

Travanj 2021.

Upute za uporabu instrumenta QIA Symphony[®] SP (list protokola)

Za komplet QIA Symphony PAXgene[®] Blood
ccfDNA Kit (CE-IVD) društva PreAnalytiX
i eprvetu PAXgene Blood ccfDNA Tube
(CE-IVD; **CE**⁰¹²³) društva PreAnalytiX

IVD protokoli za PAXgene Blood ccfDNA:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 i PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Opće informacije

Za in vitro dijagnostičku uporabu.

Komplet QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) za uporabu s instrumentom QIASymphony SP namijenjen je za automatiziranu izolaciju i pročišćenje slobodne cirkulirajuće DNK (circulating cell-free DNA, ccfDNA) iz plazme dobivene iz humane venske pune krvi prikupljene u epruvetu PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Postupak pročišćenja optimiran je za uporabu s plazmom dobivenom iz humane venske pune krvi prikupljene u epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). Upute o postupku prikupljanja krvi potražite u uputama za uporabu epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) na početnoj stranici proizvoda (www.PreAnalytiX.com).

Utvrđena su četiri različita protokola za automatiziranu izolaciju ccfDNA iz plazme dobivene iz humane venske pune krvi prikupljene u epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). U standardnim inačicama moguće je odabrati ulazne volumene uzoraka plazme od 2,4 ili 4,8 ml. Osim toga, protokoli za rukovanje primarnom epruvetom omogućavaju izravno postavljanje epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) na instrument QIASymphony SP. Protokoli za rukovanje primarnom epruvetom dostupni su za ulazne volumene uzoraka plazme od 2,4 ili 4,0 ml (pogledajte tablice na sljedećim stranicama).

Za svaki volumen plazme koji se upotrebljava za ekstrakciju ccfDNA potreban je odgovarajući ulazni volumen uzorka, uključujući prazan volumen, te odgovarajuća skripta protokola, kako je sažeto u tablici 1.

Tablica 1. Općenite informacije o uporabi kompleta QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

Materijal uzorka	Humana plazma dobivena iz venske pune krvi prikupljene u epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)			
Komplet	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, kat. br. 768566			
Inačica softvera	Inačica 5.0 ili novija			
Protokoli	Linija protokola	Ulazni volumen uzorka (uklj. prazan volumen) (ml)	Volumen uzorka koji se upotrebljava za ekstrakciju ccfDNA (ml)	(Assay Control_) Naziv protokola
	Standardno	2,8	2,4	(ACS_) PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	(ACS_) PAXcircDNA_4800
	Rukovanje primarnom epruvetom	u skladu s alatom za odabir	2,4	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Priprema plazme može se obavljati primjenom (A) standardnog protokola dvostrukog centrifugiranja ili (B) rukovanjem primarnom epruветom: izravna obrada jednokratnih pojedinačno centrifugiranih epruветa PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) na instrumentu QIASymphony SP.

A) Priprema plazme iz krvi za standardne protokole

1. Centrifugirajte epruветu PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C) u trajanju od 15 minuta pri 1600 – 3000 × g primjenom ravnomjerno opterećene centrifuge s njišućim vjedrima. Ako više preferirate koćenje, preporučuje se primjena koćenja srednje razine koje je odobreno za vaš specifičan tijek rada.

Napomena: za najbolji radni učinak uzoraka pohranjenih u hladnjaku prije centrifugiranja, ostavite epruветe da prije obrade dosegnu sobnu temperaturu.

2. Pipetirajte plazmu u epruветu za centrifugiranje s konusnim dnom i volumenom od 15 ml (nije isporučena), pazeći pritom da ne ometate frakciju nukleiranih stanica.
3. Centrifugirajte epruветu za centrifugiranje s konusnim dnom i volumenom od 15 ml u trajanju od 10 minuta na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C) pri 1600 – 3000 × g primjenom ravnomjerno opterećene centrifuge.

Napomena: ne prelazite maksimalnu brzinu centrifugiranja koju je preporučio proizvođač sekundarne epruветe.

4. Pipetirajte željeni volumen plazme (pogledajte odjeljak „Volumen uzorka” na stranici 5) u polistirensku epruветu sa zaobljenim dnom od 14 ml, veličine 17 x 100 mm, pazeći pritom da ne ometate preostali talog krvnih stanica, ako je prisutan.
5. Prenesite epruветu sa zaobljenim dnom koji sadržava uzorak plazme u nosač epruветa i postavite nosač epruветa u ladicu za unos uzoraka na instrumentu QIASymphony SP.

Napomena: za maksimalan prinos ccfDNA obradite maksimalni volumen dostupne plazme.

Napomena: spriječite stvaranje pjene u uzorcima plazme ili na njima. Pjena ili mjehurići zraka na uzorcima mogu dovesti do pipetiranja pogrešnog volumena uzorka.

Napomena: nakon prikupljanja krvi i centrifugiranja, plazma se može pohraniti na 2 – 8 °C do 7 dana. Za dužu pohranu preporučujemo zamrzavanje alikvota.

Napomena: kada se upotrebljavaju prethodno pohranjeni uzorci plazme (npr. pohranjeni na 2 – 8 °C ili zamrznuti na -20 ili -70 °C/-80 °C), prije pokretanja postupka potrebno ih je izjednačiti sa sobnom temperaturom (15 – 25 °C).

B) Priprema plazme iz krvi za rukovanje primarnom epruветom na instrumentu QIASymphony SP

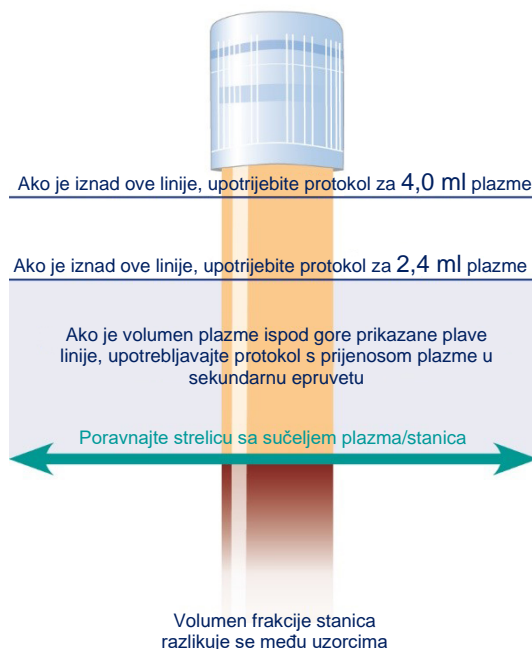
1. Centrifugirajte epruветu PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C) u trajanju od 15 minuta pri 3000 × g primjenom ravnomjerno opterećene centrifuge s njišućim vjedrima. Ako više preferirate koćenje, preporučuje se primjena koćenja srednje razine koje je odobreno za vaš specifičan tijek rada.

Napomena: za najbolji radni učinak uzoraka pohranjenih u hladnjaku prije centrifugiranja, ostavite epruветe da prije obrade dosegnu sobnu temperaturu.

2. Kvantificirajte volumen plazme u svakoj epruveti nakon uklanjanja iz vjedra centrifuge s pomoću alata PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool isporučenog u kompletu (slika 1). Nakon uklanjanja epruvete iz centrifuge, plavozelena strelica na alatu poravnata je sa sučeljem plazma/stanica. Plave linije označavaju je li razina plazme dovoljna za protokol rukovanja primarnom epruvetom od 2,4 ili 4,0 ml. Za protokol od 2,4 ml potrebna je minimalna visina kolone za plazmu u iznosu od 2,3 cm, a za protokol od 4,0 ml potrebna je minimalna visina kolone od 3,4 cm.



Optimalni protokol za obradu epruveta PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) odredite izravno na instrumentu QIASymphony SP



Slika 1. Određivanje volumena plazme s pomoću alata PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (služi samo za ilustraciju; nemojte ispisivati jer se stvarna veličina može razlikovati – nije za uporabu s uzorcima).

Napomena: u slučaju da nije došlo do jasne frakcije plazme ili stanica ili su se faze slučajno izmiješale nakon uklanjanja iz centrifuge, centrifugiranje je potrebno ponoviti.

3. Uklonite čep Hemogard s epruveta PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) prije postavljanja na instrument QIASymphony SP radi izravne ekstrakcije ccfDNA.
4. Otvorene epruvete PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) koje sadržavaju dovoljnu količinu plazme stavite na nosač epruveta te postavite nosač epruveta u ladicu za unos uzoraka na instrumentu QIASymphony SP.

Volumen uzorka

Kako biste se uvjerali da je instrument prenio uzorke uobičajenog tijeka rada od 2,4 ml (protokol PAXcircDNA_2400) i 4,8 ml (protokol PAXcircDNA_4800), potreban je prazan volumen od 0,4 odnosno 0,5 ml, što znači da se mora osigurati unos uzorka od minimalno 2,8 i 5,3 ml. U slučaju da su dostupni volumeni plazme manji od 2,8 i 5,3 ml, **način Less Sample** (Manji uzorak) kao sastavni dio funkcije protokola omogućava prijenos volumena plazme manjih od navedenog. U tom slučaju instrument prenosi manji uzorak, a preneseni volumen bilježi se u datoteku rezultata. Osim toga, odgovarajući uzorci označavaju se **nejasno** (kod pogreške 140043, **načina Enable Less Sample** (Omogući manji uzorak)). Minimalni ulazni volumeni plazme za omogućavanje **načina Less Sample** (Manji uzorak) iznose 1,6 ml (protokol PAXcircDNA 2400) i 4,1 ml (protokol PAXcircDNA 4800). Ako se isporučí manji volumen uzorka, uzorci se neće obraditi i bit će označeni **nevažéce**. Za tijek rada rukovanja primarnom epruветom odgovarajući volumen uzorka osigurava se primjenom alata PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool isporučenog u kompletu i opisanog u odjeljku „B) Priprema plazme iz krvi za rukovanje primarnom epruветom na instrumentu QIASymphony SP” na stranici 3.

Pretinac „Sample” (Uzorak)

Tablica 2. Informacije o postavljanju ladice za uzorak*

Vrsta uzorka	Humana plazma dobivena iz venske pune krvi prikupljene u epruветe PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)
Ulazni volumen uzorka (uklj. prazan volumen)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Pogledajte alat PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Pogledajte alat PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Primarne epruветe za uzorke	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm (BD™, kat. br. 768165)
Sekundarne epruветe za uzorke	Polistirenske epruветe sa zaobljenim dnom od 14 ml veličine 17 x 100 mm (Corning®, kat. br. 352051)
Umeci	N/P
Ostalo	Proteinaza K potrebna u polistirenskim epruветama sa zaobljenim dnom od 14 ml veličine 17 x 100 mm (Corning, kat. br. 352051); upotrebljavajte samo pozicije 1 i 2 nosača uzoraka (za utor A)

* Pogledajte i Popis laboratorijskih proizvoda dostupan na kartici Product Resources (Resursi za proizvod) na web-mjestu www.qiagen.com.

N/P, nije primjenjivo.

Epruvete s uzorkom za nosač epruveta

Tablica 3. Informacije o postavljanju nosača uzoraka*

Naziv na zaslonu osjetljivom na dodir	Dobavljač	Materijal	Primjer kat. br.	Umetak	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	Nije potreban umetak	2,8 ml [‡]	5,3 ml [‡]	N/P	N/P
					1,6 ml [§] (Način Enable Less Sample (Omogući manji uzorak))	4,1 ml [§] (Način Enable Less Sample (Omogući manji uzorak))		
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm	768165	Nije potreban umetak	N/P	N/P	Pogledajte alat PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

* Pogledajte i Popis laboratorijskih proizvoda dostupan na kartici Product Resources (Resursi za proizvod) na web-mjestu www.qiagen.com.

[†] Prethodno isporučivala tvrtka BD.

[‡] Minimalni volumen uzorka potreban po uzorku i protokolu (uključujući prazan volumen); moguća detekcija ugruška.

[§] Minimalni volumen uzorka smanjen s pomoću **načina Enable Less Sample** (Omogući manji uzorak). **Način Enable Less Sample** (Omogući manji uzorak) osmišljen je za uporabu svih dostupnih tekućina u kombinaciji s detekcijom razine tekućine i detekcijom ugrušaka. **Način Enable Less Sample** (Omogući manji uzorak) dovodi do označavanja uzoraka **nejasno**.

N/P, nije primjenjivo.

Pretinac „Reagents and Consumables” (Reagensi i potrošni materijal)

Pozicija A1 i/ili A2	Uložak reagensa
Pozicija B1	N/P
Držać nosača vršaka 1 – 17	Jednokratni vršci filtara, 200 µl ili 1500 µl
Držać kutije jedinice 1 – 4	Kutije jedinica koje sadržavaju uloške za pripremu uzoraka ili poklopce 8-Rod Covers

N/P = nije primjenjivo.

Pretinac „Waste” (Otpad)

Držać kutije jedinice 1 – 4	Prazne kutije jedinica
Držać vrećice za otpad	Vrećica za otpad
Držać boce za tekući otpad	Prazna boca za tekući otpad

Pretinac „Eluate” (Eluat)

Dobavljač	Materijal	Primjer kat. br.	Kategorija	Naziv na zaslonu osjetljivom na dodir	Adapter na utoru za eluciju 1 (rashlađeni)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Isporučuje se s kompletom (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. br. 9020674 (rashladni utor 1)
				SL#E1415-2231** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (rashladni utor 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1.5/2.0 ml QS (utori 2 – 4 nisu rashladni)

* Označava laboratorijske proizvode koji se mogu hladiti s pomoću adaptera za hlađenje s crtičnim kodom (može se prenositi i upotrebljavati na instrumentu QIASymphony AS).

** Označava laboratorijske proizvode koji se mogu hladiti s pomoću adaptera za hlađenje bez crtičnog koda (ne može se prenositi i upotrebljavati na instrumentu QIASymphony AS).

Potreban plastični pribor

Plastični pribor	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Jedna serija, 24 uzorka*	Dvije serije, 48 uzorka*	Jedna serija, 24 uzorka*	Dvije serije, 48 uzorka*
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
	Tri serije, 72 uzorka*	Četiri serije, 96 uzorka*	Tri serije, 72 uzorka*	Četiri serije, 96 uzorka*
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

* Upotrebom manje od 24 uzorka po seriji smanjuje se broj jednokratnih vršaka filtara koji su potrebni po postupku. Za provedbu više od jednog skeniranja uzoraka neophodni su dodatni jednokratni vršci filtara.

† Na nosaču vršaka filtara nalaze se 32 vrška filtara.

‡ Broj potrebnih vršaka filtara uključuje vrške filtara za 1 skeniranje uzoraka po uložku reagensa.

§ Jedinica kutije sadržava 28 uložaka za pripremu uzoraka.

¶ Jedinica kutije sadržava dvanaest poklopaca 8-Rod Covers.

Napomena: Navedeni brojevi vršaka filtara mogu se razlikovati od brojeva prikazanih na zaslону osjetljivom na dodir ovisno o postavkama. Mi preporučujemo punjenje najvišeg mogućeg broja vršaka.

Volumen elucije

Odabrani volumen elucije (µl)*	Početni volumen elucije (µl)†
60	75

* To je minimalni dostupni volumen eluata u epruveti za konačnu eluciju za stalak QIAGEN EMT rack (kat. br. 19588) i epruvete 1,5 ml Sarstedt screw cap tubes (kat. br. 72.607). U pojedinim slučajevima volumen konačnog eluata za pojedinačne uzorke može biti i do 5 µl manji.

† Početni volumen pufera za eluciju potreban kako bi se osiguralo da je stvarni volumen eluata jednak odabranom volumenu.

Priprema proteinaze K na poziciji 1 (i na poziciji 2, ako je to potrebno) utora A

Komplet QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) sadržava otopinu proteinaze K spremnu za uporabu. Proteinaza K može se pohraniti na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C). Za pohranu tijekom duljeg vremenskog razdoblja preporučujemo čuvanje enzimskih bočica s proteinazom K na temperaturi od 2 – 8 °C.

Broj uzorka	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†

* Za svaki uzorak potrebno je 110 µl (za 2400 µl plazme) ili 220 µl (za 4800/4000 µl plazme), plus dodatan prazan volumen od 1100 µl [(n x 110 ili 220 µl) + 1100 µl].

† Ako je potrebno više od 11.660 µl, upotrijebite drugu epruvetu (Corning, kat. br. 352051). Za drugu je epruvetu potreban dodatan prazan volumen od 1100 µl.

Napomena: epruvete koje sadržavaju proteinazu K postavljaju se na nosač epruveta. Nosač epruveta s proteinazom K mora se postaviti na pozicije 1 i 2 u utoru A ladice „Sample” (Uzorak). Preporučujemo da za proteinazu K upotrebljavate polistirenske epruvete sa zaobljenim dnom od 14 ml veličine 17 x 100 mm (Corning, kat. br. 352051).

Povijest revizija

Datum	Izmjene
R1, 04/2021	Prvo izdanje.
R2, 04/2021	„(CE 0123)” u tekstu normalnog formata zamijenjen je tekstom u skladu sa zahtjevima projektiranja Priloga X. Uredbe o in vitro medicinskim proizvodima (IVDR).

Ažurirane informacije o licenciranju i izjave specifične za proizvod pogledajte u odgovarajućem priručniku za QIAGEN komplet ili priručniku za korisnika. Priručnici za QIAGEN komplete i priručnici za korisnika dostupni su na www.qiagen.com ili ih možete zatražiti od tehničke službe tvrtke QIAGEN ili svojeg lokalnog distributera.

Zaštitni znakovi: 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). Registrirani nazivi, zaštitni znakovi itd. upotrijebljeni u ovom dokumentu, čak i ako nisu specifično označeni kao takvi, ne smiju se smatrati zakonski nezaštićenim.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, sva prava pridržana.

Narudžbe www.qiagen.com/shop | Tehnička podrška support.qiagen.com | Internetska stranica www.qiagen.com