

Μάρτιος 2017

Οδηγίες χρήσης ΚΙΤ QIAAsymphony[®] DSP Circulating DNA (Εγχειρίδιο)



192

Έκδοση 1



Για διαγνωστική χρήση in vitro



937556



QIAGEN GmbH,
QIAGEN Strasse 1,
40724 Hilden
GERMANIA



R2

1103177EL

Περιεχόμενα

Προβλεπόμενη χρήση	3
Περίληψη και επεξήγηση.....	3
Αρχές της διαδικασίας	4
Υλικά που παρέχονται	7
Περιεχόμενα του κιτ	7
Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται	8
Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις	10
Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων	13
Συστατικά του κιτ	13
Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων.....	14
Διαδικασία.....	15
Αυτοματοποιημένος καθαρισμός στο QIASymphony SP	15
Πρωτόκολλο: Καθαρισμός του κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων.....	23
Ποιοτικός έλεγχος	25
Περιορισμοί	26
Σύμβολα	26
Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων.....	29
Παράρτημα: Ποσοτικοποίηση του κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων	33
Πληροφορίες παραγγελίας	34

Προβλεπόμενη χρήση

Το κιτ QIASymphony DSP Circulating DNA χρησιμοποιεί τεχνολογία μαγνητικών σωματιδίων για την αυτοματοποιημένη απομόνωση και καθαρισμό ανθρώπινου κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων από βιολογικά δείγματα.

Το προϊόν προορίζεται για χρήση από επαγγελματίες, όπως τεχνολόγους και ιατρούς που έχουν εκπαιδευθεί σε τεχνικές μοριακής βιολογίας.

Το κιτ QIASymphony DSP Circulating DNA προορίζεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Περίληψη και επεξήγηση

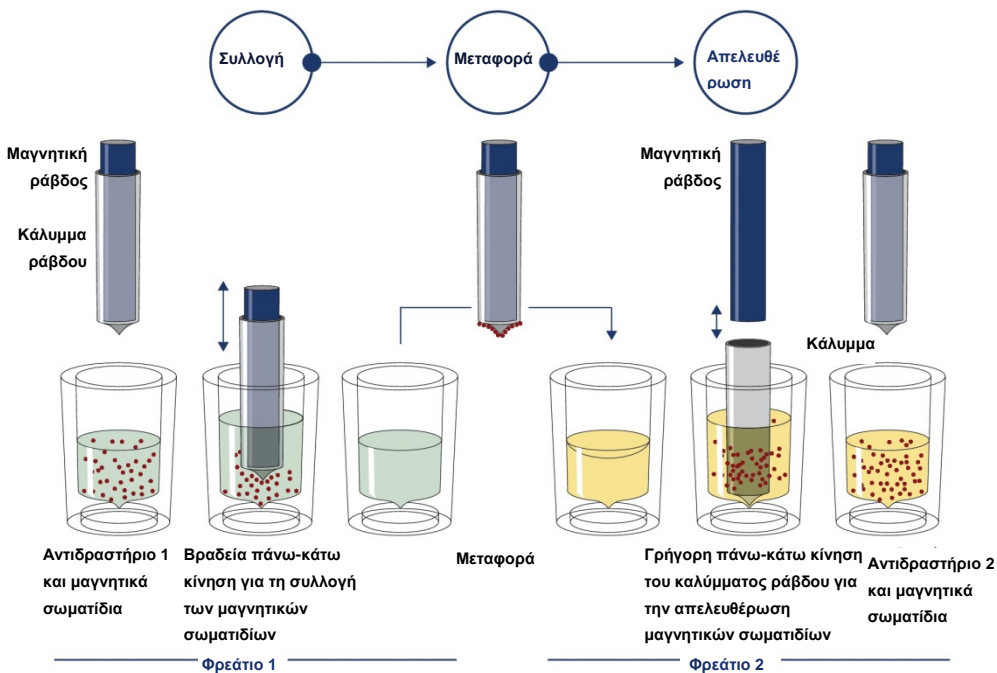
Τα κυκλοφορούντα νουκλεϊκά οξέα ελεύθερα κυττάρων (ccfDNAs) είναι παρόντα στο πλάσμα ή στα ούρα συνήθως ως μικρά θραύσματα, <1.000 bp (DNA) <1.000 nt (RNA), ή τόσο μικρά όσο 20 nt (miRNAs). Η συγκέντρωση των κυκλοφορούντων νουκλεϊκών οξέων ελεύθερων κυττάρων στα βιολογικά υγρά όπως το πλάσμα ή τα ούρα είναι συνήθως χαμηλή και ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των ατόμων. Για το ccfDNA, η συγκέντρωση μπορεί να κυμαίνεται από 1–100 ng/ml. Το σύστημα QIASymphony DSP Circulating DNA αποτελεί ένα έτοιμο για χρήση σύστημα *in vitro* για τον ποιοτικό καθαρισμό του ανθρώπινου κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων από ανθρώπινο πλάσμα και ούρα χρησιμοποιώντας το όργανο QIASymphony SP.

Το κιτ QIASymphony DSP Circulating DNA παρέχει αντιδραστήρια για τον πλήρως αυτοματοποιημένο και ταυτόχρονο καθαρισμό του ανθρώπινου ccfDNA από βιολογικά δείγματα. Δεν έχει τεκμηριωθεί ένα χαρακτηριστικό απόδοσης για κάθε σωληνάριο συλλογής αίματος και πρέπει να επικυρωθεί από τον χρήστη. Η τεχνολογία μαγνητικών σωματιδίων παρέχει τη δυνατότητα καθαρισμού νουκλεϊκών οξέων υψηλής ποιότητας που είναι ελεύθερα πρωτεϊνών, νουκλεασών και άλλων προσμείξεων. Το καθαρισμένο ccfDNA είναι συμβατό με ένα ευρύ φάσμα καθοδικών (downstream) εφαρμογών. Το QIASymphony SP εκτελεί όλα

τα βήματα της διαδικασίας καθαρισμού. Σε μία μόνο εκτέλεση υποβάλλονται σε επεξεργασία έως και 96 δείγματα, σε παρτίδες των 24. Τα δείγματα ούρων μπορεί να απαιτούν χειροκίνητη προκαταρκτική επεξεργασία δειγμάτων.

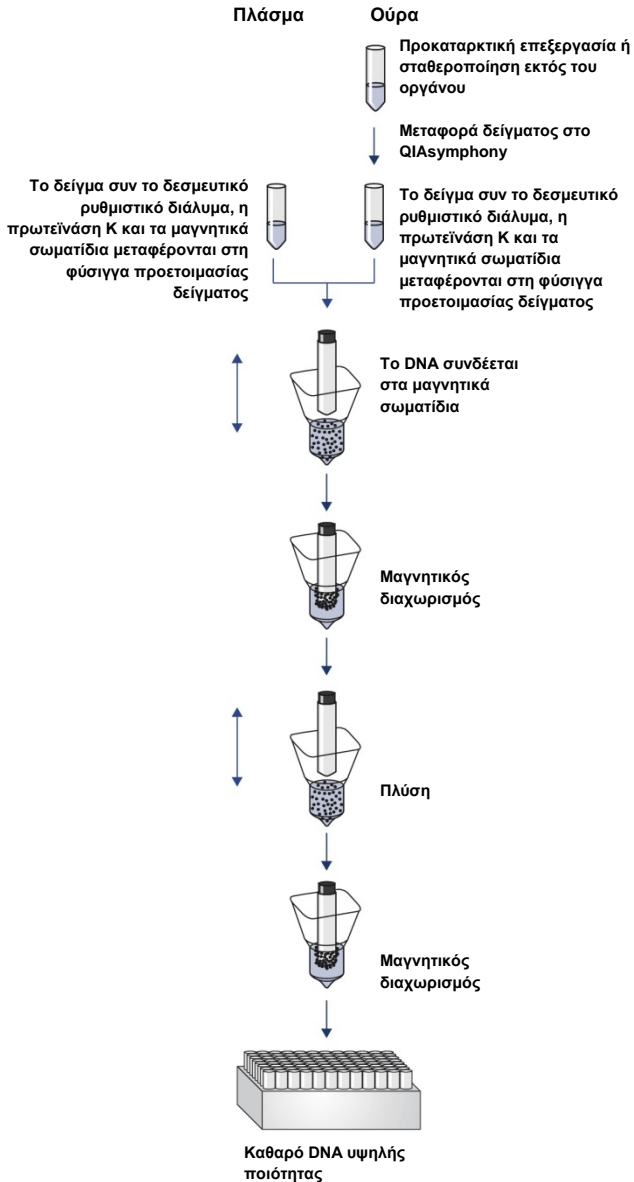
Αρχές της διαδικασίας

Η τεχνολογία QIASymphony συνδυάζει την ταχύτητα και την αποτελεσματικότητα του καθαρισμού νουκλεϊκών οξέων με βάση την ανταλλαγή ιόντων, με τον άνετο χειρισμό των μαγνητικών σωματιδίων (Εικόνα 1, παρακάτω). Η διαδικασία καθαρισμού έχει σχεδιαστεί για να διασφαλίζει τον ασφαλή και αναπαραγωγίμο χειρισμό δυνητικά μολυσματικών δειγμάτων και αποτελείται από 3 βήματα: σύνδεση, πλύση και έκλουση (βλ. το διάγραμμα ροής, σελίδα 6). Ο χρήστης μπορεί να επιλέξει μεταξύ διαφορετικών όγκων εισόδου δειγμάτων.



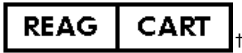
Εικόνα 1. Σχηματικό διάγραμμα της αρχής λειτουργίας του QIASymphony SP. Το QIASymphony SP επεξεργάζεται ένα δείγμα που περιέχει μαγνητικά σωματίδια ως εξής: Μία μαγνητική ράβδος, προστατευμένη με περιβλήμα, τοποθετείται σε φρεάτιο που περιέχει το δείγμα και προσελκύει τα μαγνητικά σωματίδια. Το περιβλήμα της μαγνητικής ράβδου τοποθετείται πάνω από ένα άλλο φρεάτιο και τα μαγνητικά σωματίδια ελευθερώνονται. Αυτά τα βήματα επαναλαμβάνονται αρκετές φορές κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των δειγμάτων. Το QIASymphony SP χρησιμοποιεί μία μαγνητική κεφαλή που περιέχει μία συστοιχία 24 μαγνητικών ράβδων και μπορεί επομένως να επεξεργάζεται έως και 24 δείγματα ταυτόχρονα.

Διαδικασία κυκλοφορούντος DNA QIAasymphony DSP



Υλικά που παρέχονται

Περιεχόμενα του kit

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		(192)
Αριθμός καταλόγου		937556
Αριθμός αντιδράσεων		192
	Ταυτότητα	Ποσότητα
RC	Reagent cartridge (Φύσιγγα αντιδραστηρίων)*	 †
PROTK	QIAGEN Proteinase K (Πρωτεϊνάση K της QIAGEN)	6 x 10 ml
PL	Piercing lid (Κάλυμμα διάτρησης)	2
RSS	Reuse Seal Set (Σετ σφράγισης για επαναληπτική χρήση)‡	2
	Οδηγίες χρήσης (Εγχειρίδιο)	1

* Περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

† Βλ. σελίδα 26 για έναν κατάλογο των συμβόλων και των ορισμών.

‡ Ένα σετ σφράγισης για επαναληπτική χρήση περιέχει 8 ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση.

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

Όταν εργάζεστε με χημικά θα πρέπει πάντοτε να φοράτε προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, παρακαλούμε ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (SDS), τα οποία είναι διαθέσιμα από τον προμηθευτή του προϊόντος.

Διασφαλίστε ότι τα όργανα έχουν ελεγχθεί και βαθμονομηθεί σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

- QIASymphony SP (αρ. καταλ. 9001297)
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (Φύσιγγες προετοιμασίας δείγματος, 8 φρεατίων) (αρ. καταλ. 997002)
- 8-Rod Covers (Καλύμματα 8 ράβδων) (αρ. καταλ. 997004)
- Filter-Tips (Ρύγχη φίλτρου), 200 μl και 1.500 μl (αρ. καταλ. 990332 και 997024)
- Σωληνάρια δειγμάτων. Για τις συμβατές μορφές των πρώτων και δεύτερων σωληναρίων, βλ. τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com.
- Σωληνάρια ή πλάκες έκλουσης. Για τις συμβατές μορφές των σωληναρίων και των πλακών έκλουσης, βλ. τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com.
- Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS, μπορεί να απαιτείται για τη συμπλήρωση των όγκων των δειγμάτων)
- Αναδευτήρας τύπου Vortex
- Buffer ATL (Ρυθμιστικό διάλυμα ATL) (για την προκαταρκτική επεξεργασία των δειγμάτων ούρων, αρ. καταλ. 939016)
- Για πρόσθετα υλικά που χρειάζονται για την προκαταρκτική επεξεργασία και τη σταθεροποίηση των δειγμάτων ούρων, παρακαλούμε ανατρέξτε στο φύλλο

πρωτοκόλλου που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο **www.qiagen.com**.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Για διαγνωστική χρήση in vitro

Διαβάστε όλες τις οδηγίες προσεκτικά προτού χρησιμοποιήσετε το κιτ.

Κατά την εργασία με χημικές ουσίες, θα πρέπει πάντοτε να φοράτε κατάλληλη ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες παρακαλείστε να ανατρέξετε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (SDS). Αυτά τα δελτία είναι διαθέσιμα online σε μορφή PDF στη διεύθυνση www.qiagen.com/safety όπου και μπορείτε να βρείτε, να προβάλετε και να εκτυπώσετε τα δελτία SDS για κάθε κιτ και συστατικό των κιτ της QIAGEN.

ΠΡΟΕΙΔΟΠ **Κίνδυνος τραυματισμού**

ΟΙΗΣΗ

Μην προσθέτετε διάλυμα χλωρίνης ή όξινα διαλύματα απευθείας στα απόβλητα προετοιμασίας δειγμάτων.



Τα ρυθμιστικά διαλύματα στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) περιέχουν αζίδιο του νατρίου. Εάν χυθούν ρυθμιστικά διαλύματα του κιτ, καθαρίστε με κατάλληλο απορρυπαντικό εργαστηρίου και νερό. Εάν το υγρό που χύθηκε περιέχει δυνητικά μολυσματικούς παράγοντες, καθαρίστε καταρχήν την προσβεβλημένη περιοχή με απορρυπαντικό εργαστηρίου και νερό, και κατόπιν με υποχλωριώδες νάτριο συγκέντρωσης 1% (v/v).

Οι ακόλουθες δηλώσεις κινδύνου και προφύλαξης ισχύουν για τα συστατικά του κιτ QIAsymphony DSP Circulating DNA.

MBS3

Περιέχει: Αζίδιο του νατρίου. Προειδοποίηση! Μπορεί να είναι επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή έναν γιατρό εάν αισθανθείτε αδιαθεσία.

Πρωτεΐνωση Κ



Περιέχει: Πρωτεΐνωση Κ. Κίνδυνος! Προκαλεί ήπιο ερεθισμό του δέρματος. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργία ή συμπτώματα άσθματος ή δύσπνοια σε περίπτωση εισπνοής. Αποφεύγετε να αναπνέετε σκόνη/ αναθυμιάσεις/ αέρια/ σταγονίδια/ ατμούς/ εκνεφώματα. Διάθεση του περιεχομένου/περιέκτη σε εγκεκριμένες εγκαταστάσεις διάθεσης απορριμμάτων. Εάν παρουσιάζονται αναπνευστικά συμπτώματα: Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Εάν ο παθών έχει δύσπνοια, μεταφέρετέ τον στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Φοράτε μέσα ατομικής προστασίας της αναπνοής.

QSE2



Κίνδυνος! Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Διάθεση του περιεχομένου/περιέκτη σε εγκεκριμένες εγκαταστάσεις διάθεσης απορριμμάτων. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Αφαιρέστε αμέσως όλα τα μολυσμένα ενδύματα. Ξεπλύνετε το δέρμα με νερό/στο ντους. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό. Φυλάσσεται κλειδωμένο. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια / πρόσωπο.

QSW9



Περιέχει: αιθανόλη. Κίνδυνος! Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό. Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα. Διάθεση του περιεχομένου/περιέκτη σε εγκεκριμένες εγκαταστάσεις διάθεσης απορριμμάτων. Εάν δεν υποχωρεί ο οφθαλμικός ερεθισμός: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό. Μακριά από θερμότητα/σπινθήρες/γυμνές φλόγες/θερμές επιφάνειες. - Μην καπνίζετε. Αποθηκεύεται σε καλά αεριζόμενο χώρο. Να διατηρείται δροσερό. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια / πρόσωπο.

Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων

Το kit QIASymphony DSP Circulating DNA θα πρέπει να φυλάσσεται σε όρθια θέση σε θερμοκρασία δωματίου (15–25°C). Τα μαγνητικά σωματίδια εντός των φυσίγγων αντιδραστηρίων (RC) παραμένουν ενεργά όταν φυλάσσονται σε αυτήν τη θερμοκρασία.

Σημείωση: Στην ετικέτα του κουτιού του kit QIASymphony DSP Circulating DNA αναγράφεται η ημερομηνία λήξης του kit. Το αρχείο αποτελεσμάτων αναγράφει μόνο τις ημερομηνίες λήξης της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC).

Μη χρησιμοποιείτε το kit QIASymphony DSP Circulating DNA μετά την ημερομηνία λήξης του.

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΚΙΤ

Το kit QIASymphony DSP Circulating DNA περιέχει έτοιμο για χρήση διάλυμα πρωτεΐνάσης K, το οποίο μπορεί να φυλαχθεί σε θερμοκρασία δωματίου.

Μη φυλάσσετε τις φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC) σε θερμοκρασίες κάτω των 15°C.

Οι μερικώς χρησιμοποιημένες φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC) μπορούν να φυλαχθούν για έως και 4 εβδομάδες. Η επανάχρηση των αντιδραστηρίων εξοικονομεί κόστος και προσφέρει μεγαλύτερη ευελιξία στην επεξεργασία δειγμάτων. Εάν μία φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) έχει χρησιμοποιηθεί μερικώς, αντικαταστήστε το καπάκι του περιέκτη μαγνητικών σωματιδίων, και σφραγίστε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) με τις παρεχόμενες ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση αμέσως μόλις ολοκληρωθεί η εκτέλεση του πρωτοκόλλου για την αποτροπή εξάτμισης.

Για την αποτροπή εξάτμισης αντιδραστηρίων, η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) θα πρέπει να παραμένει ανοιχτή για έως και 15 ώρες (συμπεριλαμβανομένων των χρόνων εκτέλεσης) σε

θερμοκρασία περιβάλλοντος που δεν υπερβαίνει τους 32°C. Η εσφαλμένη φύλαξη των συστατικών του kit μπορεί να οδηγήσει σε επιταχυνόμενη γήρανση των ρυθμιστικών διαλυμάτων.

Η εκτέλεση παρτίδων με μικρό αριθμό δειγμάτων (<24) πιθανώς θα αυξήσει τόσο τον χρόνο που η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) είναι ανοικτή όσο και τους απαιτούμενους όγκους ρυθμιστικού διαλύματος, μειώνοντας δυνητικά τον συνολικό εφικτό αριθμό προετοιμασιών δειγμάτων ανά φύσιγγα.

Αποφύγετε την έκθεση των φυσίγγων αντιδραστηρίων (RC) σε υπεριώδες φως (που χρησιμοποιείται π.χ. για την απολύμανση) διότι θα μπορούσε να επιταχυνθεί η φθορά των φυσίγγων αντιδραστηρίων (RC) και των ρυθμιστικών διαλυμάτων.

Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων

Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την αυτοματοποιημένη διαδικασία (συμπεριλαμβανομένων πληροφοριών σχετικά με σωληνάρια δειγμάτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν με συγκεκριμένα πρωτόκολλα) καθώς και με ειδικές προκαταρκτικές επεξεργασίες δειγμάτων, ανατρέξτε στο εκάστοτε σχετικό δελτίο πρωτοκόλλου που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com.

Διαδικασία

Αυτοματοποιημένος καθαρισμός στο QIAAsymphony SP

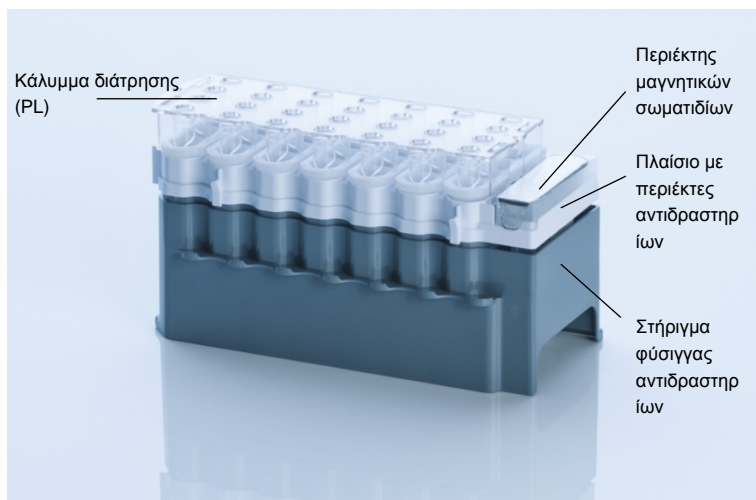
Το QIAAsymphony SP καθιστά την αυτοματοποιημένη προετοιμασία δειγμάτων μία άνετη και απλή διαδικασία. Τα δείγματα, τα αντιδραστήρια, τα αναλώσιμα και τα εκλούσματα τοποθετούνται χωριστά σε διαφορετικά συρτάρια. Απλώς φορτώστε τα δείγματα, τα αντιδραστήρια που παρέχονται στις ειδικές φύσιγγες και τα προτοποθετημένα αναλώσιμα στα κατάλληλα συρτάρια προτού ξεκινήσετε μία εκτέλεση. Ξεκινήστε το πρωτόκολλο και απομακρύνετε το καθαρισμένο DNA από το συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα). Για οδηγίες λειτουργίας ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που συνοδεύουν το όργανο.

Σημείωση: Η προαιρετική συντήρηση δεν είναι αναγκαία για τη λειτουργία του οργάνου, συνιστάται ωστόσο επισταμένως για τη μείωση του κινδύνου επιμόλυνσης.

Το εύρος των διαθέσιμων πρωτοκόλλων διευρύνεται διαρκώς και μπορείτε χωρίς χρέωση να κατεβάσετε πρόσθετα πρωτόκολλα της QIAGEN από την ιστοσελίδα www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Φόρτωση φυσιγγών αντιδραστηρίων (RC) στο συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Τα αντιδραστήρια για τον καθαρισμό του DNA περιέχονται σε μία καινοτομική φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) (Εικόνα 2, σελίδα 16). Κάθε περιέκτης της φύσιγγας αντιδραστηρίων(RC) περιέχει ένα συγκεκριμένο αντιδραστήριο, όπως μαγνητικά σωματίδια, δεσμευτικό ρυθμιστικό διάλυμα, ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης ή ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης. Οι μερικώς χρησιμοποιημένες φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC) μπορούν να σφραγιστούν ξανά με χρήση των ταινιών σφράγισης επαναληπτικής χρήσης (RSS) για μετέπειτα χρήση, αποτρέποντας έτσι την παραγωγή αποβλήτων από περίσσειες αντιδραστηρίων στο τέλος της διαδικασίας καθαρισμού.



Εικόνα 2. Φύσιγγα αντιδραστηρίων QIAAsymphony (RC). Η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) περιέχει όλα τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για την εκτέλεση του πρωτοκόλλου.

Πριν από την έναρξη της διαδικασίας, διασφαλίστε ότι τα μαγνητικά σωματίδια είναι πλήρως επανεναιωρημένα. Αφαιρέστε τον περιέκτη των μαγνητικών σωματιδίων από το πλαίσιο της φύσιγγας αντιδραστηρίων, αναδεύστε το έντονα σε αναδευτήρα vortex για τουλάχιστον 3 λεπτά και στη συνέχεια τοποθετήστε τον ξανά στο πλαίσιο της φύσιγγας αντιδραστηρίων πριν από την πρώτη χρήση.

Σημείωση: Τα μαγνητικά σωματίδια μπορεί να αλλάξουν χρώμα. Αυτό δεν έχει καμία επίδραση στην απόδοση.

Τοποθετήστε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) στο στήριγμα της φύσιγγας αντιδραστηρίων. Προτού χρησιμοποιήσετε μια φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) για πρώτη φορά, τοποθετήστε το κάλυμμα διάτρησης (PL) επάνω στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) (Εικόνα 2, παραπάνω).

Σημείωση: Το κάλυμμα διάτρησης (PL) είναι αιχμηρό. Να είστε προσεκτικοί κατά την τοποθέτησή του στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC). Βεβαιωθείτε πως το κάλυμμα διάτρησης

(PL) έχει τοποθετηθεί επάνω στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) με το σωστό προσανατολισμό.

Μετά την αφαίρεση περιέκτη των μαγνητικών σωματιδίων και το άνοιγμα των σωληναρίων του ραφίου ενζύμων, η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) φορτώνεται στο συρτάρι «Reagents and Consumables».

Οι μερικώς χρησιμοποιημένες φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC) μπορούν να φυλαχθούν έως την επόμενη χρήση τους (βλ. «Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων» σελίδα 13).

Σημείωση: Η πρωτεΐνωση K πρέπει να προστεθεί σύμφωνα με τις πληροφορίες που παρέχονται στο φύλλο πρωτοκόλλου κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com.

Σημείωση: Βεβαιωθείτε ότι οι φύσιγγες αντιδραστηρίων, οι περιέκτες μαγνητικών σωματιδίων και οι φιάλες πρωτεΐνωσης K δεν εναλλάσσονται μεταξύ διαφορετικών παρτίδων ΚΙΤ.

Φόρτωση πλαστικών υλικών στο συρτάρι «Reagents and Consumables»

Οι φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων, τα περιβλήματα 8 ράβδων (αμφότερα προτοποθετημένα σε κουτιά μονάδων) και τα αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου (ρύγχη των 200 μl σε μπλε θήκες, ρύγχη των 1.500 μl σε μαύρες θήκες) φορτώνονται στο συρτάρι «Reagents and Consumables».-

Σημείωση: Διασφαλίστε ότι τα καλύμματα των κουτιών μονάδων έχουν αφαιρεθεί πριν από την φόρτωση των κουτιών μονάδων στο συρτάρι «Reagents and Consumables».

Σημείωση: Τα ρύγχη διαθέτουν φίλτρα για τη μείωση του κινδύνου διασταυρούμενης μόλυνσης.

Οι υποδοχές των θηκών των φίλτρων στην τράπεζα εργασίας QIASymphony SP δέχονται και τους δύο τύπους θηκών φίλτρων. Κατά τη σάρωση υλικών, το QIASymphony SP θα αναγνωρίσει τον τύπο των ρυγχών που φορτώθηκαν κατά τη σάρωση υλικών.

Σημείωση: Μην επαναπληρώνετε τις θήκες ρυγχών ή τα κουτιά μονάδων για τις φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων ή τα περιβλήματα 8 ράβδων πριν από την έναρξη και άλλης εκτέλεσης πρωτοκόλλου. Το QIASymphony SP μπορεί να χρησιμοποιήσει μερικώς χρησιμοποιημένες θήκες ρυγχών και κουτιά μονάδων.

Για τα απαιτούμενα αναλώσιμα, βλ. το σχετικό φύλλο πρωτοκόλλου που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com. Για πληροφορίες παραγγελίας πλαστικών υλικών, βλ. σελίδα 34.

Φόρτωση του συρταριού «Waste» (Απόβλητα)

Οι φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων και τα περιβλήματα 8 ράβδων που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια μίας εκτέλεσης τοποθετούνται σε άδεια κουτιά μονάδων στο συρτάρι «Waste». Βεβαιωθείτε πως το συρτάρι «Waste» περιέχει επαρκή αριθμό άδειων κουτιών μονάδων για τα πλαστικά απόβλητα που συσσωρεύονται κατά την εκτέλεση του πρωτοκόλλου.

Σημείωση: Βεβαιωθείτε πως τα καλύμματα των κουτιών έχουν αφαιρεθεί πριν από την φόρτωση των κουτιών μονάδων στο συρτάρι «Waste». Εάν χρησιμοποιείτε κουτιά περιβλημάτων 8 ράβδων για τη συλλογή χρησιμοποιημένων φυσίγγων προετοιμασίας δειγμάτων και περιβλημάτων 8 ράβδων, βεβαιωθείτε πως έχει αφαιρεθεί το διαχωριστικό κουτιών.

Στην πρόσθια πλευρά του συρταριού «Waste» θα πρέπει να προσαρτηθεί σακούλα για τα μεταχειρισμένα ρύγχη φίλτρου.

Σημείωση: Το σύστημα δεν ελέγχει την παρουσία σακούλας απόρριψης ρυγχών. Βεβαιωθείτε πως η σακούλα απόρριψης ρυγχών έχει προσαρτηθεί σωστά προτού ξεκινήσετε μια εκτέλεση πρωτοκόλλου. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που συνοδεύουν το όργανο. Αδειάζετε τη σακούλα ρυγχών το αργότερο μετά από την επεξεργασία 96 δειγμάτων για την αποφυγή εμπλοκής των ρυγχών.

Ένας περιέκτης αποβλήτων συλλέγει τα υγρά απόβλητα που δημιουργούνται κατά τη διαδικασία καθαρισμού. Το συρτάρι «Waste» μπορεί να κλείσει μόνο εφόσον ο περιέκτης αποβλήτων βρίσκεται στη θέση του. Απορρίψτε τα υγρά απόβλητα σύμφωνα με τους εκάστοτε τοπικούς κανονισμούς ασφαλείας και προστασίας του περιβάλλοντος. Μην αποστειρώνετε σε αυτόκαυστο τη γεμάτη με απόβλητα φιάλη. Αδειάζετε τη φιάλη αποβλήτων το αργότερο μετά από την επεξεργασία 96 δειγμάτων.

Φόρτωση του συρταριού «Eluate»

Φορτώστε την απαιτούμενη θήκη έκλουσης στο συρτάρι «Eluate». Καθώς η μακροχρόνια φύλαξη εκλουσμάτων στο συρτάρι «Eluate» μπορεί να οδηγήσει σε εξάτμιση ή συμπύκνωση, πρέπει να χρησιμοποιείται η θέση ψύξης. Χρησιμοποιείτε μόνο το «Elution slot 1» (Υποδοχή έκλουσης 1) με τον αντίστοιχο προσαρμογέα ψύξης.

Σάρωση υλικού

Πριν από την έναρξη εκτελέσεων, το όργανο ελέγχει εάν έχουν φορτωθεί επαρκείς ποσότητες αναλώσιμων στα αντίστοιχα συρτάρια, για την/τις παρτίδα/-ες που πρόκειται να εκτελεστούν.

Προετοιμασία του δείγματος

Τα κιτ QIAsymphony DSP Circulating DNA είναι σχεδιασμένα για τον αυτοματοποιημένο καθαρισμό κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυτάρων από ανθρώπινο πλάσμα και ούρα (Πίνακας 1, σελίδα 21).

Αποφύγετε τη δημιουργία αφρού μέσα ή επάνω στα δείγματα. Αφρός επάνω στα δείγματα μπορεί να οδηγήσει στη μεταφορά με πιπέτα του λάθους όγκου δειγμάτων. Ανάλογα με το αρχικό υλικό, ίσως χρειαστεί προκαταρκτική επεξεργασία του δείγματος. Τα δείγματα θα πρέπει να αποκτούν θερμοκρασία περιβάλλοντος (15–25°C) πριν από την έναρξη της εκτέλεσης.

Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την αυτοματοποιημένη διαδικασία (συμπεριλαμβανομένων πληροφοριών σχετικά με σωληνάρια δειγμάτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν με συγκεκριμένα πρωτόκολλα) καθώς και με ειδικές προκαταρκτικές επεξεργασίες δειγμάτων, ανατρέξτε στο εκάστοτε σχετικό δελτίο πρωτοκόλλου που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com.

Φύλαξη του DNA

Μετά την προετοιμασία των δειγμάτων, τα εκλούσματα μπορούν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία 2–8°C για μέχρι 1 μήνα. Για μακροχρόνια αποθήκευση, τα εκλούσματα μπορούν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία –20°C ή σε θερμοκρασία –80°C. Τα κατεψυγμένα εκλούσματα δεν θα πρέπει να αποψυχθούν περισσότερες από τρεις φορές.

Επισκόπηση πρωτοκόλλου

Πίνακας 1. Επισκόπηση πρωτοκόλλου

Δείγμα	Όγκος δείγματος (μl)	Όγκος έκλουσης (μl)	Πρωτόκολλο QIAAsymphony SP
Πλάσμα, ούρα	2.000	60	circDNA_2000_DSP
	4.000	60	circDNA_4000_DSP

Σημαντικές υποδείξεις πριν από την έναρξη

- Διασφαλίστε ότι έχετε εξοικειωθεί με το χειρισμό του QIAAsymphony SP. Για οδηγίες λειτουργίας ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που συνοδεύουν το όργανο.
- Η προαιρετική συντήρηση δεν είναι αναγκαία για τη λειτουργία του οργάνου, συνιστάται ωστόσο επισταμένως για τη μείωση του κινδύνου επιμόλυνσης.
- Προτού ξεκινήσετε τη διαδικασία, διαβάστε την ενότητα «Αρχές της διαδικασίας», σελίδα 4.
- Διασφαλίστε ότι έχετε εξοικειωθεί με το φύλλο πρωτοκόλλου που αντιστοιχεί στη διαδικασία που θέλετε να χρησιμοποιήσετε. (Φύλλα πρωτοκόλλου μπορούν να βρεθούν κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com).
- Προσπαθήστε να αποφύγετε την έντονη ανακίνηση της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC), διότι ενδέχεται να σχηματιστεί αφρός, ο οποίος μπορεί να οδηγήσει σε προβλήματα ανίχνευσης της στάθμης υγρού.
- Προτού ξεκινήσετε μια προκαταρκτική επεξεργασία που απαιτεί ρυθμιστικό διάλυμα ATL, ελέγξτε εάν έχει σχηματιστεί ίζημα στο ρυθμιστικό διάλυμα ATL. Εάν χρειάζεται, διαλύστε το ίζημα με θέρμανση στους 70°C και ήπια ανάδευση σε λουτρό νερού. Αναρροφήστε φυσαλίδες από την επιφάνεια του ρυθμιστικού διαλύματος ATL.

Ενέργειες πριν από την έναρξη

- Πριν από την έναρξη της διαδικασίας, διασφαλίστε ότι τα μαγνητικά σωματίδια είναι πλήρως επανεναιωρημένα. Αναδεύστε σθεναρά τον περιέκτη που περιέχει τα μαγνητικά σωματίδια σε αναδευτήρα vortex για τουλάχιστον 3 λεπτά, πριν από την πρώτη χρήση.
- Βεβαιωθείτε πως το κάλυμμα διάτρησης έχει τοποθετηθεί επάνω στη φύσιγγα αντιδραστηρίων και πως το κάλυμμα του περιέκτη μαγνητικών σωματιδίων έχει αφαιρεθεί, ή, εάν χρησιμοποιείτε μία μερικώς χρησιμοποιημένη φύσιγγα αντιδραστηρίων, βεβαιωθείτε πως έχουν απομακρυνθεί οι ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση.
- Η πρωτεΐνωση Κ δεν περιλαμβάνεται στη φύσιγγα αντιδραστηρίων αλλά πρέπει να παρέχεται από τον χρήστη (συρτάρι δειγμάτων, υποδοχή Α, θέση 1 ή/και 2). Βεβαιωθείτε ότι είναι διαθέσιμος ο σωστός όγκος πρωτεΐνωσης Κ. (Για λεπτομερείς πληροφορίες, βλ. το φύλλο πρωτοκόλλου που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com).
- Εάν τα δείγματα φέρουν γραμμωτό κώδικα, προσανατολίστε τα δείγματα στο φορέα σωληναρίων με τρόπο που ο γραμμωτός κώδικας να είναι στραμμένος προς τον αναγνώστη γραμμωτού κώδικα στην αριστερή πλευρά του QIASymphony SP.
- Για πληροφορίες σχετικά με τα σωληνάρια δείγματος που είναι συμβατά με ένα ορισμένο πρωτόκολλο, βλ. τον αντίστοιχο κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com.
- Για πληροφορίες σχετικά με τους ελάχιστους όγκους δείγματος για τα δεύτερα σωληνάρια, βλ. τον αντίστοιχο κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com.

Πρωτόκολλο: Καθαρισμός του κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων

Ακολουθεί ένα γενικό πρωτόκολλο για τη χρήση των κιτ QIASymphony DSP. Λεπτομερείς πληροφορίες για κάθε πρωτόκολλο, συμπεριλαμβανομένων των όγκων και των σωληναρίων, παρέχονται στα φύλλα πρωτοκόλλου που μπορούν να βρεθούν κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com).

1. Κλείστε όλα τα συρτάρια και το κάλυμμα.
2. Ενεργοποιήστε το QIASymphony SP και περιμένετε έως ότου εμφανιστεί η οθόνη **Sample Preparation** (Προετοιμασία δειγμάτων) και ολοκληρωθεί η διαδικασία αρχικοποίησης.
Ο κεντρικός διακόπτης βρίσκεται στην αριστερή κάτω γωνία του QIASymphony SP.
3. Συνδεθείτε στο όργανο.
4. Φορτώστε την απαιτούμενη θήκη έκλουσης στο συρτάρι «Eluate».
Μη φορτώσετε μια πλάκα 96 φρεατίων στο «Elution slot 4» (Υποδοχή έκλουσης 4). Πρέπει να χρησιμοποιηθεί το «Elution slot 1» με τον αντίστοιχο προσαρμογέα ψύξης.
Εάν χρησιμοποιείτε πλάκα 96 φρεατίων, βεβαιωθείτε πως η πλάκα έχει προσανατολιστεί σωστά, καθώς η λανθασμένη τοποθέτηση μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένη διάταξη των δειγμάτων κατά την καθοδική ανάλυση.
Όταν χρησιμοποιείται το στατώ μικροσωληναρίων έκλουσης CL, αφαιρέστε τον πυθμένα περιστρέφοντας το στατώ μέχρι να αποσπασθεί ο πυθμένας.
5. Διασφαλίστε ότι έχει προετοιμαστεί σωστά το συρτάρι «Waste» και ξεκινήστε μία σάρωση υλικών για το συρτάρι «Waste», συμπεριλαμβανομένου του αγωγού ρυγχών και των υγρών αποβλήτων. Εάν χρειάζεται, αντικαταστήστε τη σακούλα απόρριψης ρυγχών.
6. Φορτώστε την απαιτούμενη φύσιγγα (ή φύσιγγες) αντιδραστηρίων και τα αντιδραστήρια στο συρτάρι «Reagents and Consumables».
7. Εκτελέστε μία σάρωση υλικού του συρταριού «Reagents and Consumables».

8. Τοποθετήστε τα δείγματα στον κατάλληλο φορέα δειγμάτων, και φορτώστε τα κατόπιν στο συρτάρι «Sample» (Δείγμα).

9. Από την οθόνη αφής καταχωρίστε τις απαιτούμενες πληροφορίες για κάθε παρτίδα δειγμάτων και για την πρωτεΐνωση K που πρόκειται να υποστούν επεξεργασία.

Καταχωρίστε τις εξής πληροφορίες:

- Πληροφορίες δειγμάτων (ανάλογα με τις χρησιμοποιούμενες θήκες δειγμάτων)
- Το πρωτόκολλο που πρόκειται να εκτελεστεί (Σετ μαρτύρων προσδιορισμού)
- Τον όγκο έκλουσης και τη θέση εξόδου

Μετά την καταχώριση των πληροφοριών για την παρτίδα, η κατάσταση αλλάζει από **LOADED** (Φορτώθηκε) σε **QUEUED** (Σε σειρά αναμονής). Μόλις μία παρτίδα μπει σε σειρά αναμονής, εμφανίζεται το πλήκτρο **Run** (Εκτέλεση).

10. Τοποθετήστε την πρωτεΐνωση K στον κατάλληλο φορέα δειγμάτων στη θέση 1 και 2, και φορτώστε τα κατόπιν στην υποδοχή A στο συρτάρι «Sample».

11. Καθορίστε την πρωτεΐνωση K πατώντας το κουμπί **IC**.

12. Πατήστε το κουμπί **Run** για να ξεκινήσετε τη διαδικασία καθαρισμού.

Όλα τα βήματα επεξεργασίας είναι πλήρως αυτοματοποιημένα. Μόλις ολοκληρωθεί η εκτέλεση του πρωτοκόλλου, η κατάσταση της παρτίδας αλλάζει από **RUNNING** (Εκτελείται) σε **COMPLETED** (Ολοκληρώθηκε).

13. Εξάγετε τη θήκη έκλουσης που περιέχει τα καθαρισμένα νουκλεϊκά οξέα από το συρτάρι «Eluate».

14. Το DNA είναι έτοιμο για χρήση ή μπορεί να αποθηκευθεί στους 2–8°C, –20°C ή –80°C.

Συνιστούμε την αφαίρεση της πλάκας εκλούσματος από το συρτάρι «Eluate» αμέσως μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης. Ανάλογα με τη θερμοκρασία και την υγρασία, οι πλάκες έκλουσης που παραμένουν στο QIASymphony SP μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης ενδέχεται να υποστούν συμπίκνωση ή εξάτμιση.

Γενικά, τα μαγνητικά σωματίδια δεν μεταφέρονται στα εκλούσματα. Σε περίπτωση μεταφοράς, τα μαγνητικά σωματίδια στα εκλούσματα δεν θα επηρεάσουν τις περισσότερες καθοδικές εφαρμογές.

Εάν τα μαγνητικά σωματίδια πρέπει να αφαιρεθούν πριν την εκτέλεση καθοδικών εφαρμογών, τα σωληνάρια ή οι πλάκες που περιέχουν εκλούσματα πρέπει πρώτα να τοποθετηθούν σε κατάλληλο μαγνήτη και τα εκλούσματα να μεταφερθούν σε καθαρό σωληνάριο (βλ. «Παράρτημα: Ποσοτικοποίηση του κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων», σελίδα 33).

Αρχεία αποτελεσμάτων παράγονται για κάθε πλάκα έκλουσης.

15. Εάν μία φύσιγγα αντιδραστηρίων έχει χρησιμοποιηθεί μόνο μερικώς, σφραγίστε την με τις παρεχόμενες ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης του πρωτοκόλλου για να αποφύγετε την εξάτμιση.

Σημείωση: Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη φύλαξη μερικώς χρησιμοποιημένων φυσιγγων αντιδραστηρίων (RC), βλ. «Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων», σελίδα 13.

16. Απορρίψτε τα χρησιμοποιημένα σωληνάρια δειγμάτων και τα απόβλητα σύμφωνα με τις εκάστοτε τοπικές διατάξεις ασφαλείας.

Βλ. «Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις», σελίδα 10, για πληροφορίες ασφάλειας.

17. Καθαρίστε το QIASymphony SP.

Ακολουθήστε τις οδηγίες συντήρησης των οδηγιών χρήσης που συνοδεύουν το όργανο. Τα προστατευτικά ρυγχών πρέπει να καθαρίζονται τακτικά για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου διασταυρούμενης μόλυνσης.

18. Κλείστε τα συρτάρια του οργάνου και απενεργοποιήστε το QIASymphony SP.

Ποιοτικός έλεγχος

Σε συμμόρφωση με το πιστοποιημένο με ISO Σύστημα Διαχείρισης Ποιότητας της QIAGEN, κάθε παρτίδα του kit QIASymphony DSP Circulating DNA ελέγχεται ως προς τις προκαθορισμένες προδιαγραφές για την διασφάλιση ομοιογενούς ποιότητας των προϊόντων.

Περιορισμοί

Η απόδοση του συστήματος έχει τεκμηριωθεί σε μελέτες αξιολόγησης απόδοσης με καθαρισμό ανθρώπινου κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων από ανθρώπινο πλάσμα και ούρα.

Η επαλήθευση της απόδοσης του συστήματος για οποιεσδήποτε διαδικασίες που χρησιμοποιούνται στο εκάστοτε εργαστήριο και δεν καλύπτονται από τις μελέτες αξιολόγησης απόδοσης της QIAGEN αποτελούν ευθύνη του χρήστη.

Για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου αρνητικής επίπτωσης στα διαγνωστικά αποτελέσματα, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλοι μάρτυρες για καθοδικές εφαρμογές. Για περαιτέρω επικύρωση, συνιστώνται οι κατευθυντήριες γραμμές της Διεθνούς Διάσκεψης για την Εναρμόνιση Τεχνικών Απαιτήσεων (ICH) στο *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*.

Κάθε διαγνωστικό αποτέλεσμα θα πρέπει να ερμηνεύεται στο πλαίσιο των υπόλοιπων κλινικών ή εργαστηριακών ευρημάτων.

Σύμβολα

Τα σύμβολα στον ακόλουθο πίνακα περιλαμβάνουν τα σύμβολα που χρησιμοποιούνται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης.



<N>

Περιέχει αντιδραστήρια που επαρκούν για <N> αντιδράσεις



Ημερομηνία λήξης

IVD

In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

REF

Αριθμός καταλόγου

LOT

Αριθμός παρτίδας

MAT

Αριθμός υλικού (δηλ. επισήμανση συστατικού)

COMP

Συστατικά (δηλ. κατάλογος του τι περιέχεται)

CONT

Περιέχει (περιεχόμενα)

NUM

Αριθμός (δηλ. φιαλίδια, φιάλες)

GTIN

Διεθνής κωδικός μονάδων εμπορίας

Rn

R είναι για την αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης (εγχειρίδιο) και n είναι ο αριθμός αναθεώρησης



Περιορισμός θερμοκρασίας



Κατασκευαστής



Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης



Προσοχή

PROTK

Πρωτεΐνάση K

WELL

Αριθμός φρεατίου (δηλ. φρεάτιο φύσιγγας
αντιδραστηρίων)

REAG | **CART**

Φύσιγγα αντιδραστηρίων

Sodium azide

Αζίδιο του νατρίου

Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων

Αυτός ο οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων μπορεί να σας βοηθήσει στην επίλυση οποιωνδήποτε προβλημάτων που ενδεχομένως προκύψουν. Για πληροφορίες επικοινωνίας, βλ. οπισθόφυλλο ή επισκεφθείτε το www.qiagen.com.

Σχόλια και προτάσεις

Γενικός χειρισμός

Μήνυμα σφάλματος που εμφανίζονται στην οθόνη αφής	Εάν εμφανιστεί μήνυμα σφάλματος κατά τη διάρκεια του πρωτοκόλλου, ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που συνοδεύουν το όργανο.
---	---

Ίζημα σε περιέκτη αντιδραστηρίου ανοιγμένης φύσιγγας του kit QIAsymphony DSP

- | | |
|--|---|
| a) Εξάτμιση ρυθμιστικού διαλύματος | Η υπερβολική εξάτμιση μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της συγκέντρωσης άλατος στα ρυθμιστικά διαλύματα. Απορρίψτε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC). Βεβαιωθείτε πως σφραγίζετε τους περιέκτες ρυθμιστικών διαλυμάτων των μερικώς χρησιμοποιημένων φυσιγγων αντιδραστηρίων (RC) με ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση, όταν δεν χρησιμοποιούνται για καθαρισμό. |
| b) Φύλαξη της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC) | Η φύλαξη της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC) κάτω των 15°C μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό ιζημάτων. |

Χαμηλή απόδοση DNA

Σχόλια και προτάσεις

- a) Τα μαγνητικά σωματίδια δεν ήταν πλήρως επανεναιωρημένα
- Πριν από την έναρξη της διαδικασίας, βεβαιωθείτε πως τα μαγνητικά σωματίδια είναι πλήρως επανεναιωρημένα. Αναδεύστε σε αναδευτήρα vortex για τουλάχιστον 3 λεπτά πριν από τη χρήση.
- b) Απόφραξη του ρύγχους πιπέτας λόγω αδιάλυτου υλικού
- Το αδιάλυτο υλικό δεν αφαιρέθηκε από το δείγμα πριν από την έναρξη της διαδικασίας καθαρισμού στο QIAAsymphony.
- Εάν απαιτείται, χρησιμοποιήστε τις διαδικασίες προκαταρκτικής επεξεργασίας όπως περιγράφονται στο αντίστοιχο φύλλο πρωτοκόλλου που μπορεί να βρεθεί κάτω από την καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στο www.qiagen.com.
- c) Το υλικό δείγματος περιέχει χαμηλή συγκέντρωση κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων
- Λόγω των πολύ χαμηλών ποσοτήτων κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων στο υλικό του δείγματος, είναι δυνατόν να μην ανιχνευτεί συγκέντρωση DNA ανάλογα με τη μέθοδο ποσοτικοποίησης που χρησιμοποιείται.
- Συνιστάται η χρήση ευαίσθητης qPCR για τον έλεγχο της συγκέντρωσης DNA στα εκλούσματα.
- d) Ατελές εκ νέου κλείσιμο της φύσιγγας αντιδραστηρίων
- Η ανταλλαγή με τον αέρα του περιβάλλοντος μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη σταθερότητα των ρυθμιστικών διαλυμάτων προκαλώντας μειωμένη αποτελεσματικότητα της εκχύλισης ccfDNA με μια μερικώς χρησιμοποιημένη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC). Βεβαιωθείτε πως σφραγίζετε προσεκτικά τους περιέκτες ρυθμιστικών διαλυμάτων των μερικώς χρησιμοποιημένων φυσιγγών αντιδραστηρίων με

Σχόλια και προτάσεις

ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση, όταν δεν χρησιμοποιούνται για καθαρισμό.

- e) Ταχεία αποδόμηση του κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων σε μη σταθεροποιημένο δείγμα ούρων

Λόγω της ταχείας αποδόμησης του κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων σε μη σταθεροποιημένα δείγματα ούρων μετά τη συλλογή του δείγματος, είναι δυνατή η ανίχνευση απουσίας/χαμηλής συγκέντρωσης DNA στα εκλούσματα. Συνιστάται η σταθεροποίηση του δείγματος ούρων όπως περιγράφεται στο αντίστοιχο φύλλο πρωτοκόλλου.

Εναλλακτικά, υποβάλλετε τα δείγματα ούρων αμέσως μετά τη συλλογή και τη φυγοκέντρηση σε προκαταρκτική επεξεργασία ATL και επακόλουθη εκχύλιση DNA στο όργανο όπως περιγράφεται στο αντίστοιχο φύλλο πρωτοκόλλου.

Καμία/ατελής μεταφορά δειγμάτων

- a) Φορτώθηκε εσφαλμένος όγκος δείγματος

Εάν φορτωθεί μικρότερος από 2,4 ml όγκος δείγματος και 4,5 ml όγκος δείγματος, αντίστοιχα, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος ασαφούς επισημάνσης του δείγματος, ή μη μεταφοράς του δείγματος (μη έγκυρη επισημάνση).

Φορτώστε τον σωστό όγκο δείγματος όπως περιγράφεται στον αντίστοιχο κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού. Εάν είναι διαθέσιμο ανεπαρκές δείγμα, προσθέστε PBS στο δείγμα μέχρι τον απαιτούμενο όγκο δείγματος πριν τη φόρτωση του δείγματος.

Σχόλια και προτάσεις

- b) Φυσαλίδες ή/και αφρός στο σωληνάριο δείγματος
- Οι φυσαλίδες ή ο αφρός στο δείγμα ή/και στο σωληνάριο εισόδου δείγματος μπορεί να προκαλέσουν ψευδή ανίχνευση επιπέδου υγρού και επακόλουθη ατελή μεταφορά δείγματος. Αφαιρέστε τις φυσαλίδες από το σωληνάριο δείγματος.

Φυσαλίδες στα ρύγχη ορατές κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης του οργάνου

Χρήση εργαστηριακού εξοπλισμού FIX σε συνδυασμό με μειωμένο όγκο εισόδου δείγματος

Εάν φορτωθεί μικρότερος από 2,1 ml όγκος δείγματος και 4,1 ml όγκος δείγματος, αντίστοιχα, με χρήση εργαστηριακού εξοπλισμού FIX, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος μειωμένης μεταφοράς του όγκου δείγματος, η οποία δεν ανιχνεύεται από το όργανο. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό φυσαλίδων κατά τη διάρκεια της μεταφοράς του δείγματος ή/και του επακόλουθου βήματος δέσμευσης.

Φορτώστε τον σωστό όγκο δείγματος όπως περιγράφεται στον αντίστοιχο κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού όταν χρησιμοποιείτε εργαστηριακό εξοπλισμό FIX. Εάν είναι διαθέσιμο ανεπαρκές δείγμα, προσθέστε PBS στο δείγμα μέχρι τον απαιτούμενο όγκο δείγματος πριν τη φόρτωση του δείγματος.

Παράρτημα: Ποσοτικοποίηση του κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων

Λόγω των πολύ χαμηλών συγκεντρώσεων κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων στα υλικά δείγματος, η μέτρηση του DNA με φασματοφωτόμετρο δεν συνιστάται. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του κυκλοφορούντος DNA ελεύθερου κυττάρων, πρέπει να χρησιμοποιείται μια ευαίσθητη και ακριβής δοκιμασία ποσοτικοποίησης με βάση φθορισμό ή μια δοκιμασία PCR πραγματικού χρόνου.

Εάν πρέπει να αφαιρεθούν μαγνητικά σωματίδια, τοποθετήστε το σωληνάριο που περιέχει το DNA σε έναν κατάλληλο μαγνητικό διαχωριστή (π.χ. 12-Tube Magnet (Μαγνήτης 12 σωληναρίων) της QIAGEN, αρ. καταλ. 36912) μέχρι να διαχωριστούν τα μαγνητικά σωματίδια.

Εάν το DNA βρίσκεται σε μικροπλακίδια, τοποθετήστε το μικροπλακίδιο σε έναν κατάλληλο μαγνητικό διαχωριστή (π.χ. 96-Well Magnet Type A (Μαγνήτης 96 φρεατίων τύπου A) της QIAGEN, αρ. καταλ. 36915) μέχρι να διαχωριστούν τα μαγνητικά σωματίδια. Εάν δεν υπάρχει διαθέσιμος κατάλληλος μαγνητικός διαχωριστής, φυγοκεντρήστε το σωληνάριο που περιέχει το DNA για 1 λεπτό σε πλήρη ταχύτητα σε μικροφυγόκεντρο για να σχηματιστεί σφαιρίδιο με οποιαδήποτε υπολειπόμενα μαγνητικά σωματίδια.

Πληροφορίες παραγγελίας

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. καταλ.
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	Περιέχει 2 φύσιγγες αντιδραστηρίων και σωληνάρια πρωτεϊνάσης K και παρελκόμενα	937556
QIASymphony SP		
QIASymphony SP	Μονάδα προετοιμασίας δειγμάτων QIASymphony, εγγύηση 1 έτους στα εξαρτήματα και την εργασία	9001297
Σχετικά προϊόντα		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml ρυθμιστικό διάλυμα ATL για την προκαταρκτική επεξεργασία των δειγμάτων ούρων	939016
Proteinase K (10 ml)	Φιάλη 1 x 10 ml	1105392
Reagent Cartridge Holder (2)	Στήριγμα φύσιγγας αντιδραστηρίων για χρήση με το QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Προσαρμογέας ψύξης για σωληνάρια 2 ml με βιδωτό καπάκι. Για χρήση στο συρτάρι «Eluate» του QIASymphony	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Προσαρμογέας ψύξης για θήκες EMT. Για χρήση στο συρτάρι «Eluate» του QIASymphony	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Προσαρμογέας ψύξης για σωληνάρια 1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock. Για χρήση στο συρτάρι «Eluate» του QIASymphony	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων 8 φρεατίων για χρήση με το QIASymphony SP	997002

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. καταλ.
8-Rod Covers (144)	Περιβλήματα 8 ράβδων για χρήση με το QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, τοποθετημένα σε θήκη (8 x 128). Για χρήση με τα QIAcube® και QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, τοποθετημένα σε θήκη (8 x 128). Για χρήση με το QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Σακούλες απόρριψης ρυγχών για χρήση με το QIASymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Μαγνήτης για τον διαχωρισμό μαγνητικών σωματιδίων σε σωληνάρια 12 x 1,5 ml ή 2 ml	36912
96-Well Magnet Type A	Μαγνήτης για τον διαχωρισμό μαγνητικών σωματιδίων στα φρεατία των πλακών 96 φρεατίων, μικροπλακίδια FB 2 x 96 φρεατίων	36915
Reuse Seal Set (20)	Σετ σφράγισης για επαναληπτική χρήση για τη σφράγιση μερικώς χρησιμοποιημένων φυσιγγων αντιδραστήριων QIASymphony	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Μη αποστειρωμένα σωληνάρια πολυπροπυλενίου (μέγιστης χωρητικότητας 0,85 ml, χωρητικότητας μικρότερης από 0,7 ml, χωρητικότητας έκλουσης 0,4 ml) - 2.304 σε θήκες των 96 - περιλαμβάνει ταινίες καλυμμάτων	19588

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο ή οδηγίες χρήσης του kit QIAGEN. Οι οδηγίες ή τα εγχειρίδια χρήσης των kit QIAGEN είναι διαθέσιμα στο www.qiagen.com ή μπορούν να ζητηθούν από τις τεχνικές υπηρεσίες της QIAGEN ή από τον τοπικό σας διανομέα.

Η αγορά αυτού του προϊόντος παρέχει στον αγοραστή τη δυνατότητα της χρήσης του για την εκτέλεση διαγνωστικών υπηρεσιών για in vitro διάγνωση σε ανθρώπους. Με τον παρόν δεν παρέχεται κανένα γενικό δικαίωμα ευρεσιτεχνίας ή άλλη άδεια οποιοδήποτε είδους, εκτός από το παρόν, συγκεκριμένο δικαίωμα χρήσης από την αγορά.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony®, QIAcube® (Όμιλος QIAGEN), Eppendorf® (Eppendorf AG).

Οι καταχωρημένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λ.π. που χρησιμοποιούνται σε αυτό το έγγραφο, δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευμένα από το νόμο, ακόμη και αν δεν επισημαίνονται ειδικά ως τέτοια.

Άδεια περιορισμένης χρήσης για το kit QIAsymphony DSP Circulating DNA

Η χρήση αυτού του προϊόντος ισοδυναμεί με την αποδοχή από πλευράς οποιοδήποτε αγοραστή ή χρήστη του προϊόντος των εξής όρων:

1. Το προϊόν επιτρέπεται να χρησιμοποιείται μόνο σύμφωνα με τα πρωτόκολλα που παρέχονται με το προϊόν και αυτό το εγχειρίδιο και για χρήση με τα συστατικά που περιέχονται στο kit μόνο. Η QIAGEN δεν παρέχει άδεια χρήσης υπό οποιαδήποτε πνευματική ιδιοκτησία της για τη χρήση ή αντιστάθιση των παρεχόμενων συστατικών αυτού του kit σε οποιαδήποτε συστατικά που δεν περιλαμβάνονται σε αυτό το kit, εκτός και αν περιγράφεται διαφορετικά στα πρωτόκολλα που παρέχονται με το προϊόν, αυτό το εγχειρίδιο και πρόσθετα πρωτόκολλα που είναι διαθέσιμα στη διεύθυνση www.qiagen.com. Ορισμένα από αυτά τα πρωτόκολλα έχουν παρασχεθεί από χρήστες της QIAGEN για χρήστες της QIAGEN. Αυτά τα πρωτόκολλα δεν έχουν ελεγχθεί διεξοδικά ή βελτιστοποιηθεί από την QIAGEN. Η QIAGEN δεν εγγυάται γι' αυτά, και δεν παρέχει καμία εγγύηση πως δεν παραβιάζουν τα δικαιώματα τρίτων.
2. Με την εξαίρεση των ρητά αναφερόμενων αδειών, η QIAGEN δεν παρέχει καμία εγγύηση πως αυτό το kit και/ή η χρήση(-εις) του δεν παραβιάζουν τα δικαιώματα τρίτων.
3. Αυτό το kit και τα συστατικά του φέρουν άδεια χρήσης για μία μόνο χρήση και δεν επιτρέπεται η επανάχρηση, η εκ νέου επεξεργασία ή η μεταβίβασή του.
4. Η QIAGEN αποποιείται ειδικά οποιοσδήποτε άλλες άδειες, ρητές ή έμμεσες εκτός από αυτές που αναφέρονται ρητά.
5. Ο αγοραστής ή ο χρήστης του kit συμφωνεί να μην προβεί και να μην επιτρέψει σε κανέναν άλλο να προβεί σε οποιοσδήποτε ενέργειες που θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε ή να διευκολύνουν οποιοσδήποτε πράξεις που απαγορεύονται σύμφωνα με τα προαναφερθέντα. Η QIAGEN διατηρεί το δικαίωμα να επιβάλλει τις απαγορεύσεις της παρούσας Άδειας περιορισμένης χρήσης σε οποιοδήποτε δικαστήριο και θα αποζημιωθεί για όλες τις δαπάνες ανάκρισης και δικαστηρίου, συμπεριλαμβανομένων των δαπανών υπεράσπισης στο πλαίσιο οποιασδήποτε ενέργειας για την επιβολή αυτής της Άδειας περιορισμένης χρήσης ή οποιοδήποτε των πνευματικών δικαιωμάτων της σχετικά με το kit και/ή τα συστατικά του.

Για τους ενημερωμένους όρους της άδειας, βλ. www.qiagen.com.

HB-2309-002 1103177EL 157018501 03/2017

© 2017 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

Παραγγελίες www.qiagen.com/shop | Τεχνική υποστήριξη support.qiagen.com | Δικτυακός τόπος
www.qiagen.com
