	23 320 µl [†]

* 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].

[†] 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 Proteinase K sú umiestnené v nosiči na skúmavky. Nosič na skúmavky s obsahom proteínázy Proteinase K musí byť umiestnený v pozíciách 1 a 2 v sloty A zásuvky „Sample“ (Vzorka). Pre proteínázu Proteinase K odporúčame použiť polystyrénové skúmavky s objemom 14 ml, 17 x 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, ktoré sú kompatibilné s protokolmi nájdete v príslušnom zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov výrobku na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com.

Protokol: Nástroj automatizovanej purifikácie ccfDNA na prístroji QIASymphony SP

Detailné informácie pre každý protokol vrátane objemov a skúmaviek sú uvedené v protokolovom liste, ktorý nájdete v karte zdrojov výrobku na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com. Na prípravu materiálu vzorky (plazma vygenerovaná z ľudskej venóznej plnej krvi odobranej do skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)), pozri časti „Odber a príprava vzoriek“ a „Príprava materiálu vzorky“ v tejto príručke, ako aj návod na použitie skúmavky, ktorý sa nachádza v karte zdrojov výrobku stránky výrobku na adrese www.qiagen.com alebo www.PreAnalytiX.com v tomto poradí.

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 reagenčnú kazetu(y) 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 vhodného nosiča vzoriek (polystyrénová skúmavka s okrúhlym dnom Falcon® s objemom 14 ml a rozmermi 17 × 100 mm), umožňuje pracovný postup manipulácie s primárnou skúmavkou PAXgene Blood ccfDNA Tube extrakciu ccfDNA priamo zo skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (skúmavka s objemom 10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), 16 x 100 mm). Viac informácií o manipulácii s primárnou skúmavkou nájdete v protokolovom liste, zozname laboratórneho vybavenia a v návode na použitie skúmavky, ktorý sa nachádza v karte zdrojov výrobku na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com alebo www.PreAnalytiX.com v tomto poradí.

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

Zadajte nasledujúce informácie:

- Informácie o vzorke (v závislosti od použitých stojanov vzoriek 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 šarže sa objaví tlačidlo **Run** (Spracovať).

10. Vložte proteínázu Proteinase K do príslušného nosiča vzoriek do polohy 1 a 2 a vložte ich do slotu A zásuvky „Sample“ (Vzorka).

11. Proteínázu Proteinase 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 dávky zmení z **RUNNING** (SPRACOVANIE) na **COMPLETED** (DOKONČENÉ).

13. Vyberte elučný stojan obsahujúci purifikovanú ccfDNA zo zásuvky „Eluate“ (Eluát). Potvrďte vybratie elučného stojana pomocou softvéru prístroja QIASymphony SP.

14. ccfDNA je pripravená na použitie alebo sa môžu uskladniť pri teplote -20 °C alebo -80 °C na až 6 mesiacov.

Spoločnosť QIAGEN odporúča vybrať zo zásuvky „Eluate“ (Eluát) ihneď po ukončení chodu. V závislosti od teploty a vlhkosti môžu elučné doštičky, ktoré zostanú v prístroji QIASymphony SP po dokončení cyklu podliehať kondenzácii alebo odparovaniu.

Poznámka: Pomocou funkcie chladenia prístroja QIASymphony SP je možné jeho spustenie počas noci.

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 prenású do čistej skúmavky (pozri „Príloha: Kvantifikácia ccfDNA“).

Súbory s výsledkami sa generujú pre každú elučnú platničku.

15. Ak je reagenčná kazeta 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 reagenčných kaziet (RC) nájdete v časti „Skladovanie a manipulácia s reagensiami“.

16. Použité skúmavky na vzorky a odpad likvidujte podľa miestnych bezpečnostných predpisov.

Pozri časť „Varovania a preventívne opatrenia“ s bezpečnostnými informáciami.

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 a vypnite prístroj QIASymphony SP.

Kontrola kvality

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

Obmedzenia

Výkon systému bol určený počas štúdií hodnotenia výkonu pri purifikácii ccfDNA z plazmy vygenerovanej z venózne ľudskej plnej krvi odobratej do skúmavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) boli vypracované štyri rôzne protokoly.

Charakteristiky výkonu súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) boli stanovené pomocou fragmentov 18S ribozomálnej a DYS14 Y-chromozomálnej ccfDNA v plazme.

Používateľ je zodpovedný za overenie výkonu 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 často kladených otázok nájdete na príslušnej stránke výrobcu na adrese www.PreAnalytiX.com alebo www.qiagen.com.

Komentáre a návrhy

Všeobecná manipulácia

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Chybové hlásenie zobrazené na dotykovej obrazovke | Ak sa počas chodu protokolu zobrazí chybové hlásenie, pozrite si používateľské príručky dodávané s prístrojom. |
| b) | Meniaci sa objem eluátu po chode počas noci | Na optimalizovanie podporuje súprava QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) spracovanie vzoriek počas noci tak, že eluáty sa na prístroji QIASymphony SP schladia. Počas obdobi chladenia sa môžu objemy eluátov meniť v závislosti od teploty a vlhkosti v laboratóriu. Ak sa napríklad zvolil objem 60 µl pri teplote 15 – 25 °C a vlhkosti 30 – 60 %, môže byť objem po 12 hodinách skladovania na prístroji v rozsahu 50 – 85 µl. |

Kryoprecipitáty po rozmrazení vzoriek plazmy

- | | | |
|----|--|---|
| a) | V plazme sa tvoria kryoprecipitáty | Aby ste predišli tvorbe kryoprecipitátov, môže sa plazma rozmraziť pri teplote 30 °C na 30 minút namiesto izbovej teploty. Nerozmrazujte ju pri nižších teplotách (napr. 4 °C). Skúmvavku po rozmrazení premiešajte vo vortexe na 30 sekúnd |
| b) | Nízka výťažok ccfDNA z plazmy po odstránení kryoprecipitátov | Necentrifugujte plazmu a neodstraňujte kryoprecipitáty, pretože môžu obsahovať ccfDNA. |

Nedostatočný objem plazmy zo skúmaviek PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Menej ako 10 ml krvi odobranej v skúmvavke PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) | Zaistíte, aby sa do skúmvavky PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) odobralo 10 ml krvi. Prečítajte si návod na použitie skúmvavky PAXgene Blood ccfDNA Tube. |
| b) | Vysoká bunková frakcionácia | Vysoká úroveň bunkovej frakcionácie (hematokrit) v ľudskej plnej krvi (napr. vyššia ako 51 % u mužov alebo 47 % u žien) môže viesť k zníženým objemom plazmy. |
| c) | Nízky výťažok plazmy po centrifugácii | Dlhšie skladovanie krvi a prepravné časy alebo podmienky centrifugácie odlišné od špecifikovaných podmienok môže mať vplyv na výťažky plazmy. |

Vniknutie precipitátu cez otvorenú reagenčnú kazetu (RC) do súpravy QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

- | | | |
|----|-------------------|---|
| a) | Odparovanie pufru | Nadmerné odparovanie môže viesť k zvýšeniu koncentrácie solí v pufroch. Reagenčnú kazetu zneškodnite. Nezabudnite uzavrieť vaničky s puframi čiastočne použitej reagenčnej kazety pomocou tesniacich pásov na opakované použitie, ak sa nepoužili na purifikáciu. |
|----|-------------------|---|

Komentáre a návrhy

- | | | |
|----|-------------------------------|--|
| b) | Skladovanie reagenčnej kazety | Skladovanie reagenčnej kazety pod teplotou 15 °C môže viesť k vzniku precipitátov. |
|----|-------------------------------|--|

Nízky výťažok z ccfDNA

- | | | |
|----|--|---|
| a) | Magnetické častice neboli úplne resuspendované | Pred začatím postupu sa uistite, že magnetické častice sú úplne resuspendované. Pred použitím vírivo pretrepávajte aspoň 3 minúty. Nekompletná resuspenzia môže viesť k chybám pipetovania. |
| b) | Zanesenie hrotu pipety nerozpustným materiálom | Nerozpustný materiál nebol zo vzorky odstránený pred začatím procesu purifikácie prístroja QIASymphony SP. |
| c) | Materiál vzorky obsahuje nízku koncentráciu ccfDNA | Z dôvodu veľmi nízkeho množstva ccfDNA vo vzorkách plazmy 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) | Neúplné opätovné zatvorenie reagenčnej kazety | Výmena s okolitým vzduchom môže viesť k zníženej stabilite pufrów, čo bude mať za následok zníženú účinnosť extrakcie ccfDNA s čiastočne použitou reagenčnou kazetou. Nezabudnite dôkladne uzavrieť vamičky s puframi čiastočne použitej reagenčnej kazety (RC) pomocou tesniacich pásov na opakované použitie, ak sa nepoužili na purifikáciu. |

Nízky výkon ccfDNA v následných procesoch

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Eluát koncentrovaný pomocou vákuovej centrifugácie | Nekoncentrujte eluát pomocou vákuovej centrifugácie (napr. v prístroji SpeedVac® alebo podobnom prístroji). To môže viesť k degradácii spôsobenej vysokými teplotami a koncentrovanými soľami v eluáte, ktoré môže narušiť následné procesy. |
| b) | Prenos kvapky | Vo všeobecnosti sa magnetické častice neprenášajú do eluátov. Ak dôjde k prenosu, neovplyvnia magnetické častice v eluátoch väčšinu následných aplikácií. V prípade potreby veľmi vysokých dávok eluátu na konkrétne následné testy sa môžu eluáty oddeliť odstrednením a preniesť do čistej skúmavky. |

Žiadny/neúplný prenos vzorky

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Pre štandardný protokol na vloží nesprávny objem vzorky | Ak sa vloží menší objem vzorky ako je špecifikovaný objem, zvyšuje sa riziko nejasného príznaku vzorky alebo neprebehne prenos vzorky (neplatný príznak).
Vložte správny objem vzorky podľa popisu v príslušnom protokolovom liste a zozname laboratórneho vybavenia. |
| b) | Bublínky a/alebo pena v skúmavke na vzorky | Bublínky alebo pena vo vzorke a/alebo vo vstupe na vzorky môže mať za následok nesprávnu detekciu hladiny tekutiny a následne neúplný prenos vzorky. Odstráňte bublínky zo skúmavky na vzorky. |

Symbols

Nasledujúce symboly sa môžu objaviť v návode na použitie alebo na balení a štítkoch:



<N>

Obsahuje reagentie dostačujúce na <N> testov. Udáva celkový počet testov IVD, ktoré sa môžu uskutočniť s IVD.



Použite do



Zdravotnícke diagnostické zariadenie na použitie v podmienkach in vitro



CE značenie. Tento výrobok spĺňa požiadavky európskeho nariadenia 2017/746 pre zdravotnícke diagnostická pomôcka na použitie v podmienkach in vitro.



Katalógové číslo



Číslo šarže



Číslo materiálu (t. j. označenie komponentu)



Komponenty (t.j. zoznam zahrnutých)



Obsahuje (obsah)

NUM

Počet (t.j. liekovky, fľaše)

GTIN

Identifikátor GTIN (Global Trade Item Number)

Rn

R označuje revíziu návodu na použitie (príručky) a n je číslo revízie



Teplotné obmedzenia



Výrobca



Prečítajte si návod na použitie



Upozornenie

PROTK

Proteinase K

WELL

Číslo jamky (t. j. jamka reagenčnej kazety)

REAG | **CART**

Reagenčná kazeta

Sodium azide

Azid sodný

Príloha: Kvantifikácia ccfDNA

Z dôvodu veľmi nízkych koncentrácií ccfDNA vo materiáloch vzoriek sa neodporúča merať DNA pomocou spektrofotometra. Na stanovenie koncentrácie ccfDNA by sa mal použiť citlivá 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, odstredzte 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.
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Obsahuje 2 reagenčné kazety, proteinázu Proteinase K a príslušenstvo	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 skúmaviek: 16 x 100 mm, 1,5 ml prímesy, objem odobratej krvi 10 ml	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	Modul na prípravu vzorky QIASymphony, 1-ročná záruka na diely a prácu	9001297
Súvisiace produkty QIAGEN		
Proteinase K (10 ml)	1 x 10 ml fľaštička	19133
Reagent Cartridge Holder (2)	Držiak na reagenčné kazety na použitie s prístrojom 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

Produkt	Obsah	Kat. č.
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-tyčové kryty na použitie s prístrojom QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Jednorazové filtračné špičky, v stojane; (8 x 128). Na použitie s prístrojmi QIAcube® a QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl, Qsym SP (1024)	Jednorazové filtračné špičky, v stojane; (8 x 128). Na použitie s prístrojom QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Vrecká na likvidáciu na špičiek na použitie s prístrojom QIASymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Magnet na separáciu magnetických častíc v skúmavkách 12 x 1,5 ml alebo 2 ml	36912
96-Well Magnet Type A	Magnet na separáciu magnetických častíc v jamkách 96-jamkových platničiek, 2 x 96-jamkové mikrodoštičky FB	36915

Produkt	Obsah	Kat. č.
Reuse Seal Set (20)	Súpravy tesnení na opätovné použitie na utesnenie čiastočne použitých reagenčných kaziet QIASymphony	997006
Elution Microtubes CL (24 x 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 prúžky	19588
Caps for Elution Microtubes (50 x 8)	Uzávery na elučné mikroskúmavky (50 x 8)	19591
14 ml Falcon Tube	Polystyrénová skúmavka s okrúhlym dnom 17 x 100 mm používaná ako nosič vzoriek pre prístroj QIASymphony SP	Corning, 352051

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

História úprav dokumentu

Revízia	Popis
R1, máj 2021	Prvé vydanie

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