

Μάιος 2021

Οδηγίες χρήσης (Εγχειρίδιο) του QIASymphony[®] PAXgene[®] Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)



192

Έκδοση 1

IVD

Για in vitro διαγνωστική χρήση

CE

REF

768566



PreAnalytiX GmbH, Feldbachstrasse, CH - 8634
Hombrechtikon, Ελβετία

R1 **MAT**

1123518EL

 **PreAnalytiX**

A QIAGEN / BD Company

Εμπορικά σήματα: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH), QIAGEN®, QIAcube®, QIASymphony® (QIAGEN Group), Corning®, Falcon® (Corning, Inc.); Eppendorf® (Eppendorf AG), SpeedVac® (Thermo Fisher Scientific ή θυγατρικές της). Οι καταθέσεις ονομασιές, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμη κι αν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητώς.

Σύμβαση περιορισμένης άδειας χρήσης για το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit

Η χρήση του προϊόντος αυτού συνεπάγεται την αποδοχή εκ μέρους του αγοραστή ή του χρήστη του προϊόντος των παρακάτω όρων:

1. Το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά και μόνο όπως ορίζεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν και όπως ορίζεται στο εγχειρίδιο αυτό και μόνο με τα συστατικά στοιχεία που περιλαμβάνονται στο σετ. Η PreAnalytiX® δεν παρέχει άδεια χρήσης υπό οποιοδήποτε πνευματική ιδιοκτησία της για τη χρήση ή ενσωμάτωση των παρεχόμενων συστατικών αυτού του σετ σε οποιαδήποτε στοιχεία που δεν περιλαμβάνονται σε αυτό το σετ, παρά μόνον όπως περιγράφεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν, στο παρόν εγχειρίδιο και στα συμπληρωματικά πρωτόκολλα που διατίθενται στον ιστότοπο www.qiagen.com και www.PreAnalytiX.com.
2. Εκτός από τις άδειες που αναφέρονται ρητά, η PreAnalytiX δεν εγγυάται ότι αυτό το σετ ή/και η χρήση(-εις) του δεν παραβιάζουν δικαιώματα τρίτων.
3. Αυτό το σετ και τα συστατικά του παραχωρούνται με άδεια για μία μόνο χρήση και δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση, η επαναπεξεργασία, η ανακατασκευή ή η μεταπώλησή τους.
4. Η PreAnalytiX αποποιείται ειδικά οποιασδήποτε άλλες άδειες, ρητές ή έμμεσες, εκτός από αυτές που αναφέρονται ρητά.
5. Ο αγοραστής και ο χρήστης του σετ συμφωνούν να μην προβούν και να μην επιτρέψουν σε άλλο πρόσωπο να προβεί σε ενέργειες οι οποίες θα μπορούσαν να προκαλέσουν ή να διευκολύνουν τυχόν ενέργειες που απαγορεύονται σύμφωνα με τα προαναφερθέντα. Η PreAnalytiX διατηρεί το δικαίωμα να επιβάλει τις απαγορεύσεις της παρούσας Συμφωνίας άδειας περιορισμένης χρήσης σε οποιοδήποτε δικαστήριο και πρέπει να αποζημιώνεται για όλες τις ερευνητικές και δικαστικές δαπάνες της, συμπεριλαμβανομένων των δικηγορικών αμοιβών, στο πλαίσιο οποιασδήποτε ενέργειας για την επιβολή της παρούσας Συμφωνίας άδειας περιορισμένης χρήσης ή οποιοδήποτε εκ των δικαιωμάτων πνευματικής της ιδιοκτησίας σχετικά με το σετ ή/και τα συστατικά του.

Για τους ενημερωμένους όρους της άδειας, ανατρέξτε στον ιστότοπο www.qiagen.com και www.preanalytix.com.

HB-2866-001 1123518 © 2021 PreAnalytiX GmbH, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

Περιεχόμενα

Προβλεπόμενη χρήση	5
Αρμόδιος χρήστης	5
Περιγραφή και αρχή λειτουργίας.....	6
Σύνοψη και επεξήγηση.....	6
Αρχές της διαδικασίας	7
Υλικά που παρέχονται	9
Περιεχόμενα του κιτ.....	9
Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται	10
Εξοπλισμός	10
Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις.....	11
Πληροφορίες ασφάλειας.....	11
Προφυλάξεις.....	12
Αποθήκευση και χειρισμός αντιδραστηρίων	14
Συστατικά του κιτ.....	14
Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων	16
Διαδικασία	21
Επισκόπηση: Αυτόματος καθαρισμός ccfDNA στο όργανο QIASymphony SP.....	21
Επισκόπηση προϊόντος.....	27
Πρωτόκολλο: Αυτόματος καθαρισμός ccfDNA στο όργανο QIASymphony SP.....	30
Έλεγχος ποιότητας	34
Περιορισμοί	34
Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων.....	35
Σύμβολα	38

Παράρτημα: Ποσοτικός προσδιορισμός ccfDNA	40
Πληροφορίες παραγγελιών.....	41
Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου	43

Προβλεπόμενη χρήση

Το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), έχει σχεδιαστεί για χρήση με το όργανο QIASymphony SP, προορίζεται για αυτοματοποιημένη απομόνωση και καθαρισμό του ελεύθερου κυττάρων κυκλοφορούντος DNA (circulating cell-free DNA, ccfDNA) από πλάσμα που δημιουργήθηκε από ανθρώπινο φλεβικό ολικό αίμα που συλλέχθηκε σε σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) χρησιμοποιεί τεχνολογία μαγνητικών σωματιδίων για την αυτοματοποιημένη απομόνωση και τον καθαρισμό ccfDNA από ανθρώπινο πλάσμα.

Το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) προορίζεται για in vitro διαγνωστική χρήση και χρήση από επαγγελματίες, όπως τεχνολόγοι και ιατροί εκπαιδευμένοι στις τεχνικές της μοριακής βιολογίας.

Αρμόδιος χρήστης

Το κιτ αυτό προορίζεται για επαγγελματική χρήση.

Το προϊόν θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνον από προσωπικό με ειδική κατάρτιση και εκπαίδευση σε τεχνικές μοριακής βιολογίας και εξοικειωμένο με την τεχνολογία αυτή.

Περιγραφή και αρχή λειτουργίας

Σύνοψη και επεξήγηση

Το ελεύθερο κυττάρων κυκλοφορούν DNA (circulating cell-free DNA, ccfDNA) εμφανίζεται στο πλάσμα συνήθως σε μορφή μικρών θραυσμάτων (<1.000 bp). Η συγκέντρωση ccfDNA στο πλάσμα είναι συνήθως χαμηλή (μπορεί να κυμαίνεται από 1 έως 100 ng/ml) και ποικίλει σημαντικά ανά άτομο. Το σωληνάριο PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) με σήμανση CE σε συνδυασμό με το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) αποτελεί μια τυποποιημένη ροή εργασίας για τη συλλογή, φύλαξη και μεταφορά αίματος, τη σταθεροποίηση DNA σε κλειστό σωληνάριο και την επακόλουθη απομόνωση και τον καθαρισμό ccfDNA από ανθρώπινο πλάσμα με χρήση του οργάνου QIAGEN® QIASymphony SP.

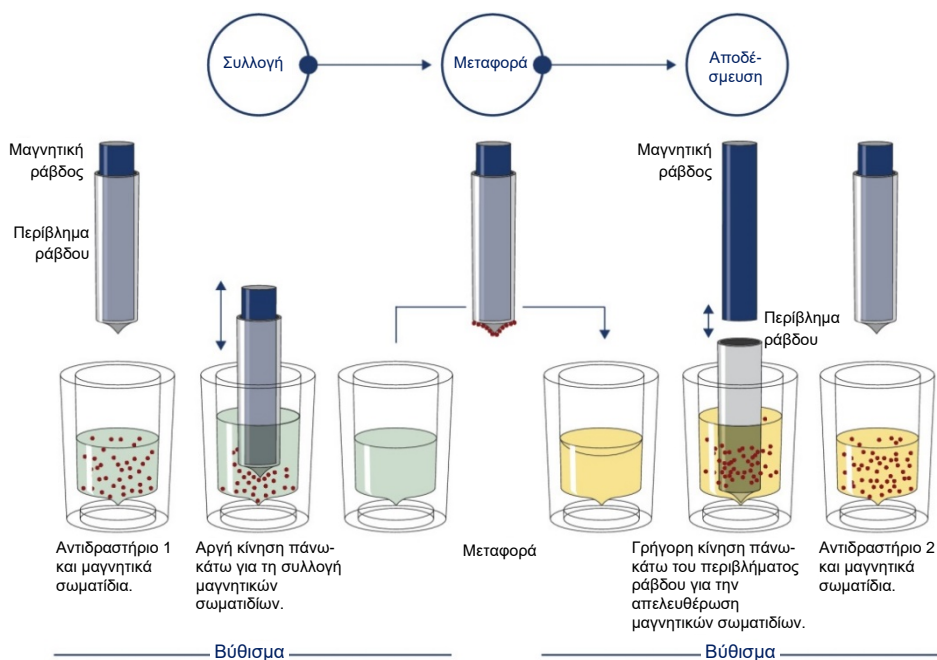
Τα πρωτόκολλα του οργάνου QIASymphony SP παρέχονται για την εκχύλιση ccfDNA από πλάσμα 2,4 και 4,8 ml που δημιουργείται από σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) με διπλή φυγοκέντρωση. Το πλάσμα μεταφέρεται και υποβάλλεται σε επεξεργασία σε δευτερεύον σωληνάριο στο όργανο QIASymphony SP.

Εναλλακτικά, πρωτόκολλα χειρισμού κύριου σωληναρίου στο όργανο QIASymphony SP διατίθενται για όγκο εισαγωγής πλάσματος 2,4 και 4 ml. Σε αυτήν την περίπτωση, δεν υπάρχει ανάγκη διενέργειας του βήματος δεύτερης φυγοκέντρωσης ή της μεταφοράς πλάσματος σε δευτερεύον σωληνάριο.

Η τεχνολογία μαγνητικών σωματιδίων του QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit παρέχει τη δυνατότητα καθαρισμού ccfDNA υψηλής ποιότητας που είναι ελεύθερο πρωτεϊνών, νουκλεασών και άλλων προσμείξεων. Το όργανο QIASymphony SP εκτελεί όλα τα βήματα της διαδικασίας καθαρισμού. Σε μία μόνο εκτέλεση υποβάλλονται σε επεξεργασία έως και 96 δείγματα, σε παρτίδες των 24. Για την απομόνωση γονιδιωματικού DNA (genomic DNA, gDNA) από το κλάσμα των εμπύρηνων κυττάρων που συλλέγεται σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) στο όργανο QIASymphony SP, ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) (www.PreAnalytiX.com).

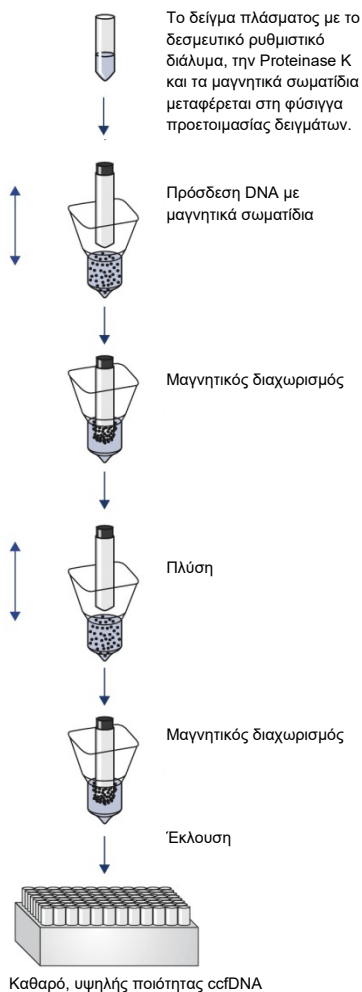
Αρχές της διαδικασίας

Η τεχνολογία του οργάνου QIASymphony SP συνδυάζει την ταχύτητα και την αποτελεσματικότητα του καθαρισμού νουκλειικών οξέων που βασίζεται σε ανταλλαγή ανιόντων με τον κατάλληλο χειρισμό μαγνητικών σωματιδίων (Εικόνα 1). Η διαδικασία καθαρισμού έχει σχεδιαστεί για να διασφαλίζει τον ασφαλή και αναπαραγωγίμο χειρισμό δυνητικά μολυσματικών δειγμάτων και αποτελείται από 3 βήματα: την πρόσδεση, την πλύση και την έκλυση (Εικόνα 2). Οι χρήστες μπορούν να επιλέξουν ανάμεσα σε διάφορους όγκους εισαγωγής δείγματος.



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

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



Εικόνα 2. Βήματα εκχύλισης ccfDNA με το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD). Θραύσματα ccfDNA απομονώνονται από πλάσμα που δημιουργείται από ανθρώπινο φλεβικό ολικό αίμα που συλλέγεται σε σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Στο πρώτο βήμα της επεξεργασίας, οι πρωτεΐνες του πλάσματος διασπώνται από Proteinase K ενώ το ccfDNA προσδένεται στην επιφάνεια των μαγνητικών σωματιδίων. Τα τρία βήματα πλύσης εγγυώνται την απομάκρυνση των ρύπων. Τέλος, το ccfDNA εκλύεται για να απομακρυνθούν τα μαγνητικά σωματίδια και είναι έτοιμο για χρήση σε καθοδικές εφαρμογές.

Υλικά που παρέχονται

Περιεχόμενα του KIT

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)		(192)		
Αρ. καταλόγου		768566		
Αριθμός αντιδράσεων		192		
Συνομογραφία	Αναγνωριστικό	Ποσότητα	Δραστικά συστατικά	Συγκέντρωση [%]**
RC	Reagent cartridge (Φύσιγγα αντιδραστηρίων)**	2	Μη ιονικό απορροπταντικό Μαγνητικό σωματίδιο ανταλλαγής ανιόντων NaOH Αιθανόλη	≥0,5 – <10 [w/w] Δεν εφαρμόζεται ≥0,05 – <0,1 [w/w] ≥70 – <90 [v/v]
PROTK	Proteinase K (Πρωτεϊνάση Κ)†	5 x 10 ml	Proteinase K	≥1 – <3% [w/w]
PL	Piercing Lid (Κάλυμμα διάτρησης)	2	—	Δεν εφαρμόζεται
RSS	Reuse Seal Set (Σετ σφράγισης για επαναληπτική χρήση)‡	2	—	Δεν εφαρμόζεται
	Elution Microtubes CL, racked (Μικροσωληνάρια έκλουσης CL, τοποθετημένα σε θήκη)#	2	—	Δεν εφαρμόζεται
	Caps for Elution Microtubes (Πώματα για μικροσωληνάρια έκλουσης)#	1 x (55 x 8)	—	Δεν εφαρμόζεται
	Οδηγίες χρήσης (Εγχειρίδιο)	1	—	Δεν εφαρμόζεται
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	—	Δεν εφαρμόζεται

* Περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

† Βλ. σελίδα 38 για λίστα συμβόλων με ορισμούς.

‡ Ένα Reuse Seal Set περιέχει 8 ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση.

Διατίθενται και μεμονωμένα, βλ. Πληροφορίες παραγγελιών.

** Μέγιστη συγκέντρωση σε ένα βύθισμα.

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Όταν εργάζεστε με χημικές ουσίες και δείγματα βιολογικών υλικών να ακολουθείτε πάντα γενικές προφυλάξεις και να φοράτε κατάλληλη ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά, όπως προβλέπουν οι πολιτικές και οι διαδικασίες του χώρου εργασίας σας. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφαλείας (Safety Data Sheets, SDS), τα οποία διατίθενται από τον προμηθευτή του προϊόντος.

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

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, αρ. κατ. 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, αρ. κατ. 997004)
- Filter-Tips, 200 µl και 1.500 µl (QIAGEN, αρ. κατ. 990332 και 997024, αντίστοιχα)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, αρ. κατ. 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (PreAnalytiX, αρ. κατ. 768165)
- Σωληνάρια δείγματος. Για τον συμβατό τύπο κύριου και δευτερεύοντος σωληναρίου, ανατρέξτε στον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που βρίσκεται στην ενότητα Product Resources (Πόροι προϊόντος) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com.
- Για τον συμβατό τύπο σωληναρίου έκλουσης, ανατρέξτε στον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που βρίσκεται στην ενότητα Product Resources (Πόροι προϊόντος) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com.

Εξοπλισμός*

- Πιπέτα (5 ml)
- QIASymphony SP instrument (QIAGEN, αρ.κατ. 9001297)

* Πριν από τη χρήση, βεβαιωθείτε ότι τα όργανα έχουν ελεγχθεί και βαθμονομηθεί σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Για in vitro διαγνωστική χρήση

Διαβάστε όλες τις οδηγίες προσεκτικά προτού χρησιμοποιήσετε το κιτ.

Για τους πελάτες στην Ευρωπαϊκή Ένωση: λάβετε υπόψη ότι πρέπει να αναφέρετε στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του κράτους μέλους στο οποίο υπάγεται ο χρήστης ή/και ο ασθενής, οποιαδήποτε σοβαρά συμβάντα σχετίζονται με τη συσκευή.

Πληροφορίες ασφάλειας

Όταν εργάζεστε με χημικές ουσίες και δείγματα βιολογικών υλικών να ακολουθείτε πάντα γενικές προφυλάξεις και να φοράτε κατάλληλη ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά, όπως προβλέπουν οι πολιτικές και οι διαδικασίες του χώρου εργασίας σας. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (Safety Data Sheets, SDS). Αυτά τα δελτία είναι διαθέσιμα online σε μορφή PDF στη διεύθυνση www.qiagen.com/safety, όπου μπορείτε να βρείτε, να προβάλετε και να εκτυπώσετε τα δελτία SDS για κάθε κιτ και συστατικό των κιτ της PreAnalytiX.

- Όλες οι χημικές ουσίες και τα βιολογικά υλικά είναι εν δυνάμει επικίνδυνα. Τα δοκίμια και τα δείγματα είναι εν δυνάμει μολυσματικά και πρέπει να αντιμετωπίζονται ως βιολογικά επικίνδυνα υλικά.
- Τα απόβλητα των δειγμάτων και των προσδιορισμών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες ασφαλείας.

Προφυλάξεις

Τα ρυθμιστικά διαλύματα στις φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC) περιέχουν αζίδιο του νατρίου. Εάν χυθεί ρυθμιστικό διάλυμα από το κιτ, καθαρίστε με κατάλληλο απορρυπαντικό εργαστηρίου και νερό. Εάν το υγρό που χύθηκε περιέχει δυνητικά μολυσματικούς παράγοντες καθαρίστε την προσβεβλημένη περιοχή αρχικά με απορρυπαντικό εργαστηρίου και νερό και, στη συνέχεια, με 1% (v/v) υποχλωριώδες νάτριο (χλωρίνη).

Οι ακόλουθες δηλώσεις κινδύνου και προφύλαξης ισχύουν για τα συστατικά του QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit.

MBS3

Περιέχει: Αζίδιο του νατρίου. Προειδοποίηση! Μπορεί να είναι επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια /το πρόσωπο.

Proteinase K



Περιέχει: Proteinase K. 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. Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια /το πρόσωπο. Φοράτε προστατευτικά για την αναπνοή. Σε περίπτωση έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: Καλέστε το Κέντρο Δηλητηριάσεων ή έναν γιατρό. Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή.

QSE2



Περιέχει: Υδροξείδιο του νατρίου. Κίνδυνος! Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Απορρίψτε το περιεχόμενο/τον περιέκτη σε εγκεκριμένη μονάδα διάθεσης αποβλήτων. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε. Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα (ή με τα μαλλιά): Αφαιρέστε αμέσως όλα τα μολυσμένα ενδύματα. Ξεπλύνετε το δέρμα με νερό/στο ντους. Καλέστε αμέσως το Κέντρο Δηλητηριάσεων ή έναν γιατρό. Φυλάσσεται κλειδωμένο. Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια /το πρόσωπο.

QSW9



Περιέχει: Αιθανόλη. Κίνδυνος! Ιδιαίτερα εύφλεκτο υγρό και ατμός. Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό. Μακριά από θερμότητα/σπινθήρες/γυμνές φλόγες/θερμές επιφάνειες. Απαγορεύεται το κάπνισμα. Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια /το πρόσωπο.

Αποθήκευση και χειρισμός αντιδραστηρίων

Το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) πρέπει να φυλάσσεται σε κατακόρυφη θέση σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C). Τα μαγνητικά σωματίδια εντός των φύσιγγων αντιδραστηρίων (RC) παραμένουν ενεργά όταν φυλάσσονται σε αυτό το εύρος θερμοκρασίας.

Σημείωση: Στην ετικέτα του κουτιού του QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) αναγράφεται η ημερομηνία λήξης του κιτ. Η ημερομηνία λήξης ισχύει για τη φύσιγγα αντιδραστηρίων.

Μην χρησιμοποιείτε το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) μετά την ημερομηνία λήξης.

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΚΙΤ

Το κιτ QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) περιέχει έτοιμο προς χρήση διάλυμα Proteinase K, το οποίο μπορεί να φυλαχθεί σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C).

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

Οι φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC) ενός ανοιγμένου κιτ QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) για έως 4 εβδομάδες. Η επανάχρηση των αντιδραστηρίων εξοικονομεί κόστος και προσφέρει μεγαλύτερη ευελιξία στην επεξεργασία δειγμάτων. Εάν μια φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) έχει χρησιμοποιηθεί μερικώς, τοποθετήστε ξανά το κάλυμμα του λεκανιδίου που περιέχει τα μαγνητικά σωματίδια και σφραγίστε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) με τις ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση αμέσως μόλις ολοκληρωθεί η εκτέλεση του πρωτοκόλλου για να αποφύγετε την εξάτμιση.

Για να μην εξατμιστεί το αντιδραστήριο, η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) θα πρέπει να παραμένει ανοιχτή το ανώτατο 15 ώρες (συμπεριλαμβανομένων των χρόνων εκτέλεσης) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 32 °C κατά μέγιστο. Η εσφαλμένη φύλαξη των συστατικών του kit μπορεί να επισπεύσει τη φθορά των ρυθμιστικών διαλυμάτων.

Η εκτέλεση παρτίδων με μικρό αριθμό δειγμάτων (<24) θα αυξήσει τον χρόνο που η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) παραμένει ανοιχτή και τους απαιτούμενους όγκους ρυθμιστικού διαλύματος, ενώ θα μειώσει πιθανώς και τον συνολικό εφικτό αριθμό προετοιμασιών δειγμάτων ανά φύσιγγα.

Αποφύγετε την έκθεση των φυσιγγων αντιδραστηρίων (RC) σε υπεριώδες φως (που χρησιμοποιείται π.χ. στην απολύμανση) διότι μπορεί να επισπεύσει τη φθορά των φυσιγγων αντιδραστηρίων (RC) και των ρυθμιστικών διαλυμάτων.

Πρέπει να δίδεται προσοχή στις ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στα κουτιά και τις ετικέτες όλων των συστατικών. Μη χρησιμοποιείτε το περιεχόμενο της συσκευασίας εάν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης ή δεν έχουν ληφθεί τα σωστά μέτρα αποθήκευσης.

Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων

Η διαδικασία καθαρισμού είναι βελτιστοποιημένη για χρήση με πλάσμα που δημιουργείται από αίμα που συλλέγεται σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). Για πληροφορίες σχετικά με τη συλλογή αίματος, τον χειρισμό των σωληναρίων και την παρασκευή του πλάσματος ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του σωληναρίου PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) που βρίσκονται στην ενότητα Product Resource (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com και www.PreAnalytiX.com, αντίστοιχα.

Η παρασκευή του πλάσματος μπορεί να γίνει χρησιμοποιώντας (Α) το τυπικό πρωτόκολλο διπλής φυγοκέντρισης ή (Β) μέσω του χειρισμού του κύριου σωληναρίου: απευθείας επεξεργασία σωληναρίων PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) που έχουν υποβληθεί σε άπαξ φυγοκέντρωση στο όργανο QIASymphony SP.

A) Παρασκευή πλάσματος από αίμα για τυπικά πρωτόκολλα

1. Φυγοκεντρίστε το σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) για 15 λεπτά σε 1.600–3.000 x g (πρώτη φυγοκέντρωση) και για 10 λεπτά σε 1.600–3.000 x g (δεύτερη φυγοκέντρωση) με φυγόκεντρο με ισορροπημένα φορτωμένο ρότορα ταλάντευσης κάδου. Εάν προτιμάται η πέδηση, συνιστάται η χρήση πέδησης μέσου επιπέδου, η οποία θα πρέπει να επικυρώνεται για τη συγκεκριμένη ροή εργασίας.

Σημείωση: Για βέλτιστη απόδοση σε δείγματα που φυλάσσονται κατεψυγμένα πριν από τη φυγοκέντρωση, αφήστε τα σωληνάρια να επανέλθουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την επεξεργασία.

2. Μεταφέρετε με πιπέτα το πλάσμα σε σωληνάριο φυγοκέντρωσης κωνικού πυθμένα 15 ml (δεν παρέχεται), προσέχοντας να μην διαταραχτεί το κλάσμα των εμπύρηνων κυττάρων.

3. Φυγοκεντρίστε το σωληνάριο φυγοκέντρισης κωνικού πυθμένα 15 ml σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) για 15 λεπτά σε 1.600–3.000 x g (πρώτη φυγοκέντριση) και για 10 λεπτά σε 1.600–3.000 x g (δεύτερη φυγοκέντριση) σε ισορροπημένα φορτωμένα φυγόκεντρο.

Σημείωση: Μην υπερβαίνετε τη μέγιστη ταχύτητα φυγοκέντρισης που συνιστά ο κατασκευαστής του δευτερεύοντος σωληναρίου.

4. Μεταφέρετε με πιπέτα τον απαιτούμενο όγκο πλάσματος (βλ. ενότητα «Όγκος δείγματος», στη σελίδα 21) σε σωληνάριο 14 ml από πολυστυρένιο με στρογγυλό πυθμένα 17 x 100, φροντίζοντας να μην διαταραχθεί το υπολειπόμενο ίζημα κυττάρων, εάν υπάρχει.
5. Μεταφέρετε το σωληνάριο στρογγυλού πυθμένα με το δείγμα πλάσματος στον φορέα σωληναρίων και φορτώστε τον φορέα σωληναρίων στο συρτάρι εισαγωγής δειγμάτων του οργάνου QIASymphony SP.

Σημείωση: Για μέγιστη απόδοση ccfDNA, επεξεργαστείτε τον μέγιστο διαθέσιμο όγκο πλάσματος.

Σημείωση: Αποτρέψτε τη δημιουργία αφρού μέσα ή επάνω στα δείγματα πλάσματος. Τυχόν αφρός ή φυσαλίδες αέρα επάνω στα δείγματα μπορεί να οδηγήσουν στη μεταφορά με πιπέτα εσφαλμένου όγκου δείγματος.

Σημείωση: Μετά τη συλλογή αίματος και τη φυγοκέντριση, τα σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes (IVD) σταθεροποιούν το ccfDNA (προφίλ ccfDNA) στο πλάσμα στους 2–8 °C για έως 7 ημέρες πριν την επεξεργασία του πλάσματος. Για πιο μακροχρόνια φύλαξη, συνιστούμε κατάψυξη σε κλάσματα.

Σημείωση: Όταν γίνεται χρήση ήδη αποθηκευμένων δειγμάτων πλάσματος (π.χ. δείγματα που φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2–8 °C ή έχουν καταψυχθεί σε θερμοκρασία –20 ή –70 °C/–80 °C), αυτά τα δείγματα θα πρέπει να περιέλθουν σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) πριν από την έναρξη της εκτέλεσης.

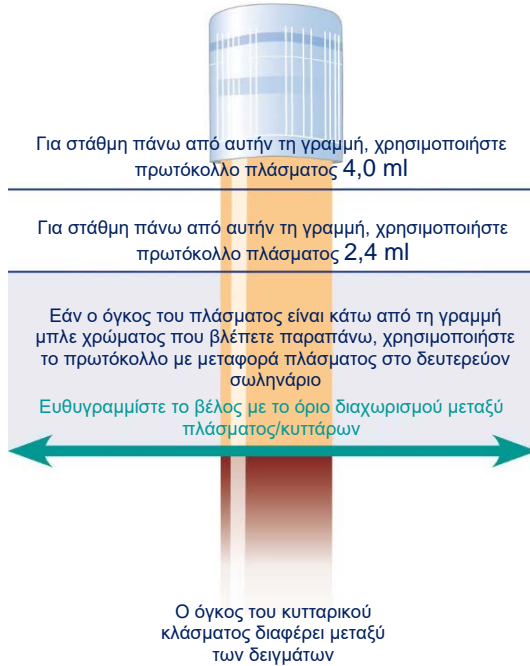
B) Παρασκευή πλάσματος από αίμα για χειρισμό κύριου σωληναρίου στο όργανο QIASymphony SP

1. Φυγοκεντρίστε το σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) για 15 λεπτά σε 3.000 x g χρησιμοποιώντας φυγόκεντρο με ισορροπημένα φορτωμένο ρότορα ταλάντευσης κάδο. Εάν προτιμάται η πέδηση, συνιστάται η χρήση πέδησης μέσου επιπέδου, η οποία θα πρέπει να επικυρώνεται για τη συγκεκριμένη ροή εργασίας.

Σημείωση: Για βέλτιστη απόδοση σε δείγματα που φυλάσσονται κατεψυγμένα πριν από τη φυγοκέντριση, αφήστε τα σωληνάκια να επανέλθουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την επεξεργασία.

2. Προσδιορίστε τον όγκο πλάσματος σε κάθε σωληνάριο μετά την αφαίρεσή του από τον κάδο της φυγόκεντρο με το PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, το οποίο περιέχεται στο κιτ (Εικόνα 3). Μετά την αφαίρεση του σωληναρίου από τη φυγόκεντρο, το γαλαζοπράσινο βέλος στο εργαλείο ευθυγραμμίζεται με το όριο διαχωρισμού μεταξύ πλάσματος/κυττάρων. Οι γραμμές μπλε χρώματος υποδεικνύουν ότι η στάθμη του πλάσματος είναι επαρκής για το πρωτόκολλο χειρισμού κύριου σωληναρίου 2,4 ή 4,0 ml. Απαιτείται ελάχιστο ύψος στήλης πλάσματος 2,3 cm για το πρωτόκολλο των 2,4 ml και ελάχιστο ύψος 3,4 cm για το πρωτόκολλο των 4,0 ml.

Καθορισμός του βέλτιστου πρωτοκόλλου
για την επεξεργασία σωληναρίων
PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)
απευθείας στο όργανο QIASymphony SP



Εικόνα 3. Καθορισμός όγκου πλάσματος με το εργαλείο PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool. (Το παραπάνω σχήμα προορίζεται μόνο για σκοπούς απεικόνισης. Μην το εκτυπώνετε καθώς το πραγματικό μέγεθος διαφέρει, δεν προορίζεται για χρήση με δείγματα.)

Σημείωση: Σε περίπτωση ασαφούς διαχωρισμού του πλάσματος και του κυτταρικού κλάσματος ή σε περίπτωση που οι φάσεις αναμείχθηκαν ακουσίως κατά την αφαίρεση από τη φυγόκεντρο, θα πρέπει να επαναλάβετε τη φυγοκέντριση.

3. Αφαιρέστε το κλείστρο Hemogard από τα σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) πριν από την τοποθέτηση στο όργανο QIASymphony SP για απευθείας εκχύλιση ccfDNA.

Σημείωση: Η αφαίρεση του πύματος των σωληναρίων και ο χειρισμός ανοικτών σωληναρίων θα πρέπει να γίνεται με προσοχή ώστε να μειώνεται ο πιθανός κίνδυνος διαρροής δειγμάτων, διασταυρούμενης μόλυνσης μεταξύ σωληναρίων και έκθεσης του αίματος.

4. Τοποθετήστε τα ανοιγμένα σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) που περιέχουν επαρκή ποσότητα πλάσματος στον φορέα σωληναρίων και φορτώστε τον φορέα σωληναρίων στο συρτάρι εισαγωγής δειγμάτων του οργάνου QIASymphony SP.

Γ) Ψύξη και απόψυξη δειγμάτων πλάσματος που υποβάλλονται σε επεξεργασία σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tube

1. Για τη ψύξη, μεταφέρετε το πλάσμα σε κατάλληλα σωληνάρια (π.χ., κρυσφιαλίδια) τοποθετημένα σε κατάλληλο στατώ.
2. Εκτελέστε ψύξη και φύλαξη του πλάσματος σε θερμοκρασία $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Για τη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω από $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, καταψύξτε τα δείγματα πλάσματος πρώτα σε θερμοκρασία $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ για τουλάχιστον 24 ώρες και στη συνέχεια μεταφέρετε σε θερμοκρασία -70 ή $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Αποψύξτε το πλάσμα σε θερμοκρασία δωματίου ($15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Σημείωση: Μην αποψύχετε σε χαμηλές θερμοκρασίες (π.χ., $4\text{ }^{\circ}\text{C}$).

4. Αν σχηματίζονται κρυστάλλοι στο πλάσμα, στροβιλίστε το σωληνάρια για 30 δευτερόλεπτα μετά την απόψυξη και χρησιμοποιήστε το δείγμα για τη διαδικασία απομόνωσης ccfDNA στο όργανο QIASymphony SP χωρίς περαιτέρω επεξεργασία.

Σημείωση: Δεν συνιστάται φυγοκέντριση του πλάσματος για την απομάκρυνση των κρυστάλλων επειδή μπορεί να περιέχουν ccfDNA.

Σημείωση: Για να αποφύγετε τον σχηματισμό κρυστάλλων, το πλάσμα μπορεί να αποψύχεται στους $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 30 λεπτά αντί για θερμοκρασία δωματίου.

Διαδικασία

Επισκόπηση: Αυτόματος καθαρισμός ccfDNA στο όργανο QIASymphony SP

Το όργανο QIASymphony SP καθιστά την αυτόματη προετοιμασία δειγμάτων μια 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 μια εκτέλεση. Ξεκινήστε το πρωτόκολλο και απομακρύνετε το καθαρό ccfDNA από το συρτάρι «Eluate» (Εκλούσμα). Για τις οδηγίες που αφορούν τη λειτουργία, ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που συνοδεύουν το όργανο.

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

Όγκος δείγματος

Για να βεβαιωθείτε ότι στην κανονική ροή εργασίας μεταφέρονται από το όργανο δείγματα 2,4 ml (πρωτόκολλο PAXcircDNA_2400) και 4,8 ml (πρωτόκολλο PAXcircDNA_4800), απαιτείται, αντίστοιχα, κενός όγκος 0,4 και 0,5 ml. Αυτό σημαίνει ότι πρέπει να γίνεται εισαγωγή δείγματος τουλάχιστον 2,8 και 5,3 ml. Αν ο διαθέσιμος όγκος πλάσματος είναι μικρότερος από 2,8 ή 5,3 ml, η λειτουργία «Less Sample» (Λιγότερο δείγμα), η οποία είναι λειτουργία ενσωματωμένη στο πρωτόκολλο, επιτρέπει αυτόματα τη μεταφορά των μικρότερων όγκων πλάσματος από τους αναγραφόμενους. Σε αυτήν την περίπτωση, το όργανο μεταφέρει λιγότερο δείγμα και ο μεταφερόμενος όγκος καταγράφεται στο αρχείο αποτελεσμάτων. Επιπλέον, τα αντίστοιχα δείγματα επισημαίνονται ως unclear (ακαθόριστο) [κωδικός σφάλματος 140043, «Enable Less Sample» (Ενεργοποίηση λιγότερου δείγματος)]. Οι ελάχιστοι όγκοι εισαγωγής πλάσματος για την ενεργοποίηση της λειτουργίας «Less Sample» (Λιγότερο δείγμα) είναι 1,6 και 4,1 ml.

Τα δείγματα δεν θα υποβάλλονται σε επεξεργασία και θα επισημαίνονται με την ένδειξη invalid (μη έγκυρο) αν ο παρεχόμενος όγκος δείγματος είναι μικρότερος. Για τη ροή εργασίας χειρισμού κύριου σωληναρίου, ο κατάλληλος όγκος δείγματος διασφαλίζεται μέσω της χρήσης του εργαλείου PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, το οποίο περιέχεται στο κιτ (και περιγράφεται στην ενότητα «Προετοιμασία του υλικού του δείγματος» στη σελίδα 26).

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

Τα αντιδραστήρια για τον καθαρισμό ccfDNA περιέχονται σε μια καινοτόμα φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) (Εικόνα 4). Κάθε λεκανίδιο της φύσιγγας αντιδραστηρίων RC περιέχει 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 για επαναληπτική χρήση για μετέπειτα χρήση, αποτρέποντας έτσι την παραγωγή αποβλήτων από περίσσειες αντιδραστηρίων στο τέλος της διαδικασίας καθαρισμού.



Εικόνα 4. Φύσιγγα αντιδραστηρίων QIASymphony (RC). Η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) περιέχει όλα τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για την εκτέλεση του πρωτοκόλλου.

Πριν από την έναρξη της διαδικασίας, διασφαλίστε πως τα μαγνητικά σωματίδια έχουν πλήρως επανεναιωρηθεί. Αφαιρέστε το λεκανίδιο των μαγνητικών σωματιδίων από το πλαίσιο της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC), στροβιλίστε το έντονα για τουλάχιστον 3 λεπτά και τοποθετήστε το ξανά στο πλαίσιο της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC) πριν από την πρώτη χρήση.

Σημείωση: Τα μαγνητικά σωματίδια μπορούν να αλλάξουν χρώμα. Αυτό δεν επηρεάζει την απόδοση.

Τοποθετήστε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) στη θήκη της φύσιγγας αντιδραστηρίων. Πριν να χρησιμοποιήσετε μια φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) για πρώτη φορά, τοποθετήστε το κάλυμμα διάτρησης πάνω από τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (Εικόνα 4).

Σημείωση: Το κάλυμμα διάτρησης είναι αιχμηρό. Να είστε προσεκτικοί κατά την τοποθέτησή του στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC). Διασφαλίστε ότι τοποθετείτε το κάλυμμα διάτρησης πάνω στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) με σωστό προσανατολισμό.

Αφού αφαιρεθεί το κάλυμμα του λεκανιδίου, η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) φορτώνεται στη συνέχεια στο συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα).

Οι μερικώς χρησιμοποιημένες φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC) μπορούν να φυλαχθούν έως την επόμενη χρήση τους (βλ. ενότητα «Αποθήκευση και χειρισμός αντιδραστηρίων» στη σελίδα 14).

Σημείωση: Πρέπει να προστεθεί Proteinase K (βλ. ενότητα «Απαραίτητες ενέργειες πριν από την εκκίνηση» στη σελίδα 28).

Σημείωση: Διασφαλίστε ότι δεν αναμειγνύετε φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC), λεκανίδια μαγνητικών σωματιδίων και φιάλες Proteinase K από διαφορετικές παρτίδες κιτ.

**Φόρτωση πλαστικών υλικών στο συρτάρι «Reagents and Consumables»
(Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)**

Οι φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων, τα 8-Rod Covers (αμφότερα προτοποθετημένα σε κουτιά μονάδων) και τα αναλώσιμα ρύγχη Filter-Tips (των 200 μl σε μπλε στατώ και των 1.500 μl σε μαύρα στατώ) φορτώνονται στο συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα).

Σημείωση: Διασφαλίστε πως τα καλύμματα των κουτιών μονάδων έχουν αφαιρεθεί πριν από την φόρτωση των κουτιών μονάδων στο συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα).

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

Οι υποδοχές στατώ στο τραπέζι εργασίας του οργάνου QIASymphony SP δέχονται και τους δύο τύπους στατώ για ρύγχη. Το όργανο QIASymphony SP αναγνωρίζει τον τύπο των ρυγχών που φορτώνονται κατά τη σάρωση υλικού.

Σημείωση: Μην επαναπληρώνετε τα στατώ για ρύγχη ή τα κουτιά μονάδων για φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων ή 8-Rod Covers πριν από την έναρξη μιας ακόμα εκτέλεσης πρωτοκόλλου. Το όργανο QIASymphony SP μπορεί να χρησιμοποιήσει μερικούς χρησιμοποιημένα στατώ για ρύγχη και κουτιά μονάδων.

Για πληροφορίες σχετικά με την παραγγελία πλαστικών υλικών, βλ. σελίδα 41.

Φόρτωση του συρταριού «Waste» (Απόβλητα)

Οι φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων και τα 8-Rod Covers που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια μιας εκτέλεσης τοποθετούνται ξανά σε άδεια κουτιά μονάδων στο συρτάρι «Waste» (Απόβλητα). Βεβαιωθείτε πως το συρτάρι «Waste» (Απόβλητα) περιέχει επαρκή αριθμό άδειων κουτιών μονάδων για τα πλαστικά απόβλητα που συσσωρεύονται κατά την εκτέλεση του πρωτοκόλλου.

Σημείωση: Βεβαιωθείτε πως τα καλύμματα των κουτιών μονάδων έχουν αφαιρεθεί πριν από τη φόρτωση των κουτιών μονάδων στο συρτάρι «Waste» (Απόβλητα). Εάν χρησιμοποιείτε κουτιά 8-Rod Covers για τη συλλογή χρησιμοποιημένων φυσιγγών προετοιμασίας δειγμάτων και 8-Rod Covers, βεβαιωθείτε πως έχει αφαιρεθεί το διαχωριστικό κουτιών.

Στην πρόσθια πλευρά του συρταριού «Waste» (Απόβλητα) πρέπει να τοποθετηθεί μια σακούλα για τα μεταχειρισμένα Filter-Tips.

Σημείωση: Το σύστημα δεν ελέγχει αν έχει τοποθετηθεί σακούλα απόρριψης ρυγχών. Βεβαιωθείτε πως έχει τοποθετηθεί σωστά η σακούλα απόρριψης ρυγχών 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.

Ένα δοχείο αποβλήτων συλλέγει τα υγρά απόβλητα που δημιουργούνται κατά τη διαδικασία καθαρισμού. Το συρτάρι «Waste» (Απόβλητα) μπορεί να κλείσει μόνο εφόσον το δοχείο αποβλήτων βρίσκεται στη θέση του. Απορρίψτε τα υγρά απόβλητα σύμφωνα με τους 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» (Έκλουσμα)

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

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης (μl)*	Αρχικός όγκος έκλουσης (μl)†
60	75

* Αυτός ο όγκος είναι ο ελάχιστος διαθέσιμος όγκος εκλούσματος στο τελικό σωληνάριο έκλουσης για τη θήκη QIAGEN EMT (αρ. κατ. 19588) και για τα σωληνάρια με βιδωτό πώμα 1,5 ml Sarstedt (αρ. κατ. 72.607). Σε μεμονωμένες περιπτώσεις ο τελικός όγκος εκλούσματος για ξεχωριστά δείγματα μπορεί να είναι έως και 5 μl μικρότερος.

† Ο αρχικός όγκος του ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης που απαιτείται προκειμένου να διασφαλισθεί ότι ο πραγματικός όγκος του εκλούσματος είναι ίδιος με τον επιλεγμένο.

Σάρωση υλικού

Πριν από την έναρξη μιας εκτέλεσης, το όργανο ελέγχει εάν έχουν φορτωθεί επαρκή αναλώσιμα στα αντίστοιχα συρτάρια για την παρτίδα ή τις παρτίδες που βρίσκονται σε σειρά αναμονής.

Προετοιμασία του υλικού του δείγματος

Βλ. «Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων», σελίδα 16.

Φύλαξη του ccfDNA

Μετά την παρασκευή του δείγματος, τα εκλούσματα ccfDNA μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία -20 ή -80 °C. Τα κατεψυγμένα εκλούσματα δεν θα πρέπει να αποψύχονται περισσότερες από τρεις φορές. Για τις πλέον επικαιροποιημένες πληροφορίες σχετικά με τη σταθερότητα του ccfDNA σε εκλούσματα, ανατρέξτε στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com ή www.PreAnalytiX.com.

Επισκόπηση προϊόντος

Πίνακας 1. Επισκόπηση προϊόντος

Δείγμα	Επεξεργασία του σωληναρίου PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)	Όγκος εισαγωγής δείγματος (συμπ. κενού όγκου) (ml)	Όγκος δείγματος που χρησιμοποιείται για εκχύλιση ccfDNA (ml)	Όγκος έκλουσης (μl)	Πρωτόκολλο οργάνου QIAsymphony SP
Πλάσμα που δημιουργήθηκε από ανθρώπινο φλεβικό ολικό αίμα που συλλέχθηκε σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)	Φυγοκέντριση 2 φορές, μεταφορά πλάσματος σε δευτερεύον σωληνάριο	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	Φυγοκέντριση 1 φορά, απευθείας επεξεργασία σε όργανο QIAsymphony SP	Ανάλογα με το εργαλείο επιλογής	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Σημαντικές υποδείξεις πριν από την εκκίνηση

- Κατά την εργασία με χημικές ουσίες και βιολογικά δείγματα φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφαλείας (Safety Data Sheets, SDS).
- Βεβαιωθείτε πως έχετε εξοικειωθεί με τη λειτουργία του οργάνου QIAsymphony SP. Για τις οδηγίες που αφορούν τη λειτουργία, ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που συνοδεύουν το όργανο.
- Πριν ξεκινήσετε τη διαδικασία, διαβάστε την ενότητα «Αρχές της διαδικασίας».
- Βεβαιωθείτε πως έχετε εξοικειωθεί με το φύλλο πρωτοκόλλου και τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού (που βρίσκεται στην ενότητα Product Resources (Πόροι προϊόντος) στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com).
- Αποφύγετε την έντονη ανακίνηση της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC) διότι, σε αντίθετη περίπτωση, ενδέχεται να σχηματιστεί αφρός ο οποίος μπορεί να οδηγήσει σε προβλήματα ανίχνευσης της στάθμης υγρού.

- Το αίμα πρέπει να συλλέγεται σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD; PreAnalytiX, αρ. κατ. 768165). Για πληροφορίες σχετικά με τη συλλογή και τον χειρισμό αίματος και την επεξεργασία πλάσματος ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης που βρίσκονται στην ενότητα Product Resources (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com ή www.PreAnalytiX.com, αντίστοιχα.

Απαραίτητες ενέργειες πριν από την εκκίνηση

- Πριν από την έναρξη της διαδικασίας, διασφαλίστε πως τα μαγνητικά σωματίδια έχουν πλήρως επανεναιωρηθεί. Στροβιλίστε δυνατά το λεκανίδιο που περιέχει τα μαγνητικά σωματίδια για 3 λεπτά τουλάχιστον πριν από την πρώτη χρήση.
- Βεβαιωθείτε πως το κάλυμμα διάτρησης έχει τοποθετηθεί επάνω στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) και πως το κάλυμμα του λεκανιδίου μαγνητικών σωματιδίων έχει αφαιρεθεί ή, εάν χρησιμοποιείτε μία μερικώς χρησιμοποιημένη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC), βεβαιωθείτε πως έχουν απομακρυνθεί οι ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση.
- Η Proteinase K δεν περιλαμβάνεται στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) αλλά παρέχεται από τον χρήστη (συρτάρι «Sample» (Δείγμα), υποδοχή A, θέση 1 ή/και 2). Βεβαιωθείτε ότι διατίθεται ο σωστός όγκος δείγματος Proteinase K

Το κιτ QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) περιέχει έτοιμο προς χρήση διάλυμα Proteinase K. Η Proteinase K φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C). Για μακροχρόνια φύλαξη, συνιστούμε να φυλάσσετε τα φιαλίδια ενζύμων με την Proteinase K στους 2–8 °C.

Αριθμός δείγματος	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1.980 µl	2.860 µl
24	3.740 µl	6.380 µl
48	6.380 µl	11.660 µl†
96	11.660 µl†	23.320 µl†

* Για κάθε δείγμα, απαιτούνται 110 µl (για 2.400 µl πλάσματος) ή 220 µl (για 4.800/4.000 µl πλάσματος), συν επιπλέον κενός όγκος 1.100 µl [(n x 110 ή 220 µl) + 1.100 µl].

† Εάν απαιτούνται πάνω από 11.660 µl, χρησιμοποιήστε ένα δεύτερο σωληνάριο (Corning, αρ. κατ. 352051). Για το δεύτερο σωληνάριο απαιτείται επιπλέον κενός όγκος 1.100 µl.

Σημείωση: Τα σωληνάρια που περιέχουν Proteinase K τοποθετούνται σε έναν φορέα σωληναρίων. Ο φορέας σωληναρίων που περιέχει την Proteinase K πρέπει να τοποθετείται στις θέσεις 1 και 2 της υποδοχής A του συρταριού «Sample» (Δείγμα). Συνιστούμε τη χρήση σωληναρίων 14 ml από πολυστυρένιο με στρογγυλό πυθμένα 17 x 100 mm (Corning, αρ. κατ. 352051) για την Proteinase K.

- Εάν τα δείγματα φέρουν γραμμωτό κώδικα, προσανατολίστε τα δείγματα στον φορέα σωληναρίων με τέτοιο τρόπο ώστε ο γραμμωτός κώδικας να είναι στραμμένος προς τον αναγνώστη γραμμωτού κώδικα στην αριστερή πλευρά του οργάνου QIAAsymphony SP.
- Για πληροφορίες σχετικά με τα σωληνάρια δείγματος και τους ελάχιστους όγκους δείγματος, ανατρέξτε στον αντίστοιχο κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που βρίσκεται στην ενότητα Product Resources (Πόροι προϊόντος) στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com.

Πρωτόκολλο: Αυτόματος καθαρισμός ccfDNA στο όργανο QIASymphony SP

Λεπτομερείς πληροφορίες για κάθε πρωτόκολλο, όπως για τους όγκους και τα σωληνάρια, παρέχονται στο φύλλο πρωτοκόλλου και στον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που βρίσκεται στην ενότητα Product Resources (Πόροι προϊόντος) στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο **www.qiagen.com**. Για την παρασκευή του υλικού του δείγματος (πλάσμα που δημιουργήθηκε από ανθρώπινο φλεβικό ολικό αίμα που συλλέχθηκε σε σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)), βλ. την ενότητα «Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων» και την ενότητα «Προετοιμασία του υλικού του δείγματος» στο παρόν εγχειρίδιο, καθώς και τις οδηγίες χρήσης που βρίσκονται στην ενότητα Product Resources (Πόροι προϊόντος) στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο **www.qiagen.com** ή **www.PreAnalytiX.com**, αντίστοιχα.

1. Κλείστε όλα τα συρτάρια και το κάλυμμα.
2. Ενεργοποιήστε το όργανο QIASymphony SP και περιμένετε έως ότου εμφανιστεί η οθόνη **Sample Preparation** (Παρασκευή δείγματος) και ολοκληρωθεί η διαδικασία αρχικοποίησης.
3. Ο κεντρικός διακόπτης βρίσκεται στην αριστερή κάτω γωνία του οργάνου QIASymphony SP.
4. Συνδεθείτε στο όργανο.

Φορτώστε την απαιτούμενη θήκη έκλυσης στο συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα).

Μην φορτώσετε πλάκα 96 βυθισμάτων στην υποδοχή «Elution slot 4» (Υποδοχή έκλυσης 4). Πρέπει να χρησιμοποιηθεί η υποδοχή «Elution slot 1» (Υποδοχή έκλυσης 1) με τον αντίστοιχο προσαρμογέα ψύξης.

Κατά τη χρήση πλάκας 96 βυθισμάτων βεβαιωθείτε πως η πλάκα έχει προσανατολιστεί σωστά. Η λανθασμένη τοποθέτηση μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένη διάταξη των δειγμάτων κατά την καθοδική ανάλυση.

Όταν χρησιμοποιείται το στατώ Elution Microtubes CL, αφαιρέστε τον πυθμένα περιστρέφοντας το στατώ μέχρι να αποσπασθεί ο πυθμένας.

5. Διασφαλίστε ότι έχει προετοιμαστεί σωστά το συρτάρι «Waste» (Απόβλητα) και διενεργήστε σάρωση υλικού του συρταριού «Waste» (Απόβλητα), όπως τον αγωγό ρυγχών, τον χώρο στάθμευσης ρυγχών, το κενό δοχείο υγρών αποβλήτων και τα κενά κουτιά μονάδων. Εάν χρειάζεται, αντικαταστήστε τη σακούλα απόρριψης ρυγχών.
6. Φορτώστε την απαιτούμενη φύσιγγα (ή τις φύσιγγες) αντιδραστηρίων (RC) και τα αναλώσιμα στο συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα).
7. Εκτελέστε σάρωση υλικού του συρταριού «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα).
8. Τοποθετήστε τα δείγματα στον κατάλληλο φορέα δειγμάτων και φορτώστε τα κατόπιν στο συρτάρι «Sample» (Δείγμα).

Σημείωση: Εκτός από την κανονική επεξεργασία που περιλαμβάνει μεταφορά πλάσματος σε κατάλληλο φορέα δειγμάτων (σωληνάριο 14 ml από πολυστυρένιο με στρογγυλό πυθμένα 17 x 100 mm Falcon®), η ροή εργασίας χειρισμού κύριου σωληναρίου PAXgene Blood ccfDNA Tube επιτρέπει την εκχύλιση ccfDNA απευθείας από το σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube (σωληνάριο 10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), 16 x 100 mm). Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τον χειρισμό κύριου σωληναρίου ανατρέξτε στο φύλλο πρωτοκόλλου, στον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού και στις οδηγίες χρήσης που βρίσκονται στην ενότητα Product Resources (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com ή www.PreAnalytiX.com, αντίστοιχα.

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

Καταχωρίστε τις εξής πληροφορίες:

- Πληροφορίες δείγματος (ανάλογα με τα στατώ δειγμάτων που χρησιμοποιούνται επιλέξτε **BD #352051 FalconPP 17 x 100** ή **BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100**)
- 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 μια παρτίδα τεθεί σε ουρά αναμονής, εμφανίζεται το κουμπί **Run** (Εκτέλεση).

10. Τοποθετήστε την Proteinase K στον κατάλληλο φορέα δειγμάτων στη θέση 1 και 2 και φορτώστε την στην υποδοχή A στο συρτάρι «Sample» (Δείγμα).

11. Προσδιορίστε την Proteinase K πατώντας το κουμπί **IC** (Εσωτερικός μάρτυρας).

12. Πατήστε το κουμπί **Run** (Εκτέλεση) 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. Αφαιρέστε τη θήκη έκλουσης που περιέχει το καθαρό ccfDNA από το συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα). Επιβεβαιώστε την απομάκρυνση της θήκης έκλουσης με το λογισμικό του οργάνου QIASymphony SP.

14. Το ccfDNA είναι έτοιμο για χρήση ή φύλαξη σε θερμοκρασία $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ή $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ για έως 6 μήνες.

Η QIAGEN συνιστά την αφαίρεση της πλάκας εκλούσματος από το συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα) αμέσως μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης. Ανάλογα με τη θερμοκρασία και την υγρασία, οι πλάκες έκλουσης που παραμένουν στο όργανο QIASymphony SP μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης ενδέχεται να υποστούν συμπύκνωση ή εξάτμιση.

Σημείωση: Με χρήση της λειτουργίας ψύξης του οργάνου QIASymphony SP είναι εφικτή η διενέργεια εκτελέσεων κατά τη διάρκεια της νύχτας.

Τα μαγνητικά σωματίδια δεν μεταφέρονται γενικά στα εκλούσματα. Σε περίπτωση που προκύψει επιμόλυνση, τα μαγνητικά σωματίδια εντός των εκλουσμάτων δεν επηρεάζουν τις περισσότερες καθοδικές εφαρμογές.

Αν τα μαγνητικά σωματίδια χρειάζεται να αφαιρεθούν πριν τη διενέργεια 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: Ποσοτικός προσδιορισμός ccfDNA»).

Αρχεία αποτελεσμάτων παράγονται για κάθε πλάκα έκλουσης.

15. Εάν η φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC) 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 φυσίγγων αντιδραστηρίων (RC), βλ. την ενότητα «Αποθήκευση και χειρισμός αντιδραστηρίων».

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

Για πληροφορίες σχετικά με την ασφάλεια βλ. την ενότητα «Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις».

17. Καθαρίστε το όργανο 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 όργανο QIASymphony SP.

Έλεγχος ποιότητας

Σύμφωνα με το πιστοποιημένο κατά ISO σύστημα διαχείρισης ποιότητας της QIAGEN, ελέγχεται κάθε παρτίδα του κιτ QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) προκαθορισμένων προδιαγραφών, για την εξασφάλιση μιας ομοιόμορφης ποιότητας του προϊόντος.

Περιορισμοί

Η απόδοση του συστήματος έχει τεκμηριωθεί σε μελέτες αξιολόγησης της απόδοσης καθαρισμού ccfDNA από πλάσμα που δημιουργήθηκε από ανθρώπινο φλεβικό ολικό αίμα που συλλέχθηκε σε σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Τα χαρακτηριστικά απόδοσης του κιτ QIAAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) προσδιορίστηκαν με θραύσματα 18S ριβοσώματος και DYS14 χρωμοσώματος Y του ccfDNA στο πλάσμα.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να επαληθεύσει την απόδοση του συστήματος για οποιεσδήποτε διαδικασίες χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο οι οποίες δεν καλύπτονται από τις μελέτες αξιολόγησης της απόδοσης της QIAGEN και της PreAnalytiX.

Για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου αρνητικής επίδρασης στα διαγνωστικά αποτελέσματα, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλοι μάρτυρες για καθοδικές εφαρμογές. Οποιαδήποτε διαγνωστικά αποτελέσματα προκύπτουν πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με άλλα κλινικά ή εργαστηριακά ευρήματα.

Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων

Ο οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων μπορεί να σας βοηθήσει στην επίλυση προβλημάτων που ενδεχομένως προκύψουν. Για πληροφορίες σχετικά με τα στοιχεία επικοινωνίας και για μια λίστα με συχνές ερωτήσεις, επισκεφτείτε τη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.PreAnalytiX.com ή www.qiagen.com.

Παρατηρήσεις και προτάσεις

Γενικά ζητήματα χειρισμού

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Μήνυμα σφάλματος στην οθόνη αφής | Εάν εμφανιστεί μήνυμα σφάλματος κατά τη διάρκεια ενός πρωτοκόλλου, ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που συνοδεύουν το όργανο. |
| b) | Διαφοροποιημένος όγκος έκλουσης ύστερα από εκτελέσεις κατά τη διάρκεια της νύχτας | Για τη βελτιστοποίηση της διεκπαιρωτικής ικανότητας, το kit QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) υποστηρίζει την επεξεργασία δειγμάτων κατά τη διάρκεια της νύχτας ψύχοντας τα εκλούσματα στο όργανο QIASymphony SP. Σε μεγάλες περιόδους ψύξης, οι όγκοι εκλούσμάτων μπορούν να αλλάξουν ανάλογα με τη θερμοκρασία και την υγρασία στο εργαστήριο. Για παράδειγμα, αν ο επιλεγμένος όγκος ήταν 60 μl σε θερμοκρασία 15–25 °C και υγρασία 30–60% μπορεί να μεταβληθεί σε εύρος 50–85 μl ύστερα από φύλαξη 12 ωρών πάνω στο όργανο. |

Κρουϊζήματα ύστερα από απόψυξη δειγμάτων πλάσματος

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Σχηματισμός κρουϊζημάτων στο πλάσμα | Για να αποφύγετε τον σχηματισμό κρουϊζημάτων, το πλάσμα μπορεί να αποψύχεται στους 30 °C για 30 λεπτά αντί για θερμοκρασία δωματίου. Μην αποψύχετε σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (π.χ., 4 °C). Στροβιλίστε το σωληνάριο για 30 δευτερόλεπτα μετά την απόψυξη. |
| b) | Χαμηλή απόδοση ccfDNA από το πλάσμα ύστερα από την απομάκρυνση των κρουϊζημάτων | Μην εκτελείτε φυγοκέντρηση του πλάσματος για την απομάκρυνση των κρουϊζημάτων διότι μπορεί να περιέχουν ccfDNA. |

Ανεπαρκής όγκος πλάσματος από σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)

- | | | |
|----|--|---|
| a) | Συλλογή αίματος κάτω από 10 ml σε σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) | Διασφαλίστε ότι συλλέγεται αίμα 10 ml σε σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του σωληναρίου PAXgene Blood ccfDNA Tube. |
| b) | Υψηλό κυτταρικό κλάσμα | Το υψηλό επίπεδο κυτταρικού κλάσματος (αιματοκρίτη) στο ανθρώπινο ολικό αίμα (π.χ., άνω του 51% για άνδρες ή του 47% για γυναίκες) μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένους όγκους πλάσματος. |
| c) | Χαμηλή απόδοση πλάσματος ύστερα από φυγοκέντρηση | Οι μεγαλύτεροι χρόνοι φύλαξης και μεταφοράς αίματος ή διαφορετικές συνθήκες φυγοκέντρησης από τις καθορισμένες μπορούν να επηρεάσουν τις αποδόσεις πλάσματος. |

Παρατηρήσεις και προτάσεις

Ίζημα σε Λεκανίδιο ανοιγμένης φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC) στο κιτ QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

- 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 τα λεκανίδια ρυθμιστικών διαλυμάτων των μερικώς χρησιμοποιημένων φυσιγγών (RC) με ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση όταν δεν χρησιμοποιούνται για καθαρισμό.
- b) Φύλαξη της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC) Η φύλαξη της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC) σε θερμοκρασία κάτω από 15 °C μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό ιζημάτων.

Χαμηλή απόδοση ccfDNA

- a) Τα μαγνητικά σωματίδια δεν ήταν πλήρως επανεναιωρημένα Πριν από την έναρξη της διαδικασίας, βεβαιωθείτε πως τα μαγνητικά σωματίδια είναι πλήρως επανεναιωρημένα. Στροβιλίστε σε αναδευτήρα vortex για τουλάχιστον 3 λεπτά πριν από τη χρήση. Η ημιτελής επανεναιώρηση ενδέχεται να οδηγήσει σε σφάλματα στη διανομή με πιπέτα.
- b) Απόφραξη του ρύγχους πιπέτας λόγω αδιάλυτου υλικού Το αδιάλυτο υλικό δεν αφαιρέθηκε από το δείγμα πριν από την έναρξη της διαδικασίας καθαρισμού στο όργανο QIASymphony SP.
- c) Το υλικό δείγματος περιέχει χαμηλή συγκέντρωση ccfDNA Λόγω της πολύ χαμηλής ποσότητας ccfDNA στα δείγματα πλάσματος, η μέτρηση της συγκέντρωσης ccfDNA μπορεί να αποδειχθεί δύσκολη ανάλογα με τη μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού που χρησιμοποιείται.
Συνιστάται η χρήση ευαίσθητης qPCR για τον έλεγχο της συγκέντρωσης ccfDNA στα εκλούσματα.
- d) Ημιτελής επαναπωματισμός της φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC) Η επαφή με την ατμόσφαιρα του περιβάλλοντος ενδέχεται να οδηγήσει σε μειωμένη σταθερότητα των ρυθμιστικών διαλυμάτων και, κατά συνέπεια, σε μειωμένη αποτελεσματικότητα της εκχύλισης ccfDNA με μια μερικώς χρησιμοποιημένη φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC). Βεβαιωθείτε πως σφραγίζετε προσεκτικά τα λεκανίδια ρυθμιστικών διαλυμάτων των μερικώς χρησιμοποιημένων φυσιγγών (RC) με ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση όταν δεν χρησιμοποιούνται για καθαρισμό.

Χαμηλή απόδοση ccfDNA σε καθοδικές εφαρμογές

- a) Συμπυκνωμένο έκλουσμα με φυγοκέντρηση σε κενό Μην συμπυκνώνετε το έκλουσμα με φυγοκέντρηση σε κενό (π.χ., σε SpeedVac® ή παρεμφερές όργανο). Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε υποβάθμιση λόγω των υψηλών θερμοκρασιών και των συγκεντρωμένων αλάτων στο έκλουσμα και μπορεί να επηρεάσει τις καθοδικές εφαρμογές.
- b) Επιμόλυνση από σφαιρίδια Τα μαγνητικά σωματίδια δεν μεταφέρονται γενικά στα εκλούσματα. Σε περίπτωση που προκύψει επιμόλυνση, τα μαγνητικά σωματίδια εντός των εκλουσμάτων δεν επηρεάζουν τις περισσότερες καθοδικές εφαρμογές. Σε περίπτωση που χρειάζονται πολύ υψηλές ποσότητες εκλουσμάτων για συγκεκριμένους καθοδικούς προσδιορισμούς, μπορείτε να φυγοκεντρίσετε τα εκλούσματα και να τα μεταφέρετε σε καθαρό σωληνάριο.

Παρατηρήσεις και προτάσεις

Δεν υπάρχει μεταφορά δειγμάτων ή είναι ημιτελής

- a) Φορτώνεται εσφαλμένος όγκος δείγματος για τυπικά πρωτόκολλα
- Αν φορτωθεί λιγότερος όγκος δείγματος από τον καθορισμένο, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος ασαφούς επισήμανσης του δείγματος ή κίνδυνος να μην μεταφερθεί [επισήμανση invalid (μη έγκυρο)]. Φορτώστε τον σωστό όγκο δείγματος όπως περιγράφεται στο αντίστοιχο φύλλο πρωτοκόλλου και τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού.
- b) Φυσαλίδες ή/και αφρός στο σωληνάριο δείγματος
- Οι φυσαλίδες ή ο αφρός στο δείγμα ή/και στο σωληνάριο εισαγωγής δείγματος ενδέχεται να οδηγήσει σε εσφαλμένη ανάχνευση στάθμης υγρού και, κατά συνέπεια, σε ημιτελή μεταφορά δείγματος. Απομακρύνετε τις φυσαλίδες από το σωληνάριο δείγματος.

Σύμβολα

Τα παρακάτω σύμβολα ενδέχεται να εμφανίζονται στις οδηγίες χρήσης ή στη συσκευασία και την επισήμανση:



<N>

Περιέχει αντιδραστήρια που επαρκούν για <N> δοκιμασίες. Υποδεικνύει τον συνολικό αριθμό δοκιμασιών IVD που μπορούν να διενεργηθούν με το προϊόν IVD.



Ημερομηνία λήξης



In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν



Σήμανση CE. Το προϊόν πληροί τις απαιτήσεις του Ευρωπαϊκού Κανονισμού 2017/746 για τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα.



Αριθμός καταλόγου



Αριθμός παρτίδας



Αριθμός υλικού (δηλ. επισήμανση στοιχείου)



Στοιχεία (δηλ. κατάλογος περιεχομένων)



Περιεχόμενο (περιεχόμενα)

NUM

Αριθμός (δηλ. φιαλιδίων, φιαλών)

GTIN

Διεθνής κωδικός μονάδων εμπορίας

Rn

Η ένδειξη R αφορά στην αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης (εγχειρίδιο) και η είναι ο αριθμός αναθεώρησης



Περιορισμός θερμοκρασίας



Κατασκευαστής



Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης



Προσοχή

PROTK

Proteinase K

WELL

Αριθμός βυθίσματος (δηλ. βύθισμα RC)

REAG **CART**

Φύσιγγα αντιδραστηρίων

Sodium azide

Αζίδιο του νατρίου

Παράρτημα: Ποσοτικός προσδιορισμός ccfDNA

Εξαιτίας των πολύ χαμηλών συγκεντρώσεων ccfDNA στα υλικά δείγματος, δεν συνιστάται η μέτρηση DNA με φασματοφωτόμετρο. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ccfDNA θα πρέπει να χρησιμοποιείται ένας ευαίσθητος και ακριβής ποσοτικός προσδιορισμός που βασίζεται σε μέθοδο φθορισμού ή ένας προσδιορισμός real-time PCR.

Αν χρειάζεται να απομακρυνθούν τα μαγνητικά σωματίδια, τοποθετήστε το σωληνάριο που περιέχει το DNA σε έναν κατάλληλο μαγνητικό διαχωριστή (π.χ., QIAGEN 12-Tube Magnet, αρ. κατ. 36912) μέχρι να διαχωριστούν τα μαγνητικά σωματίδια.

Αν το DNA βρίσκεται σε μικροπλάκες, τοποθετήστε τη μικροπλάκα σε έναν κατάλληλο μαγνητικό διαχωριστή (π.χ., QIAGEN 96-Well Magnet Type A, αρ. κατ. 36915) μέχρι να διαχωριστούν τα μαγνητικά σωματίδια. Αν δεν υπάρχει διαθέσιμος κατάλληλος μαγνητικός διαχωριστής, φυγοκεντρίστε το σωληνάριο που περιέχει το DNA για 1 λεπτό σε πλήρη ταχύτητα σε μικροφυγόκεντρο για να δημιουργήσετε ίζημα από τυχόν υπολειπόμενα μαγνητικά σωματίδια.

Πληροφορίες παραγγελιών

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. κατ.
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Περιέχει 2 φύσιγγες αντιδραστηρίων (RC), σωληνάρια Proteinase K και παρελκόμενα	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 σωληνάρια: 16 x 100 mm, 1,5 ml προσθετικό, 10 ml όγκος αίματος που λήφθηκε	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	Μονάδα προετοιμασίας δειγμάτων QIASymphony, εγγύηση 1 έτους στα εξαρτήματα και την εργασία	9001297
Σχετικά προϊόντα QIAGEN		
Proteinase K (10 ml)	Φιάλη 1 x 10 ml	19133
Reagent Cartridge Holder (2)	Θήκη φύσιγγας αντιδραστηρίων (RC) για χρήση με το όργανο QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Προσαρμογέας ψύξης για σωληνάρια 2 ml με βιδωτό καπάκι. Για χρήση στο συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα) του οργάνου QIASymphony SP	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Προσαρμογέας ψύξης για θήκες EMT. Για χρήση στο συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα) του οργάνου QIASymphony SP	9020730

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. κατ.
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Προσαρμογέας ψύξης για σωληνάρια 1,5 ml της Eppendorf® τύπου LoBind Snap Cap Safe-Lock. Για χρήση στο συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα) του οργάνου QIASymphony SP	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων 8 βυθισμάτων για χρήση με το όργανο QIASymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	Καλύμματα 8 ράβδων για χρήση με το όργανο QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, τοποθετημένα σε θήκη (8 x 128). Για χρήση με τα όργανα QIAcube® και QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl, Qsym SP (1024)	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, τοποθετημένα σε θήκη (8 x 128). Για χρήση με το όργανο QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Σακούλες απόρριψης ρυγχών για χρήση με το όργανο 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 σε πλάκες 96 βυθισμάτων, 2 x 96-Well Microplates FB	36915

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. κατ.
Reuse Seal Set (20)	Σετ σφράγισης για επαναληπτική χρήση για τη σφράγιση μερικώς χρησιμοποιημένων φυσίγγων αντιδραστηρίων (RC) QIASymphony	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Μη αποστειρωμένα σωληνάρια πολυπροπυλενίου (μέγιστης χωρητικότητας 0,85 ml, χωρητικότητας αποθήκευσης κάτω από 0,7 ml, χωρητικότητας έκλουσης 0,4 ml), 2.304 σε στατώ των 96, με σειρές πωμάτων	19588
Caps for Elution Microtubes (50 x 8)	Πώματα για μικροσωληνάρια έκλουσης (50 x 8)	19591
14 ml Falcon Tube	Σωληνάριο από πολυστυρένιο με στρογγυλό πυθμένα 17 x 100 mm που χρησιμοποιείται ως φορέας δειγμάτων από το όργανο QIASymphony SP	Corning, 352051

Για ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με την άδεια χρήσης και για δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, βλ. το αντίστοιχο εγχειρίδιο του kit ή το εγχειρίδιο χρήστη της QIAGEN. Τα εγχειρίδια των kit και τα εγχειρίδια χρήστη της QIAGEN είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο www.PreAnalytiX.com και www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα Τεχνικής Υποστήριξης της QIAGEN ή τον διανομέα της περιοχής σας.

Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου

Αναθεώρηση	Περιγραφή
R1, Μάιος 2021	Αρχική κυκλοφορία

Παραγγείλες www.qiagen.com/shop | Τεχνική υποστήριξη support.qiagen.com | Ιστότοπος www.qiagen.com ή PreAnalytiX.com