

Kwiecień 2021 r.

Aparat QIASymphony[®] SP — Instrukcja użycia (Karta protokołu)

Dla zestawu PreAnalytiX QIASymphony PAXgene[®]
Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) i probówki PreAnalytiX
PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; **CE 0123**)

Protokoły dla produktów PAXgene Blood ccfDNA IVD:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 i PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Informacje ogólne

Do diagnostyki in vitro.

Zestaw QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) jest przeznaczony do użytku w aparacie QIASymphony SP do zautomatyzowanej izolacji i oczyszczania wolnokrążącego DNA (circulating cell-free DNA, ccfDNA) z osocza otrzymanego z ludzkiej żyłnej krwi pełnej zebranej do probówki PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Procedura oczyszczania została zoptymalizowana do użytku z próbkami osocza otrzymanego z ludzkiej żyłnej krwi pełnej zebranej do probówek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Instrukcje dotyczące pobierania krwi zawiera instrukcja użycia probówki PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) dostępna na głównej stronie produktu (www.PreAnalytiX.com).

Opracowano cztery różne protokoły zautomatyzowanej izolacji ccfDNA z osocza otrzymanego z ludzkiej żyłnej krwi pełnej zebranej do probówek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). W przypadku standardowych wersji protokołów można wybrać wejściową objętość próbki osocza równą 2,4 lub 4,8 ml. Ponadto dostępne są protokoły przeznaczone do pracy z probówkami pierwotnymi, które umożliwiają bezpośrednie umieszczenie probówki PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) w aparacie QIASymphony SP. W przypadku protokołów przeznaczonych do pracy z probówkami pierwotnymi można wybrać wejściową objętość próbki osocza równą 2,4 lub 4,0 ml (patrz tabele na kolejnych stronach).

Dla każdej objętości osocza poddawanego izolacji ccfDNA wymagane jest zastosowanie odpowiedniej wejściowej objętości próbki (w tym objętość martwa) oraz odpowiedniego skryptu protokołu, co podsumowano w Tabeli 1.

Tabela 1. Ogólne informacje dotyczące użycia zestawu QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

| | | | | |
|------------------------------|---|---|--|---|
| Materiał próbki | Ludzkie osocze otrzymane z żyłnej krwi pełnej pobranej do probówek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) | | | |
| Zestaw | QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, nr kat. 768566 | | | |
| Wersja oprogramowania | Wersja 5.0 lub wyższa | | | |
| Protokoły | Grupa protokołów | Wejściowa objętość próbki (w tym objętość martwa) (ml) | Objętość próbki do izolacji ccfDNA (ml) | (Assay Control_) Nazwa protokołu |
| | Standardowe | 2,8 | 2,4 | (ACS_) PAXcircDNA_2400 |
| | | 5,3 | 4,8 | (ACS_) PAXcircDNA_4800 |
| | Praca z probówką pierwotną | zgodnie z narzędziem doboru protokołu | 2,4 | (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400 |
| | | | 4,0 | (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000 |

Osocze można przygotować przy użyciu (A) standardowego protokołu podwójnego wirowania lub (B) protokołu przeznaczonego do pracy z próbką pierwotną umożliwiającego bezpośrednie przetwarzanie jednokrotnie odwirowanych próbek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) w aparacie QIASymphony SP.

A) Przygotowanie osocza z krwi — protokoły standardowe

1. Wirować próbkę PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) w temperaturze pokojowej (15–25°C) przez 15 minut przy 1600–3000 × g w wyważonej wirówce z wychylnym koszem. Jeśli preferowane jest wirowanie z hamowaniem, zalecane jest hamowanie przy średniej prędkości. Warunki takie należy zwalidować dla konkretnej procedury.

Uwaga: Aby zapewnić wysoką wydajność dla próbek przechowywanych przed wirowaniem w chłodziarce, przed rozpoczęciem przetwarzania należy poczekać, aż próbki osiągną temperaturę pokojową.

2. Za pomocą pipety przenieść osocze do stożkowej próbki wirówkowej o pojemności 15 ml (niedostarczona), uważając, aby nie naruszyć frakcji jądrzastych komórek.
3. Wirować stożkową próbkę wirówkową o pojemności 15 ml przez 10 minut w temperaturze pokojowej (15–25°C) przy 1600–3000 × g w wyważonej wirówce.

Uwaga: Nie przekraczać maksymalnej prędkości wirowania zalecanej przez producenta próbki wtórnej.

4. Za pomocą pipety przenieść wymaganą objętość osocza (patrz część „Objętość próbki” na stronie 6) do próbki polistyrenowej z okrągłym dnem o pojemności 14 ml, 17 x 100 mm, uważając, aby nie naruszyć resztkowego osadu zawierającego komórki krwi, jeśli jest on obecny.
5. Przenieść próbkę z okrągłym dnem zawierającą próbkę osocza do nośnika próbek, a następnie załadować nośnik próbek do wejściowej szuflady na próbki aparatu QIASymphony SP.

Uwaga: Aby zapewnić maksymalny uzysk ccfDNA, należy przetworzyć maksymalną dostępną objętość osocza.

Uwaga: Nie dopuszczać do wytworzenia piany w próbkach osocza lub na ich powierzchni. Piana lub pęcherzyki powietrza na powierzchni próbek mogą spowodować pobranie nieprawidłowej objętości próbki za pomocą pipety.

Uwaga: Po pobraniu i odwirowaniu krwi osocze można przechowywać w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 7 dni. W celu długoterminowego przechowywania zalecane jest zamrożenie porcji próbek.

Uwaga: W przypadku używania przechowywanych uprzednio próbek osocza (np. przechowywanych w temperaturze 2–8°C lub zamrożonych w temperaturze –20 lub –70°C/–80°C) przed rozpoczęciem przetwarzania należy poczekać, aż osiągną temperaturę pokojową (15–25°C).

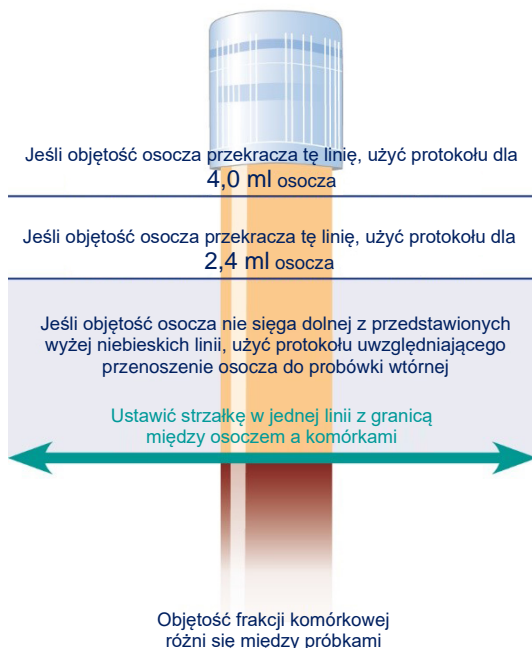
B) Przygotowanie osocza z krwi — praca z probówką pierwotną w aparacie QIASymphony SP

1. Wirować probówkę PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) w temperaturze pokojowej (15–25°C) przez 15 min przy 3000 × g w wyważonej wirówce z wychylnym koszem. Jeśli preferowane jest wirowanie z hamowaniem, zalecane jest hamowanie przy średniej prędkości. Warunki takie należy zwalidować dla konkretnej procedury.

Uwaga: Aby zapewnić wysoką wydajność dla próbek przechowywanych przed wirowaniem w chłodziarce, przed rozpoczęciem przetwarzania należy poczekać, aż próbki osiągną temperaturę pokojową.

2. Po wyjęciu próbek z kosza wirówki oznaczyć objętość osocza w każdej probówce przy użyciu narzędzia umożliwiającego dobór odpowiedniego protokołu oczyszczania ccfDNA z krwi PAXgene dostarczanego z zestawem (Ryc. 1). Po wyjęciu próbki z wirówki należy ustawić zielononiebieską strzałkę widoczną na narzędziu w jednej linii z granicą między osoczem a komórkami. Niebieskie linie wskazują, czy objętość osocza jest odpowiednia do protokołu pracy z probówką pierwotną dla próbki o objętości 2,4, czy 4,0 ml. Minimalna wysokość słupa osocza w przypadku protokołu dla próbek o objętości 2,4 ml wynosi 2,3 cm, a w przypadku protokołu dla próbek o objętości 4,0 ml wynosi 3,4 cm.

Wybrać protokół optymalny do przetworzenia probówek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) bezpośrednio w aparacie QIASymphony SP



Ryc. 1. Określanie objętości osocza przy użyciu narzędzia umożliwiającego dobór odpowiedniego protokołu oczyszczania ccfDNA z krwi PAXgene (Ryc. przeznaczona wyłącznie do celów ilustracyjnych; nie należy jej drukować, gdyż nie odpowiada ona rzeczywistym wymiarom — nie używać do próbek).

Uwaga: Jeśli nie nastąpiło wyraźne oddzielenie frakcji osocza od frakcji komórkowej lub doszło do przypadkowego wymieszania faz po wyjęciu probówki z wirówki, należy powtórzyć wirowanie.

3. Przed umieszczeniem probówek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) w aparacie QIASymphony SP w celu bezpośredniej izolacji ccfDNA należy zdjąć z nich zatyczki Hemogard.
4. Umieścić otwarte probówki PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) zawierające wystarczające objętości osocza w nośniku probówek, a następnie załadować nośnik probówek do wejściowej szuflady na próbki aparatu QIASymphony SP.

Objętość próbki

Aby zagwarantować przeniesienie przez aparat odpowiednich objętości próbek, 2,4 ml (protokół PAXcircDNA_2400) i 4,8 ml (protokół PAXcircDNA_4800) w ramach standardowego przetwarzania, wymagane jest uwzględnienie objętości martwych, odpowiednio 0,4 i 0,5 ml — oznacza to, że wejściowa objętość próbki musi wynosić co najmniej 2,8 lub 5,3 ml. Jeśli dostępne objętości osocza są mniejsze niż 2,8 lub 5,3 ml, tryb **Less Sample** (Mniejsza objętość próbki), stanowiący integralną część protokołu, umożliwi przeniesienie mniejszych objętości próbek niż objętości wymienione. W takich przypadkach aparat przenosi mniejszą objętość próbki, a przeniesiona objętość jest dokumentowana w pliku wynikowym. Dodatkowo próbki takie są oznaczane flagą **niejasna** (kod błędu: 140043, **Enable Less Sample mode** (Włącz tryb mniejszej objętości próbki)). Minimalne wejściowe objętości próbek osocza, przy których można włączyć tryb **Less Sample** (Mniejsza objętość próbki) to 1,6 ml (protokół PAXcircDNA 2400) i 4,1 ml (protokół PAXcircDNA 4800). Jeśli objętość próbki jest mniejsza, próbki nie zostaną przetworzone i zostaną oznaczone flagą **nieważna**. W przypadku protokołów przeznaczonych do pracy z probówkami pierwotnymi odpowiednia objętość próbki jest gwarantowana przy użyciu narzędzia umożliwiającego dobór odpowiedniego protokołu oczyszczania ccfDNA z krwi PAXgene dostarczanego z zestawem, opisanego w części „B) Przygotowanie osocza z krwi — praca z probówką pierwotną w aparacie QIASymphony SP” na stronie 4.

Szuflada „Sample” (Próbka)

Tabela 2. Informacje dotyczące konfiguracji szuflady próbek*

| | |
|--|---|
| Typ próbki | Ludzkie osocze otrzymane z żyłnej krwi pełnej pobranej do probówek PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) |
| Wejściowa objętość próbki (w tym objętość martwa) | 2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Patrz narzędzie umożliwiające dobór odpowiedniego protokołu oczyszczania ccfDNA z krwi PAXgene (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Patrz narzędzie umożliwiające dobór odpowiedniego protokołu oczyszczania ccfDNA z krwi PAXgene (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000) |
| Probówki pierwotne | Probówka PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) o pojemności 10 ml, 16 x 100 mm (BD™, nr kat. 768165) |
| Probówki wtórne | Probówki polistyrenowe z okrągłym dnem o pojemności 14 ml, 17 x 100 mm (Corning®, nr kat. 352051) |
| Wkłady | nd. |
| Inne | Wymagana proteinaza K w probówkach polistyrenowych z okrągłym dnem o pojemności 14 ml, 17 x 100 mm (Corning, nr kat. 352051); używać wyłącznie pozycji 1 i 2 w nośniku probówek (gniazdo A) |

* Patrz również lista sprzętu laboratoryjnego na karcie Product Resources (Zasoby dotyczące produktu) pod adresem www.qiagen.com.

nd. = nie dotyczy

Probówki przeznaczone do nośnika probówek

Tabela 3. Informacje dotyczące konfiguracji nośnika probówek*

| Nazwa na ekranie dotykowym | Dostawca | Materiał | Przykładowy nr kat. | Wkład | PAXcirc DNA_2400 | PAXcirc DNA_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 | Wkład nie jest wymagany | 2,8 ml [‡] 1,6 ml [§] (funkcja Enable Less Sample mode (Włącz tryb mniejszej objętości próbki)) | 5,3 ml [‡] 4,1 ml [§] (funkcja Enable Less Sample mode (Włącz tryb mniejszej objętości próbki)) | nd. | nd. |
| BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100 | BD | 10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm | 768165 | Wkład nie jest wymagany | nd. | nd. | Patrz narzędzie umożliwiające dobór odpowiedniego protokołu oczyszczania ccfDNA z krwi PAXgene | |

* Patrz również lista sprzętu laboratoryjnego na karcie Product Resources (Zasoby dotyczące produktu) pod adresem www.qiagen.com.

[†] Poprzednim dostawcą produktu była firma BD.

[‡] Minimalna objętość próbki wymagana na próbkę na protokół (w tym objętość martwa); możliwe wykrycie skrzepu.

[§] Minimalna objętość próbki obniżona przy użyciu funkcji **Enable Less Sample mode** (Włącz tryb mniejszej objętości próbki). Funkcję **Enable Less Sample mode** (Włącz tryb mniejszej objętości próbki) zaprojektowano w taki sposób, aby umożliwić wykorzystanie całej dostępnej objętości płynu, a przy tym także wykrycie poziomu płynu i wykrycie skrzepu. Użycie funkcji **Enable Less Sample mode** (Włącz tryb mniejszej objętości próbki) powoduje oznaczenie próbek flagą **niejasna**.

nd. = nie dotyczy

Szuflada „Reagents and Consumables” (Odczynniki i materiały eksploatacyjne)

| | |
|---|--|
| Pozycja A1 i/lub A2 | Kaseta z odczynnikami |
| Pozycja B1 | nd. |
| Uchwyt na statyw na końcówki 1–17 | Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 µl lub 1500 µl |
| Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4 | Opakowania jednostkowe zawierające kasety do przygotowania próbek lub zamknięcia 8-Rod Cover |

nd. = nie dotyczy.

Szuflada „Waste” (Odpady)

| | |
|---|------------------------------|
| Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4 | Puste opakowania jednostkowe |
| Uchwyt na worek na odpady | Worek na odpady |
| Uchwyt na butlę na odpady płynne | Pusta butla na odpady płynne |

Szuflada „Eluate” (Eluat)

| Dostawca | Materiał | Przykładowy nr kat. | Kategoria | Nazwa na ekranie dotykowym | Adapter w gnieździe elucji 1 (chłodzonym) |
|------------|---|--|---|--|---|
| QIAGEN | Elution Microtubes CL 96 | Produkt dostarczany z zestawem (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#E1415-22310* T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS, 24-wells, cat. no. 9020674 (gniazdo chłodzenia 1) |
| | | | | SL#E1415-2231** T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS (gniazdo chłodzenia 1) |
| | | | | SL#E1415-2231 T1.5 Screw | 1.5/2.0 ml QS (gniazda bez chłodzenia 2-4) |

* Oznacza sprzęt laboratoryjny, który można schłodzić za pomocą adaptera chłodzącego z kodem kreskowym (przenośny i możliwy do stosowania w aparacie QIASymphony AS).

** Oznacza sprzęt laboratoryjny, który można schłodzić za pomocą adaptera chłodzącego bez kodu kreskowego (nieprzenośny i ni nadający się do stosowania w aparacie QIASymphony AS).

Wymagany sprzęt z tworzywa sztucznego

| Sprzęt z tworzywa sztucznego | PAXcircDNA_2400 | | PAXcircDNA_4800 | |
|---|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | PAXcircDNA PrimaryTube_2400 | | PAXcircDNA PrimaryTube_4000 | |
| | Jedna partia, 24 próbki* | Dwie partie, 48 próbek* | Jedna partia, 24 próbki* | Dwie partie, 48 próbek* |
| 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 |
| | Trzy partie, 72 próbki* | Cztery partie, 96 próbek* | Trzy partie, 72 próbki* | Cztery partie, 96 próbek* |
| 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 |

* W przypadku używania mniej niż 24 próbek na jedną partię zmniejsza się liczba jednorazowych końcówek z filtrem wymaganych na cykl. Do przeprowadzenia więcej niż jednego skanowania inwentaryzującego wymagane są dodatkowe jednorazowe końcówki z filtrem.

[†] Statyw na końcówki z filtrem zawiera 32 końcówki z filtrem.

[‡] Liczba wymaganych końcówek z filtrem obejmuje końcówki z filtrem dla 1 skanowania inwentaryzującego na kasetę z odczytnikami.

[§] Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kaset do przygotowania próbek.

[¶] Opakowanie jednostkowe zawiera dwanaście zamknięć 8-Rod Cover.

Uwaga: Podane liczby końcówek z filtrem mogą różnić się od liczb wyświetlanych na ekranie dotykowym w zależności od ustawień. Zalecamy załadowanie maksymalnej możliwej liczby końcówek.

Objętość elucji

| Wybrana objętość elucji (µl)* | Początkowa objętość elucji (µl) [†] |
|-------------------------------|--|
| 60 | 75 |

* Jest to minimalna dostępna objętość eluatu w końcowej probówce elucji dla statywu QIAGEN EMT (nr kat. 19588) i probówek z nakrętką Sarstedt o pojemności 1,5 ml (nr kat. 72.607). W niektórych przypadkach końcowa objętość eluatu dla pojedynczych próbek może wynosić 5 µl lub mniej.

[†] Początkowa objętość buforu do elucji wymagana do zapewnienia właściwej objętości eluatu jest równa wcześniej wybranej wartości.

Przygotowanie proteiny K w pozycji 1 (i w razie potrzeby w pozycji 2) gniazda A

Zestaw QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) zawiera roztwór proteiny K gotowy do użycia. Roztwór proteiny K można przechowywać w temperaturze pokojowej (15–25°C). W celu przechowywania długoterminowego zalecane jest przeniesienie fiolek z enzymem, proteiną K, do temperatury 2–8°C.

| Numer próbki | 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† |

* Wymagana objętość dla każdej próbki to 110 µl (w przypadku 2400 µl osocza) lub 220 µl (w przypadku 4800/4000 µl osocza) oraz dodatkowa objętość martwa 1100 µl [(n x 110 lub 220 µl) + 1100 µl].

† Jeśli wymagana objętość przekracza 11 660 µl, należy użyć drugiej próbki (Corning, nr kat. 352051). W przypadku użycia drugiej próbki wymagane jest uwzględnienie dodatkowej objętości martwej 1100 µl.

Uwaga: Probówki zawierające proteinę K są umieszczane w nośniku probówek. Nośnik probówek zawierający proteinę K należy umieścić w pozycji 1 i pozycji 2 gniazda A szuflady „Sample” (Próbka). W przypadku proteiny K zalecane jest używanie probówek polistyrenowych z okrągłym dnem o pojemności 14 ml, 17 x 100 mm (Corning, nr kat. 352051).

Historia zmian

| Data | Zmiany |
|-------------|--|
| R1, 04/2021 | Pierwsze wydanie. |
| R2, 04/2021 | Znak „(CE 0123)” zapisany zwykłą czcionką zastąpiono znakiem w formacie zgodnym z wymogami określonymi w załączniku X do rozporządzenia IVDR |

Aktualne informacje licencyjne oraz dotyczące wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w odpowiedniej instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika zestawu QIAGEN. Instrukcje obsługi i podręczniki użytkownika zestawu QIAGEN są dostępne pod adresem www.qiagen.com. Można je także zamówić w serwisie technicznym lub u lokalnego dystrybutora firmy QIAGEN.

Znaki towarowe: 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). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały oznaczone jako zastrzeżone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

Składanie zamówień www.qiagen.com/shop | Pomoc techniczna support.qiagen.com | Strona WWW www.qiagen.com