

2021. május

QIAsymphony® PAXgene® Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) használati útmutató (kézikönyv)



192

1. verzió



In vitro diagnosztikai használatra



768566



PreAnalytiX GmbH, Feldbachstrasse, CH - 8634
Hombrechtikon, Svájc



1123518HU



A QIAGEN / BD Company

Védjegyek: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH); QIAGEN®, QIAcube®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Corning®, Falcon® (Corning, Inc.); Eppendorf® (Eppendorf AG); SpeedVac® (Thermo Fisher Scientific vagy leányvállalatai). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvényi védelmen kívül esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit korlátozott licencszerződés

A termék használatával a termék vásárlója vagy felhasználója elfogadja a következő feltételeket:

1. A terméket kizárólag a hozzá tartozó protokollok és a jelen kézikönyv szerint, valamint a panelhez tartozó komponensekkel együtt szabad használni. A PreAnalytiX® a szellemi tulajdonát képező termékek egyikének esetében sem engedélyezi, hogy a panelhez tartozó komponenseket a termékhez mellékelte protokollokban, a jelen kézikönyvben és a www.qiagen.com és a www.PreAnalytiX.com webhelyen elérhető további protokollokban leírtak kivételével más, nem a panelhez tartozó komponensekbe beépítsék vagy azokkal együtt használják.
2. A kifejezett licencen kívül a PreAnalytiX nem vállal garanciát arra, hogy a kit és/vagy annak használata nem sérti harmadik fél jogait.
3. A panel és a komponenseinek licence csak egyszerű használatra jogosít; újrafelhasználása, felújítása vagy újraértékesítése tilos.
4. A PreAnalytiX a kifejezett licencen kívül különösen kizár minden más konkrét vagy vélelmezett jogot.
5. A panel vásárlója és felhasználója elfogadja, hogy semmilyen olyan lépést nem tesz, és másnak sem engedélyezi semmilyen olyan lépés megtételét, amely a fentiekben előírtak megszegéséhez vezet vagy azt elősegíti. A PreAnalytiX jogosult a jelen korlátozott licencszerződésben foglalt tilalmak bármely bíróságon keresettili érvényesítésére, és az azzal kapcsolatban felmerülő összes vizsgálati és perki költség követelésére, beleértve a korlátozott licencre vonatkozó jelen szerződés vagy a panellel és/vagy komponenseivel kapcsolatos bármilyen szellemi tulajdonjog érvényesítése céljából indított peres eljárás ügyvédi költségeit.

A legfrissebb licencfeltételekért látogassa meg a www.qiagen.com és a www.PreAnalytiX.com honlapokat.

HB-2866-001 1123518 © 2021 PreAnalytiX GmbH, minden jog fenntartva.

Tartalom

Alkalmazási terület	5
Felhasználói célcsoport	5
Leírás és működési elv	6
Összefoglalás és magyarázat	6
Az eljárás elve	7
Biztosított anyagok	9
A kit tartalma	9
Szükséges, de nem biztosított anyagok	10
Eszközök.....	10
Figyelmeztetések és óvintézkedések	11
Biztonsági információk	11
Óvintézkedések.....	12
A reagensek tárolása és kezelése.....	14
Kitösszetevők	14
Mintavétel és a minta előkészítése.....	16
Eljárás	20
Áttekintés: A ccfDNS automatikus tisztítása a QIASymphony SP készülékkel.....	20
A protokoll áttekintése	25
Protokoll: A ccfDNS automatikus tisztítása a QIASymphony SP készülékkel.....	28
Minőség-ellenőrzés	31
Korlátozások.....	31
Hibaelhárítási útmutató.....	32
Szimbólumok.....	34

Függelék: A ccfDNS kvantifikációja.....	36
Rendelési információk.....	37
A dokumentum átdolgozási előzményei.....	39

Alkalmazási terület

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) a QIASymphony SP készülékkel együtt használva a keringő, szabad DNS (ccfDNS) automatizált izolálására és tisztítására szolgál a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) vérévételi csőbe levett humán vénás teljes vérből generált plazmából.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) mágnesesrészecske-technológiát alkalmaz a ccfDNS humán plazmából történő automatikus izolálásához és tisztításához.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) in vitro diagnosztikai használatra szolgál olyan szakemberek, például technikusok és orvosok számára, akik képzésben részesültek a molekuláris biológiában alkalmazott technikák terén.

Felhasználói célcsoport

A kit szakemberek számára készült.

A terméket kizárólag olyan személyek használhatják, akik a megfelelő utasításokat kaptak, és képzésben részesültek a molekuláris biológiában alkalmazott technikák terén, illetve ismerik ezeket a technikákat.

Leírás és működési elv

Összefoglalás és magyarázat

A keringő szabad DNS (ccfDNS) általában rövid fragmentumokként (< 1000 bp) van jelen a plazmában. A ccfDNS koncentrációja a plazmában általában alacsony (1–100 ng/ml), és egyénenként jelentősen eltérő lehet. A CE-jelöléssel rendelkező PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) és a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) termékek együtt alkalmazva szabványos munkafolyamatot biztosítanak a vér levételéhez, tárolásához és szállításához; a DNS zárt csőben való stabilizálásához, majd azt követően a ccfDNS humán plazmából történő, QIAGEN® QIASymphony SP készülékkel végzett izolálásához és tisztításához.

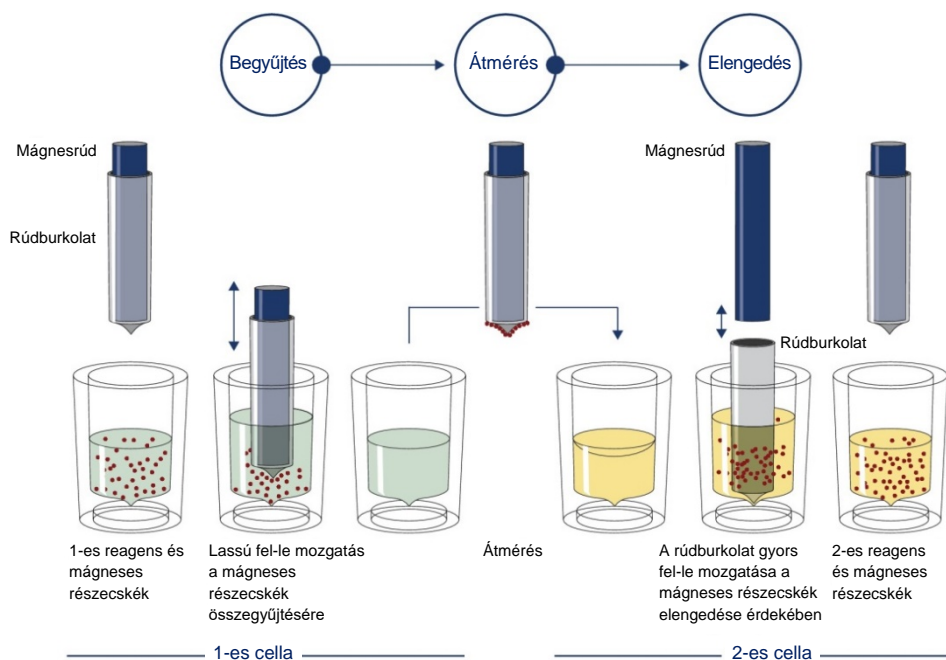
A QIASymphony SP készülékkel végzett protokollok a ccfDNS-nek a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csövekbe mért, 2,4 és 4,8 ml plazmából, dupla centrifugálással történő extrakciójára szolgálnak. A plazmát a QIASymphony SP készülékben egy másodlagos csőben viszik át és dolgozzák fel.

Alternatívaként elsődleges cső kezelési protokollok is elérhetők a QIASymphony SP készülék esetében, ha a bemeneti térfogat 2,4 és 4 ml plazma. Ebben az esetben nincs szükség második centrifugálási lépésre, illetve a másodlagos csőbe történő plazmaátvitelre.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit mágnesesrészecske-technológia lehetővé teszi a fehérjéktől, nukleázoktól és más szennyezőanyagoktól mentes, jó minőségű ccfDNS tisztítással való kinyerését. A QIASymphony SP készülék végrehajtja a tisztítási eljárást minden lépését. Egyetlen futtatással legfeljebb 96 mintát tud feldolgozni, 24-es kötegekben. Arra vonatkozóan, hogy a genomális DNS (gDNS) hogyan izolálható a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csövekbe levett vér magvas sejtfrakciójából a QIASymphony SP készülék segítségével, olvassa el a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) használati útmutatóját (www.PreAnalytiX.com).

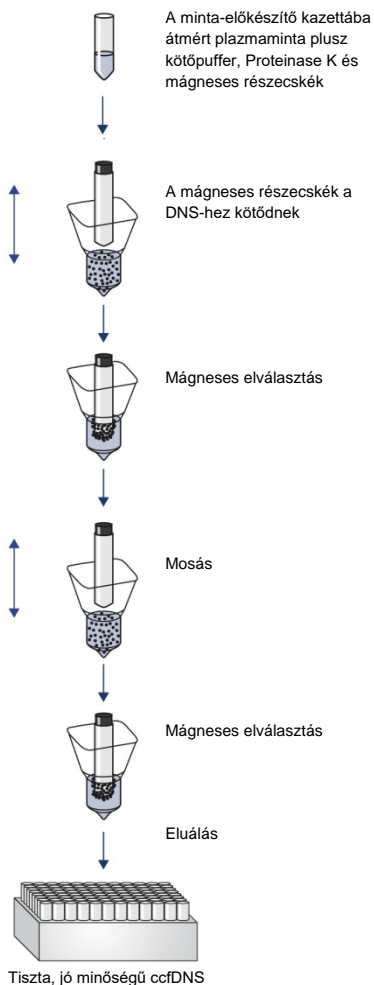
Az eljárás elve

A QIASymphony SP készülék technológiája egyesíti az anioncsere-alapú nukleinsav-tisztítás gyorsaságát és hatékonyságát a mágneses részecskék könnyű kezelhetőségével (1. ábra). A tisztítási eljárást úgy tervezték, hogy biztosítsa a potenciálisan fertőző minták biztonságos és reprodukálható kezelését. A folyamat 3 lépésből áll: kötés, mosás és eluálás (2. ábra). A felhasználók különböző mintabeviteli térfogat közül választhatnak.



1. ábra. A QIASymphony SP készülék alapelveinek sematikus ábrázolása. A QIASymphony SP készülék a mágneses részecskéket tartalmazó mintákat a következőképpen dolgozza fel: egy rúdburkolattal védett mágnesrúd belép a mintát tartalmazó cellába, és vonzza a mágneses részecskéket. A mágnesrúd burkolatát áthelyezik egy másik cella fölé, ahol a mágneses részecskék elszabadulnak. Ezeket a lépéseket többször megismétli a készülék a minta feldolgozása során. A QIASymphony SP készülék egy 24 mágnesrudat tartalmazó mágnesfejet használ, így egyszerre 24 minta feldolgozását tudja elvégezni.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



2. ábra. A ccfDNS extrakciójának lépései a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) készlettel. A ccfDNS fragmentumokat a humán vénás teljes vérből generált, PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csövekbe gyűjtött plazmából izolálják. Az első feldolgozási lépés során megtörténik a plazmafehérjék Proteinase K enzimmel való emésztése, valamint a ccfDNS mágneses részecskékhez való kötése. A szennyezőanyagok eltávolítását három mosási lépés biztosítja. Végül megtörténik a ccfDNS mágneses részecskékről való elúciója, így használatra kész termék nyerhető a downstream alkalmazásokhoz.

Biztosított anyagok

A kit tartalma

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) Katalógusszám Reakciók száma		(192) 768566 192		
Rövidítés	Megnevezés	Mennyiség	Hatóanyagok	Koncentráció [%]**
RC	Reagent cartridge (reagenskazetta)*†	2	Nemionos detergens Anioncserélő mágneses részecske NaOH Etanol	≥ 0,5 – < 10 [m/m] Nem megfelelő ≥ 0,05 – < 0,1 [m/m] ≥ 70 – < 90 [v/v]
PROTK	Proteinase K (proteináz K)†	5 x 10 ml	Proteinase K	≥ 1 – < 3% [m/m]
PL	Piercing lid (lyukasztófedél)	2	—	Nem megfelelő
RSS	Reuse Seal Set (újrahasználati zárókészlet)‡	2	—	Nem megfelelő
	Elution Microtubes CL, racked (CL elúciós mikrocsovek, tartóban)#	2	—	Nem megfelelő
	Caps for Elution Microtubes (elúciós mikrocsovekhez való kupakok)#	1 x (55 x 8)	—	Nem megfelelő
	Használati útmutató (kézikönyv)	1	—	Nem megfelelő
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	—	Nem megfelelő

* Tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz.

† A szimbólumok listáját és jelentését lásd a 34. oldalon.

‡ A Reuse Seal Set 8 újrahasználati zárócsíkot tartalmaz.

Külön is kapható, lásd: Rendelési információk.

** Maximális cellánkénti koncentráció.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

A vegyi anyagokkal és biológiai mintákkal végzett munka során mindig kövesse az általános óvintézkedéseket, viseljen az intézményében hatályos irányelveknek és eljárásoknak megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információk a megfelelő biztonsági adatlapokon (Safety Data Sheet, SDS) találhatóak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetők be.

Győződjön meg róla, hogy az eszközöket a gyártó ajánlásai szerint ellenőrizték és kalibrálták.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, katalógusszám: 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, katalógusszám: 997004)
- Filter-Tips, 200 µl és 1500 µl (QIAGEN, katalógusszám: 990332 és 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, katalógusszám: 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) (PreAnalytiX, katalógusszám: 768165)
- Mintacsövek. A kompatibilis elsődleges és másodlagos csőtípusokat lásd a Labware (laboreszköz) listán, amely a **www.qiagen.com** termékoldal Product Resources (termékerőforrások) fülén érhető el.
- A kompatibilis elúciós csőtípusokat lásd a Labware (laboreszköz) listán, amely a **www.qiagen.com** termékoldal Product Resources (termékerőforrások) fülén érhető el.

Eszközök*

- Pipetta (5 ml)
- QIASymphony SP készülék (QIAGEN, katalógusszám: 9001297)

* Használat előtt ellenőrizze, hogy a műszereket a gyártó ajánlásai szerint ellenőrizték és kalibrálták-e.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

In vitro diagnosztikai használatra

A kit használata előtt figyelmesen olvassa el az összes utasítást.

Az Európai Unió vásárlói tartsák szem előtt, hogy az eszközzel összefüggésben fellépő súlyos incidenseket jelenteni kell a gyártó, valamint a felhasználó és/vagy a beteg tagállama szerinti illetékes kompetens hatóság felé.

Biztonsági információk

A vegyi anyagokkal és biológiai mintákkal végzett munka során mindig kövesse az általános óvintézkedéseket, viseljen az intézményében hatályos irányelveknek és eljárásoknak megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheet, SDS) tartalmazznak. Ezek PDF-formátumban elérhetők online a **www.qiagen.com/safety** címen, ahol megtalálhatja, megtekintheti és kinyomtathatja a minden egyes PreAnalytiX kithoz és annak komponenseihez tartozó biztonsági adatlapokat (Safety Data Sheet, SDS).

- Minden vegyi és biológiai anyag potenciálisan veszélyes. A minták potenciálisan fertőzőek lehetnek, ezért biológiailag veszélyes anyagként kezelendők.
- A mintákat és az assay során képződő hulladékokat a helyi biztonsági eljárásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

Óvintézkedések

A pufferek és a reagenskazetták (RC) nátrium-azidot tartalmaznak. Ha a kit valamely puffere kiömlik, megfelelő laboratóriumi tisztítószer és víz segítségével takarítsa fel. Ha potenciálisan fertőző anyagot tartalmazó folyadék ömlik ki, az érintett felületet először laboratóriumi tisztítószerrel és vízzel, majd 1%-os (v/v) nátrium-hipoklorittal (hipó) tisztítsa meg.

A következő veszélyességi és biztonsági jelzések vonatkoznak a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komponenseire.

MBS3

Tartalmazott anyag: Nátrium-azid. Vigyázat! Lenyelve ártalmas lehet. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

Proteinase K



Tartalmazott anyag: Proteinase K. Vigyázat! Enyhén bőrirritáló hatású. Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. Légzésvédelem használata kötelező. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Forduljon toxikológiai központhoz vagy orvoshoz. Az érintett személyt friss levegőre kell vinni és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni.

QSE2



Tartalmazott anyag: Nátrium-hidroxid. Veszély! Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben. **Szembe kerülés esetén:** Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Adott esetben kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. **Ha bőrre (vagy hajra) kerül:** Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal el kell távolítani/le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel/zuhanyozás. Azonnal forduljon toxikológiai központhoz vagy orvoshoz. Elzárva tárolandó. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

QSW9



Tartalmazott anyag: Etanol. Veszély! Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz. Súlyos szemirritációt okoz. Hőtől/sziktától/nyílt lángtól/forró felületektől távol tartandó. Tilos a dohányzás. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

A reagensek tárolása és kezelése

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) készletet függőleges pozícióban, szobahőmérsékleten (15–25 °C) kell tárolni. A reagenskazettákban (RC) lévő mágneses részecskék ebben a hőmérséklet-tartományban tárolva aktívak maradnak.

Megjegyzés: A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) dobozán lévő címkén található a kit lejáratási ideje. A lejáratási idő a reagenskazettára vonatkozik.

Ne használja a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) készletet a lejáratási időn túl.

Kitösszetevők

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) használatra kész, szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolható Proteinase K oldatot tartalmaz.

Ne tárolja a reagenskazettákat (RC) 15 °C alatti hőmérsékleten.

A már felnyitott QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) reagenskazetták szobahőmérsékleten (15–25 °C) legfeljebb 4 hétig tárolhatók, lehetővé téve a reagensek költséghatékony újrafelhasználását, és a minták rugalmasabb feldolgozását. Ha valamelyik reagenskazettát (RC) csak részben használta fel, helyezze vissza a mágneses részecskéket tartalmazó tál fedelét, és a párolgás megelőzése céljából a protokoll futtatása után azonnal zárja le a reagenskazettát a kitben található újrahazsnálási zárócsíkokkal.

A reagens párolgásának megakadályozása érdekében a reagenskazettát legfeljebb 15 órán át (a futtatási időket is beleszámolva), legfeljebb 32 °C környezeti hőmérsékleten szabad nyitva hagyni. A készletkomponensek nem megfelelő tárolása a pufferek szavatosságának idő előtti elvesztését eredményezheti.

Az alacsony mintaszámmal (< 24) futtatott kötegek megnövelik mind a reagenskazetta (RC) nyitott állapotának időtartamát, mind a szükséges puffertérfogatokat, ami potenciálisan csökkentheti a kazettánként feldolgozható előkészített minták teljes számát.

A reagenskazettákat (RC-k) ne tegye ki UV-fénynek (pl. dekontaminálás céljából), mivel ez a reagenskazetták és a pufferek szavatosságának idő előtti elvesztését okozhatja.

Vegye figyelembe a dobozon és az egyes komponensek címkéjén feltüntetett lejárati időt és tárolási körülményeket. Ne használjon lejárt szavatosságú vagy helytelenül tárolt komponenseket.

Mintavétel és a minta előkészítése

A tisztítási eljárást a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csőbe levett vérből generált plazmára optimalizálták. A vérvétellel, a csövek kezelésével és a plazma előkészítésével kapcsolatos információkért olvassa el a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) használati útmutatóját a www.qiagen.com és www.PreAnalytiX.com termékoldalak Product Resource (termékerőforrások), illetve Resources (erőforrások) fülén.

A plazma előkészítése elvégezhető (A) a szabványos dupla centrifugálási protokoll használatával, vagy (B) az elsődleges csövek kezelése révén: az egyszer centrifugált PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csövek közvetlen feldolgozása a QIASymphony SP berendezésen.

A.) Plazma előkészítése vérből a szabványos protokollokhoz

1. Centrifugálja a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csöveket szobahőmérsékleten (15–25 °C) 15 percig, 1600–3000 x g (első centrifugálás) mellett, majd 10 percig 1600–3000 x g (második centrifugálás) mellett, kiegyensúlyozott lengőkosaras centrifugával. Ha a fékezés preferált, ajánlott közepes szintű fékezést alkalmazni, és azt is validálni kell a konkrét munkafolyamathoz.

Megjegyzés: A centrifugálás előtt hűtőszekrényben tárolt minták esetén a legjobb teljesítmény érdekében a feldolgozás előtt hagyja, hogy a csövek szoba-hőmérsékletűre melegedjenek.

2. Pipetázza a plazmát egy 15 ml-es, kúpos aljú centrifugacsőbe (nem része a kitnek), ügyelve arra, hogy ne kavargassa föl az összegyűlt sejtfrakciót.
3. Centrifugálja a 15 ml-es kúpos aljú centrifugacsövet szobahőmérsékleten (15–25 °C) 15 percig, 1600–3000 x g (első centrifugálás) mellett, majd 10 percig 1600–3000 x g (második centrifugálás) mellett, kiegyensúlyozott centrifugában.

Megjegyzés: Ne lépje túl a másodlagos cső gyártója által ajánlott maximális centrifugálási sebességet.

4. Pipettázza a szükséges plazmatérfogatot (lásd a „Mintatérfogat” részt a 20. oldalon) egy 14 ml-es, 17 x 100 mm méretű, lekerekített aljú polisztirol csőbe, ügyelve arra, hogy ne kavarja fel az esetlegesen meglévő reziduális sejt pelletet.
5. Helyezze át a lekerekített aljú, plazmamintát tartalmazó csövet a csőtartóba, és helyezze a csőtartót a QIASymphony SP készülék mintabeviteli fiókjába.

Megjegyzés: A maximális ccfDNS-hozam érdekében dolgozza fel az elérhető maximális plazmatérfogatot.

Megjegyzés: Kerülje a habképződést a plazmamintákban vagy plazmamintákon. A mintákon lévő hab, vagy a mintákban lévő buborékok nem megfelelő mintatérfogat pipettázásához vezethetnek.

Megjegyzés: A vérvételt és a centrifugálást követően a PAXgene Blood ccfDNA Tube (IVD) csövek stabilizálják a ccfDNS-t (ccfDNS-profil) a plazmában 2–8 °C hőmérsékleten, a plazma feldolgozása előtt legfeljebb 7 napon át. Huzamosabb idejű tároláshoz javasoljuk, hogy fagyasszon le alikvotokat.

Megjegyzés: Ha korábban eltárolt (pl. 2–8 °C között hűtött, vagy –20 vagy –70 °C/–80 °C hőmérsékleten fagyasztott) plazmamintákat használ, ezeket szobahőmérsékletűre (15–25 °C) kell melegíteni a futtatás indítása előtt.

B) Plazma előkészítése vérből elsődleges cső kezeléséhez a QIASymphony SP készüléken

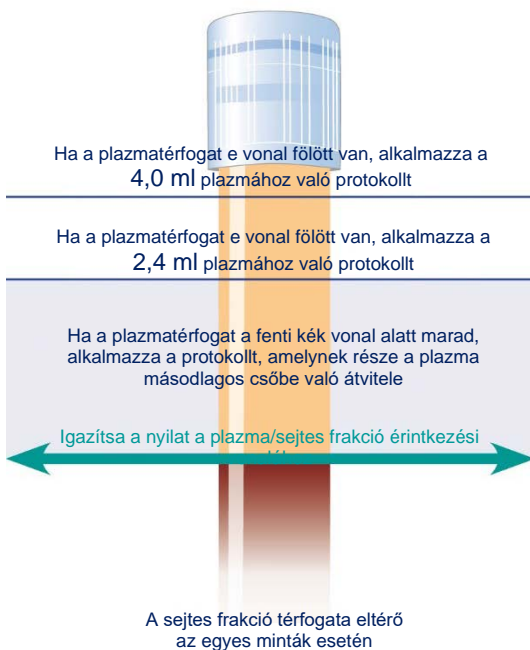
1. Centrifugálja a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csövet szobahőmérsékleten (15–25 °C-on) 15 percig 3000 x g mellett, kiegyensúlyozott lengőkосaras centrifugával. Ha a fékezés preferált, ajánlott közepes szintű fékezést alkalmazni, és azt is validálni kell a konkrét munkafolyamathoz.

Megjegyzés: A centrifugálás előtt hűtőszekrényben tárolt minták esetén a legjobb teljesítmény érdekében a feldolgozás előtt hagyja, hogy a csövek szoba-hőmérsékletűre melegedjenek.

2. Miután eltávolította a csöveket a centrifugakosarakból, mérje meg minden egyes csőben a plazma térfogatát a kit részét képező PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool eszközzel (3. ábra). Amikor eltávolítja a csövet a centrifugából, az eszközön lévő kékeszöld nyíl a plazma/sejtes frakció érintkezési felületéhez igazodik. A kék vonalak jelzik, hogy a plazmaszint elég-e a 2,4 vagy 4,0 ml-es elsődleges cső kezelési protokolljához. A 2,4 ml-es protokollhoz minimum 2,3 cm magas, a 4,0 ml-es protokollhoz pedig minimum 3,4 cm magas plazmaoszlop szükséges.



Határozza meg az optimális protokollt a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csövek QIAsymphony SP készülékben való közvetlen feldolgozásához



3. ábra. Plazmatérfogat meghatározása a PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool eszköz segítségével (az ábra csak szemléltetési célt szolgál; kérjük, ne nyomtassa ki, mert a tényleges méret eltérő – ne használja a mintákhoz).

Megjegyzés: Amennyiben nem különült el élesen a plazma és a sejt-frakció, vagy a centrifugából való eltávolítás során véletlenül összekeveredtek a fázisok, a centrifugálást meg kell ismételni.

3. Távolítsa el a Hemogard Closure Cap zárókupakot a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csövekről, mielőtt behelyezné azokat a QIASymphony SP készülékbe a közvetlen ccfDNS extrakcióhoz.

Megjegyzés: A cső zárókupájának eltávolítása és a nyitott csövek kezelése körültekintést igényel, a minta kiömlésének, a keresztszennyeződésnek és a vér által okozott expozíció lehetséges kockázatának csökkentése érdekében.

4. Helyezze be az elegendő plazmát tartalmazó, nyitott PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csöveket a csőtartóba, majd helyezze azt a QIASymphony SP készülék mintabeviteli fiókjába.

C) A PAXgene Blood ccfDNA Tube csőből kinyert plazmaminta fagyasztása és kiolvasztása

1. A fagyasztáshoz mérje át a plazmát megfelelő állványba helyezett, alkalmas csőbe (pl. kriocső).
2. A plazmát $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hőmérsékleten fagyassza és tárolja. A $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti tárolásához először fagyassza a plazmamintákat $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra, legalább 24 óráig, ezt követően szállítsa -70 vagy $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hőmérsékletre.
3. Olvassa ki a plazmát szobahőmérsékleten ($15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Megjegyzés: A kiolvasztást ne végezze alacsony hőmérsékleten (pl. $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on).

4. Ha a plazmában krioprecipitátumok alakulnak ki, kiolvasztás után vortex keverővel keverje a csöveket 30 másodpercig, majd további kezelés nélkül használja fel a mintát a QIASymphony SP készüléken végzett ccfDNS-izoláláshoz.

Megjegyzés: A krioprecipitátumok eltávolításához nem javasolt a plazma centrifugálása, mivel ccfDNS-t tartalmazhat.

Megjegyzés: A krioprecipitátumok kialakulásának megakadályozása érdekében a plazmát szobahőmérséklet helyett $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on olvassa ki, 30 percen át.

Eljárás

Áttekintés: A ccfDNS automatikus tisztítása a QIASymphony SP készülékkel

A QIASymphony SP készülék könnyűvé és egyszerűvé teszi az automatizált minta-előkészítést. A minták, a reagensek és a fogyóeszközök, valamint az eluátumok külön fiókokba kerülnek. Futtatás előtt egyszerűen helyezze be a mintákat, a speciális kazettákban lévő reagenseket és az előre csomagolt fogyóeszközöket a megfelelő fiókokba. Indítsa el a protokollt, és a feldolgozás után vegye ki a tisztított ccfDNS-t az „Eluate” (Eluátum) fiókból. A kezelési utasításokat a készülék felhasználói kézikönyveiben találja meg.

Megjegyzés: A választható karbantartás nem kötelező a készülék működőképessége szempontjából, azonban a szennyeződések kockázatának csökkentése érdekében erősen javasolt.

Mintatérfogat

Annak biztosítására, hogy a szabályos munkafolyamatban 2,4 ml (PAXcircDNA_2400 protokoll), illetve 4,8 ml (PAXcircDNA_4800 protokoll) mintatérfogat kerüljön a készülékbe, szükséges további 0,4 illetve 0,5 ml holtterefogat is, ami azt jelenti, hogy minimum 2,8 illetve 5,3 ml mintabevitelről kell gondoskodnia. Amennyiben csak a nevezett 2,8 vagy 5,3 ml-nél kisebb plazmatérfogatok állnak rendelkezésre, a protokollba integrált **Less Sample mode** (kevesebb minta üzemmód) funkció lehetővé teszi, hogy a felsoroltaknál kisebb plazmatérfogatot helyezzen a készülékbe. Ebben az esetben a készülék kevesebb mintatérfogatot transzferál, és a rendszer dokumentálja az átvitt térfogatot az eredményfájlban. Ezenkívül, a kérdéses minták unclear (nem egyértelmű) jelölést kapnak (140043-as hibakód, **Enable Less Sample mode** („kevesebb minta üzemmód” engedélyezve)). A minimális plazmabeviteli térfogat, amellyel engedélyezhető a **Less Sample mode** (kevesebb minta üzemmód): 1,6 ml, illetve 4,1 ml. Ha ennél kisebb a biztosított mintatérfogat, a minták nem kerülnek feldolgozásra, hanem **invalid** (érvénytelen) jelölést kapnak. Az elsődleges cső kezelési munkafolyamathoz szükséges megfelelő mintatérfogatot a kit részét képező PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool eszköz használata garantálja; a leírását lásd a „A mintaanyag előkészítése” részben, a 24. oldalon.

A reagenskazetták (RC) behelyezése a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiókba

A ccfDNS tisztításához való reagenseket egy innovatív reagenskazetta (RC) tartalmazza (4. ábra). A reagenskazetta (RC) minden tála egy bizonyos reagenst tartalmaz, mint például mágneses részecskéket, kötőpuffert vagy eluáló puffert. A részben felhasznált reagenskazettákat (RC) későbbi felhasználás céljából vissza lehet zární az újrahasználati zárócsíkkal, és így nem képződik hulladék a tisztítási eljárás végén megmaradt reagensekből.



4. ábra. QIASymphony reagenskazetta (RC). A reagenskazetta (RC) tartalmaz minden olyan reagenst, ami a protokoll futtatásához szükséges.

Az eljárás elindítása előtt győződjön meg arról, hogy minden mágneses részecske tökéletesen újraszuszpendálódott. Az első használat előtt vegye ki a mágneses részecskéket tartalmazó tálat a reagenskazetta (RC) keretéből, és alaposan, legalább 3 percen keresztül keverje vortex keverővel, majd helyezze vissza a reagenskazetta (RC) keretébe.

Megjegyzés: A mágneses részecskék színe eltérő lehet. Ez nincsen hatással a teljesítményre.

Helyezze a reagenskazettát (RC) a reagenskazetta-tartóba. A reagenskazetta (RC) első használata előtt helyezze fel a lyukasztófedelet a reagenskazetta (RC) tetejére (4. ábra).

Megjegyzés: A lyukasztófedél széle éles. Legyen óvatos, miközben felhelyezi a reagenskazetta (RC) tetejére. Ügyeljen arra is, hogy a lyukasztófedelelet a megfelelő irányban helyezze fel a reagenskazetta (RC) tetejére.

Miután eltávolította a mágnesesrészecske-tál borítását, a reagenskazettát ezt követően behelyezheti a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiókba.

A részben felhasznált reagenskazetták (RC-k) a következő használatig tárolhatók; lásd „A reagensek tárolása és kezelése”, 14. oldal.

Megjegyzés: A mintához Proteinase K enzimet kell adni (lásd „Teendők az eljárás megkezdése előtt”, 26. oldal).

Megjegyzés: Győződjön meg arról, hogy nem cserélte fel egymással a reagenskazetták, mágnesesrészecske-tálak és Proteinase K különböző kit-tételekhez tartozó tartályait.

Műanyag eszközök behelyezése a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiókba

A minta-előkészítő kazetták, 8-Rod Covers burkolatok (mindkettő egységdobozokban előre csomagolva) és egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek (200 µl-es hegyek kék állványokban, 1500 µl-es hegyek szürke állványokban) a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiókba kerülnek.

Megjegyzés: Mielőtt az egységdobozokat behelyezné a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiókba, ellenőrizze, hogy eltávolította-e azok fedelét.

Megjegyzés: A pipettahegyek szűrőkkel vannak ellátva a keresztszennyeződés megakadályozása végett.

A QIASymphony SP készülék munkaasztal hegytartó állványokhoz való nyílásaiba bármilyen típusú hegytartó állvány behelyezhető. A QIASymphony SP készülék a leltárellenőrzés művelete alatt fogja beazonosítani a betöltött pipettahegyek típusát.

Megjegyzés: Az újabb protokoll futtatása előtt ne töltsse fel a hegytartó állványokat, a minta-előkészítő kazetták egységdobozait, illetve az 8-Rod Covers burkolatokat. A QIASymphony SP készülék a részben felhasznált hegytartó állványokat és egységdobozokat is fel tudja használni.

A műanyag eszközök megrendeléséről szóló információkat lásd a 37. oldalon.

A „Waste” (Hulladék) fiók betöltése

A futtatások során felhasznált minta-előkészítő kazetták és 8-Rod Covers burkolatok a „Waste” (Hulladék) fiókban lévő üres egységdobozokba kerülnek át. Gondoskodjon róla, hogy a „Waste” (Hulladék) fiókban legyen elegendő üres egységdoboz a protokoll futtatása közben képződött műanyag hulladék részére.

Megjegyzés: Mielőtt az egységdobozokat behelyezné a „Waste” (Hulladék) fiókba, győződjön meg róla, hogy eltávolította-e azok fedelét. Amennyiben az 8-Rod Covers burkolatok dobozait használja a felhasznált minta-előkészítő kazetták és az 8-Rod Cover burkolatok összegyűjtésére, ellenőrizze, hogy eltávolította-e a doboz távtartóját.

A „Waste” (Hulladék) fiók elülső oldalához tasakot kell rögzíteni a felhasznált szűrővel rendelkező hegyek részére.

Megjegyzés: A rendszer nem ellenőrzi a hegygyűjtő hulladéktasak jelenlétét. A protokoll futtatásának elindítása előtt ellenőrizze, hogy a hegygyűjtő hulladéktasak megfelelően vannak rögzítve. További információkért olvassa el a készülék felhasználói kézikönyveit. A hegyek elakadásának megelőzése végett legfeljebb 96 minta feldolgozása után ürítse ki a tasakot.

A tisztítási eljárás alatt keletkező folyékony hulladékot hulladéktartály gyűjti össze. A „Waste” (Hulladék) fiókot csak akkor lehet bezárni, ha a hulladéktartály be lett helyezve. A folyékony hulladékot a helyi biztonsági és környezetvédelmi előírások betartása mellett kell ártalmatlanítani. A megtelt hulladékgyűjtő palackot ne autoklávozza. A hulladékgyűjtő palackot legfeljebb 96 minta feldolgozása után ürítse ki.

Az „Eluate” (Eluátum) fiók betöltése

A kívánt elúciós állványt helyezze be az „Eluate” (Eluátum) fiókba. Mivel az eluátumok elpárologhatnak vagy kondenzálódhatnak, ha hosszú ideig az „Eluate” (Eluátum) fiókban tartja őket, a hűtő pozíciót kell használni. Az „Elution slot 1” (1. elúciós) nyílást csak a megfelelő hűtőadapterrel használja.

Kiválasztott elúciós térfogat (μ l)*	Kezdeti elúciós térfogat (μ l)†
60	75

* Ez a minimálisan hozzáférhető eluátum-térfogat a végleges elúciós csőben a QIAGEN EMT rack (katalógusszám: 19588) és 1,5 ml Sarstedt screw cap tubes (katalógusszám: 72.607) termékekhez. Egyéni esetekben az egyes mintákhoz tartozó eluátum végső térfogata akár 5 μ l-rel kevesebb is lehet.

† Az a kezdeti eluáló puffer térfogat, amely ahhoz szükséges, hogy az eluátum tényleges térfogata megegyezzen a kiválasztott térfogattal.

Leltárellenőrzés

A futtatás megkezdése előtt a készülék ellenőrzi, hogy a várakozási sorban álló köteg(ek)hez szükséges fogyóeszközökből elegendő mennyiség lett-e betöltve a megfelelő fiókokba.

A mintaanyag előkészítése

Lásd „Mintavétel és a minta előkészítése”, 16. oldal.

A ccfDNS tárolása

Minta-előkészítést követően a ccfDNS eluátumok -20 vagy -80 °C hőmérsékleten tárolhatók. A lefagyasztott eluátumokat legfeljebb három alkalommal szabad kiolvasztani. A ccfDNS eluátumokban való stabilitásával kapcsolatos legfrissebb információkért tekintse meg a www.qiagen.com vagy a www.PreAnalytiX.com termékoldalt.

A protokoll áttekintése

1. táblázat A protokoll áttekintése

Minta	A PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) feldolgozása	Bevitt mintatérfogot (a holtterfogatot is beleértve) (ml)	A ccfDNS extrakcióhoz használt mintatérfogot (ml)	Elúciós térfogot (µl)	A QIASymphony SP készülék protokollja
PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) vérvételi csövekbe levett humán vénás teljes vérből generált plazma	Centrifugálás 2-szer, plazmaátvitel másodlagos csőbe	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	Centrifugálás 1-szer, közvetlen átvitel a QIASymphony SP készülékbe	A „selection tool” mérőeszköz szerint	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

A kezdés előtt figyelembe veendő fontos szempontok

- A vegyszerekkel és biológiai mintákkal végzett munka során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszerű használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkért olvassa el a megfelelő biztonsági adatlapokat (Safety Data Sheet, SDS).
- Győződjön meg róla, hogy ismeri a QIASymphony SP készülék üzemeltetése. A kezelési utasításokat a készülék felhasználói kézikönyveiben találja meg.
- Az eljárás megkezdése előtt olvassa el a „Az eljárás elve” részt.
- Győződjön meg arról, hogy ismeri a Protocol (protokoll) lap és Labware (laboreszköz) lista pontokat (a www.qiagen.com termékoldal Product Resources (termékerőforrások) fülén található).
- Kerülje el a reagenskazetta (RC) erőteljes rázását, különben hab képződhet, ami folyadékszint-érzékelési problémához vezethet.

- A vért a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; PreAnalytiX, katalógusszám: 768165) csövekbe kell gyűjteni. A vér levételével és kezelésével, valamint a plazma feldolgozásával kapcsolatos információkért olvassa el a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) használati útmutatóját a www.qiagen.com vagy a www.PreAnalytiX.com termékoldal Product Resources (termékerőforrások), illetve Resources (erőforrások) fülén.

Teendők az eljárás megkezdése előtt

- Az eljárás elindítása előtt győződjön meg arról, hogy minden mágneses részecske tökéletesen újraszuszpendálódott. Az első használat előtt alaposan keverje fel a mágneses részecskéket tartalmazó tálat vortex keverővel, legalább 3 percen keresztül.
- Ügyeljen arra, hogy a lyukasztófedél rá legyen helyezve a reagenskzettára (RC), és hogy a mágneses részecskéket tartalmazó tál fedele le legyen véve, illetve ha már részben felhasznált reagenskzettát (RC) használ, gondoskodjon az újrahazsnálati zárócsíkok eltávolításáról.
- A Proteinase K nem része a reagenskzettának, azt a felhasználónak kell biztosítania (mintafiók, A nyílás, 1. és/vagy 2. pozíció). Győződjön meg arról, hogy a helyes Proteinase K térfogatot alkalmazza.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) használatra kész Proteinase K oldatot tartalmaz. A Proteinase K szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolható. A huzamosabb ideig történő tároláshoz azt javasoljuk, hogy tartsa a Proteinase K enzimes fiókat hűtve, 2–8 °C között.

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

* Mintánként 110 µl térfogatra (2400 µl plazma esetén), vagy 220 µl térfogatra (4800/4000 µl plazma esetén) van szükség, valamint további 1100 µl holtterefogatra [(n x 110 vagy 220 µl) + 1100 µl].

[†] Ha több mint 11 660 µl térfogatra van szükség, használjon egy második csövet (Corning, katalógusszám: 352051). A második csőnél további 1100 µl holtterefogatra van szükség.

Megjegyzés: A Proteinase K enzimet tartalmazó csöveket csőtartóba kell helyezni. A Proteinase K enzimet tartalmazó csőtartót a „Sample” (Minta) fiók A nyílásába, az 1. és 2. pozícióba kell helyezni. A 14 ml-es 17 x 100 mm méretű kerek aljú polisztirol csövek (Corning, katalógusszám: 352051) használatát javasoljuk a Proteinase K enzimhez.

- Ha a minták vonalkóddal vannak ellátva, úgy helyezze be a mintákat a csőtartóba, hogy a vonalkód a QIASymphony SP készülék bal oldalán elhelyezkedő vonalkódozós felé nézzen.
- A protokollal kompatibilis mintacsövek és minimális mintatérfogatókat illetően tekintse meg a megfelelő Labware (laboreszköz) listát, amely a **www.qiagen.com** termékoldal Product Resources (termékerőforrások) fülén található.

Protokoll: A ccfDNS automatikus tisztítása a QIASymphony SP készülékkel

Az egyes protokollokkal, többek közt a térfogatokkal és a csövekkel kapcsolatos részletes információk a Protocol (protokoll) lap és a Labware (laboreszköz) lista alatt található, a Product Resources (termékerőforrások) fülön a **www.qiagen.com** termékoldalon. A mintaanyag előkészítését (PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csőbe gyűjtött, emberi vénás teljes vérből generált plazma) illetően olvassa el a „Mintavétel és a minta előkészítése” és „A mintaanyag előkészítése” részeket a jelen kézikönyvben, valamint a csövekre vonatkozó használati útmutatót, amely a **www.qiagen.com** vagy **www.PreAnalytiX.com** termékoldal Product Resources (termékerőforrások), illetve Resources (erőforrások) fülén található.

1. Zárja be az összes fiókot és a készülék fedelét.
2. Kapcsolja BE a QIASymphony SP készüléket, és várjon, amíg megjelenik a **Sample Preparation** (Minta-előkészítés) képernyő, és befejeződik az inicializálási eljárás.
3. A főkapcsoló a QIASymphony SP készülék bal alsó sarkánál található.
4. Jelentkezzen be a készüléken.

A kívánt elúciós állványt helyezze be az „Eluate” (Eluátum) fiókba.

Ne helyezzen 96 cellás lemezt az „Elution slot 4” (4. elúciós) nyílásba. Az „Elution slot 1” (1. elúciós) nyílást kell használnia, a megfelelő hűtőadapterrel.

Ha 96 cellás lemezt használ, ügyeljen arra, hogy a lemez a megfelelő irányban legyen, mivel a rossz behelyezés a minták felcserélődését eredményezi a további (downstream) elemzésben.

Az Elution Microtubes CL állvány használatakor vegye le az alját úgy, hogy addig forgatja az állványt, amíg le nem jön az alja.

5. Ellenőrizze, hogy a „Waste” (Hulladék) fiók megfelelően van-e előkészítve, és hajtson végre leltárellenőrzést a „Waste” (Hulladék) fiókon, a hegyledobót, hegytároló állomást, az üres folyékonyhulladék-tartályt és az üres egységdobozokat is beleértve. Szükség esetén cserélje ki a hegygyűjtő hulladéktasakot.
6. Töltse fel a „Reagents and Consumables” (Reagensok és fogyóeszközök) fiókot a szükséges reagenskazettával/reagenskazettákkal (RC) és fogyóeszközökkel.

7. Végezze el a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiók leltárellenőrzését.
8. Tegye be a mintákat a megfelelő mintatartókba, és helyezze be ezeket a „Sample” (Minta) fiókba.

Megjegyzés: Az általános feldolgozás mellett, beleértve a plazma megfelelő mintahordozóba történő átvitelét (14 ml Falcon® polisztirol, lekerekített aljú, 17 x 100 mm-es cső), a PAXgene Blood ccfDNA Tube elsődleges cső kezelő munkafolyamata lehetővé teszi a ccfDNS extrakcióját közvetlenül a PAXgene Blood ccfDNA Tube (10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), 16 x 100 mm) csőből. Az elsődleges cső kezelésével kapcsolatos információkért olvassa el a Protocol (protokoll) lapot, a Labware (laboreszköz) listát és a csövekre vonatkozó használati útmutatót a www.qiagen.com vagy www.PreAnalytiX.com termékoldal Product Resources (termékerőforrások), illetve Resources (erőforrások) fülén.

9. Az érintőképernyő használatával adja meg a szükséges adatokat a feldolgozandó minták mindegyik kötegéhez és a Proteinase K enzimhez.

Adja meg a következő információkat:

- Mintainformáció (a választott mintatartó állványoktól függően válassza a **BD #352051 FalconPP 17 x 100** vagy **BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100** lehetőséget)
- Futtatandó protokoll (assay-kontrollkészlet)
- Elúciós térfogat és kimeneti pozíció

Miután megadta a kötegre vonatkozó információkat, az állapotjelző **LOADED** (Betöltve) kijelzésről átvált a **QUEUED** (Várakozási sorban áll) kijelzésre. Amint egy köteg várakozási sorba állítása megtörtént, megjelenik a **Run** (Futtatás) gomb.

10. Tegye be a Proteinase K enzimet a megfelelő mintatartóba, az 1. és a 2. pozícióba, és helyezze be ezeket a „Sample” (Minta) fiók A rekeszébe.
11. Az **IC** gomb lenyomásával határozza meg a Proteinase K enzimet.
12. A tisztítási eljárás elindításához nyomja meg a **Run** (Futtatás) gombot.

A feldolgozás minden lépése teljesen automatizált. A protokoll futtatásának végén a köteg állapotjelzője a **RUNNING** (Futtatás) kijelzésről a **COMPLETED** (Befejezett) kijelzésre vált át.

13. Vegye ki a tisztított ccfDNS-t tartalmazó elúciós állványt az „Eluate” (Eluátum) fiókból. Erősítse meg az elúciós állvány eltávolítását a QIASymphony SP készülék szoftverével.
14. A kapott ccfDNS használatra kész, vagy –20 °C-on vagy –80 °C-on tárolható, legfeljebb 6 hónapig.

A QIAGEN javasolja, hogy a futtatás befejeződését követően haladéktalanul vegye ki az eluátumlemezt az „Eluate” (Eluátum) fiókból. Ha az eluátumlemez a QIASymphony SP készülékben marad a futtatás befejeződését követően is, akkor a hőmérséklettől és a páratartalomtól függően kondenzáció vagy párolgás fordulhat elő.

Megjegyzés: A QIASymphony SP készülék hűtőfunkciója akár egész éjszakán át is használható.

Általában véve a mágneses részecskék nem kerülnek bele az eluátumokba. Ha mégis átszennyezés fordulna elő, az eluátumokban lévő mágneses részecskék nem zavarják a legtöbb downstream alkalmazást.

Ha el kell távolítani a mágneses részecskéket downstream alkalmazások elvégzése előtt, úgy az eluátumokat tartalmazó tesztcsöveket vagy lemezeket először egy megfelelő mágnesbe kell helyezni, majd az eluátumokat át kell vinni egy tiszta tesztcsöbe (lásd „Függelék: A ccfDNS kvantifikációja”).

Minden elúciós lemezről eredményfájlok készülnek.

15. Ha valamelyik reagenskazetta (RC) csak részben használdott fel, zárja le a kitben található újrahaználati zárócsíkokkal.

Megjegyzés: A csak részben felhasznált reagenskazetták (RC) tárolásáról szóló további információkat lásd: „A reagenskák tárolása és kezelése”.

16. A használt mintacsöveket és hulladékokat a helyi biztonsági előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

A biztonsági információkat lásd: „Figyelmeztetések és óvintézkedések”.

17. A QIASymphony SP készülék tisztítása.

Kövesse a készülék felhasználói kézikönyveiben található karbantartási utasításokat. Ne felejtse el a hegyvédőket rendszeresen tisztítani, hogy minimálisra csökkentse a keresztszennyezés kockázatát.

18. Zárja be a készülék fiókjait, és kapcsolja ki a QIASymphony SP készüléket.

Minőség-ellenőrzés

A QIAGEN ISO-minősített minőségirányítási rendszerének megfelelően a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) minden egyes gyártási tételét leellenőrzik, hogy az megfelel-e az előírt paramétereknek, ezzel biztosítva a termék állandó és kifogástalan minőségét.

Korlátozások

A rendszer teljesítményét olyan teljesítmény-értékelő vizsgálatok során állapították meg, amelynek során a ccfDNS tisztítását PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csőbe levett humán vénás teljes vérből generált plazmából végezték.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) teljesítményjellemzőit plazmában lévő 18S riboszomális és DYS14 Y-kromoszomális ccfDNS fragmentumok felhasználásával határozták meg.

A felhasználó felelőssége, hogy ellenőrizze a rendszer teljesítményét a laboratóriumában alkalmazott bármely olyan eljárásra, amely nem része a QIAGEN és a PreAnalytiX teljesítmény-kiértékelő vizsgálatoknak.

A diagnosztikai eredményeket negatívan befolyásoló hatások kockázatának minimalizálása érdekében a további alkalmazásokhoz megfelelő kontrollokat kell használni. A kapott diagnosztikai eredményeket mindig az egyéb klinikai vagy laboratóriumi leletekkel összefüggésben kell értelmezni.

Hibaelhárítási útmutató

Ez a hibaelhárítási útmutató bármely felmerülő hiba esetén segíthet a megoldásban. A kapcsolatfelvételi adatokat és a gyakran ismételt kérdések listáját a www.PreAnalytiX.com vagy a www.qiagen.com megfelelő termékoldalán érheti el.

Megjegyzések és javaslatok

Általános kezelés

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Az érintőképernyőn kijelzett hibaüzenet | Ha a protokoll közben hibaüzenet jelenik meg, olvassa el a készülék felhasználói kézikönyveit. |
| b) | Változó eluátum-térfogat az egész éjszakai futtatásokat követően | A mintaszám optimalizálása érdekében a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) lehetővé teszi a minták egész éjszakán át történő feldolgozását a QIASymphony SP készülékkel, az eluátum hűtésének köszönhetően. A hosszú hűtési időszakok alatt az eluátum térfogatok a laboratórium hőmérsékletétől és páratartalmától függően változhatnak. Például, ha a választott térfogat 60 µl 15–25 °C hőmérsékleten és 30–60%-os páratartalom mellett, a térfogat 50–85 µl közötti lehet a készülékben történő 12 órás tárolást követően. |

Krioprecipitátumok a plazmaminták kiolvasztását követően

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Krioprecipitátumok kialakulása a plazmában | A krioprecipitátumok kialakulásának megakadályozása érdekében a plazmát szobahőmérséklet helyett 30 °C-on olvassza ki, 30 percen át. A kiolvasztást ne végezze alacsonyabb hőmérsékleten (pl. 4 °C-on). A kiolvasztást követően vortex keverővel keverje a csövet 30 másodpercig |
| b) | A plazmából nyert alacsony ccfDNS hozam a krioprecipitátumok eltávolítását követően | A krioprecipitátumok eltávolításához ne centrifugálja a plazmát, mivel ccfDNS-t tartalmazhat. |

Nem elégséges térfogatú plazma a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) csövekből

- | | | |
|----|--|---|
| a) | Kevesebb mint 10 ml vér levétele a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) mintacsőbe | Ellenőrizze, hogy a PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) mintacsőbe 10 ml vér került-e. Lásd a PAXgene Blood ccfDNA Tube használati útmutatóját. |
| b) | Nagy arányú sejtfrakció | Ha a humán teljes vérben nagy a sejtfrakció (hematokrit) aránya, (pl. férfiaknál 51% vagy nőknél 47%), az csökkentheti a plazma térfogatát. |
| c) | Túl kevés plazmatermék a centrifugálás után | A vér hosszabb idejű tárolása és szállítása, illetve az előírtól eltérő centrifugálási körülmények hatással lehetnek a plazmatermék mennyiségére. |

Megjegyzések és javaslatok

Precipitátum a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) nyitott reagenskazettájának (RC) tárlásán

- a) Puffer elpárolgása A túlzott mértékű párolgás a pufferek megnövekedett sókoncentrációjához vezethet. Selejtezze le a reagenskazettákat (RC). Ügyeljen arra, hogy a részben felhasznált reagenskazetták (RC) puffertárljait lezárja az újrahasználati zárócsíkkal, amikor nincs használtban a tisztításhoz.
- b) A reagenskazetta (RC) tárolása Ha a reagenskazettát (RC) 15 °C alatti hőmérsékleten tárolja, az precipitátum képződéséhez vezethet.

Alacsony ccfDNS hozam

- a) A mágneses részecskék nem voltak teljesen újrászuszpendálva Az eljárás elindítása előtt győződjön meg arról, hogy minden mágneses részecske ismét tökéletesen újrászuszpendálódott. Használat előtt keverje vortex keverővel legalább 3 percig. A nem teljes újrászuszpendálás pipettázási hibákat eredményezhet.
- b) A pipettahegy oldhatatlan anyag miatti eltömődése Az oldhatatlan anyagok nem lettek eltávolítva a mintából a QIASymphony SP készülék tisztítási eljárás megkezdése előtt.
- c) A mintanyag alacsony koncentrációban tartalmaz ccfDNS-t Mivel a plazmamintában a ccfDNS nagyon alacsony mennyiségben van jelen, a ccfDNS koncentrációjának mérése kihívást jelenthet a kvantifikációs módszertől függően.
Az eluátumok ccfDNS-koncentrációjának ellenőrzésére érzékeny qPCR ajánlott.
- d) A reagenskazetta (RC) nem teljes újrazárása A részben felhasznált reagenskazetta (RC) esetében a környező levegővel történő érintkezés a pufferek csökkent stabilitásához vezethet, ami csökkenti a ccfDNS extrakciójának hatását. Ügyeljen arra, hogy a részben felhasznált reagenskazetták (RC-k) puffertárljait lezárja az újrahasználati zárócsíkkal, amikor nincs használtban a tisztításhoz.

A ccfDNS kis teljesítménye a downstream alkalmazásoknál

- a) Vákuumcentrifugálással koncentrált eluátum Ne koncentrálja az eluátumot vákuumcentrifugálással (pl. SpeedVac® vagy hasonló készülék segítségével). Ez a magas hőmérsékletek miatti bomlást, illetve az eluátumban található sók koncentrárlódását idézheti elő, ami zavarhatja a downstream alkalmazásokat.
- b) Csepp-átszennyezés Általában véve a mágneses részecskék nem kerülnek bele az eluátumokba. Ha mégis átszennyezés fordulna elő, az eluátumokban lévő mágneses részecskék nem zavarják a legtöbb downstream alkalmazást. Ha az adott downstream assay-k nagyon nagy mennyiségű eluátumot igényelnek, az eluátumok centrifugálhatóak és átmérhetőek egy tiszta csöbe.

Nincs/hiányos a mintaátvitel

- a) Nem megfelelő mintatérfigatol mérték ki a szabványos protokollor során Ha a megadottnál kisebb térfogatú mintát mér ki, azzal nő a kockázata annak, hogy a minta unclear (nem egyértelmű) vagy invalid (érvénytelen, ekkor nem történik mintaátvitel) jelölést kapjon.
Mérje ki a megfelelő mintatérfigatol, a vonatkozó Protocol (protokoll) lapnak és Labware (laboreszköz) listának megfelelően.
- b) Buborékok és/vagy hab a mintacsöben A mintában és/vagy a mintabeviteli csöben található buborékok vagy hab a folyadék szint hibás érzékelését eredményezheti, ezáltal pedig hiányos mintaátvitelhez vezethet. Távolítsa el a buborékokat a mintacsöböl.

Szimbólumok

A használati útmutatóban, a csomagoláson és a címkéken a következő szimbólumok szerepelhetnek:



<N>

<N> teszthez elegendő reagenst tartalmaz Jelzi az IVD-vel elvégezhető IVD tesztek számát.



Lejárat dátum



In vitro diagnosztikai alkalmazásra szolgáló orvostechikai eszköz



CE-jelölés. Ez a termék megfelel az in vitro diagnosztikai orvostechikai eszközökre vonatkozó 2017/746 számú európai rendelet követelményeinek.



Katalógusszám



Tételszám



Anyagszám (azaz a komponensek címkéje)



Komponensek (azaz a tartalom listája)



Tartalmazott anyag (tartalom)

NUM

Szám (azaz üvegcsék, palackok)

GTIN

Globális kereskedelmi áruazonosító szám (Global Trade Item Number, GTIN)

Rn

Az R a Használati útmutató (Kézikönyv) módosítását, az n pedig a módosítás számát jelöli



Hőmérsékleti határértékek



Gyártó



Lásd a használati útmutatót



Figyelem

PROTK

Proteinase K

WELL

Cellaszám (azaz a reagenskazetta cellái)

REAG | **CART**

Reagenskazetta

Sodium azide

Nátrium-azid

Függelék: A ccfDNS kvantifikációja

A mintaanyagokban található ccfDNS nagyon alacsony koncentrációja miatt nem ajánlott a DNS spektrofotométerrel való mérése. A ccfDNS koncentrációjának meghatározásához érzékeny és pontos, fluoreszcencián alapuló kvantitatív assay vagy real-time PCR assay alkalmazandó.

Ha a mágneses részecskéket el kell távolítani, helyezze a DNS-t tartalmazó tesztcsövet egy megfelelő mágneses szeparálóba (pl. QIAGEN 12-Tube Magnet, katalógusszám: 36912), amíg a mágneses részecskék nem szeparálódnak.

Ha a DNS-t mikrotiter lemezbe gyűjtötte, helyezze a mikrotiter lemezt egy megfelelő mágneses szeparálóba (pl. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, katalógusszám: 36915), amíg a mágneses részecskék nem szeparálódnak. Ha nem áll rendelkezésére megfelelő mágneses szeparáló, centrifugálja a DNS-t tartalmazó tesztcsövet 1 percen át teljes sebességgel egy mikrocentrifugában, hogy az összes maradék mágneses részecske pelletet képezzen.

Rendelési információk

Termék	Tartalom	Katalógus-szám
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Tartalom: 2 reagenszazetta, Proteinase K csövek és tartozékok	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 cső: 16 x 100 mm, 1,5 ml adalékanyag, 10 ml levehető vér mennyisége	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	QIASymphony minta-előkészítő modul, 1 éves alkatrész- és működési jótállás	9001297
Kapcsolódó QIAGEN termékek		
Proteinase K (10 ml)	1 x 10 ml palack	19133
Reagent Cartridge Holder (2)	Reagenszazetta-tartó a QIASymphony SP/AS készülékekkel való használatra	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Hűtőadapter 2 ml-es csavaros tetejű tesztcsövekhez. A QIASymphony SP készülék „Eluate” (Eluátum) fiókjában való használatra	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Hűtőadapter az EMT-állványokhoz. A QIASymphony SP készülék „Eluate” (Eluátum) fiókjában való használatra	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Hűtőadapter az 1,5 ml-es Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock pattintózárás csövekhez. A QIASymphony SP készülék „Eluate” (Eluátum) fiókjában való használatra	9020731

Termék	Tartalom	Katalógus- szám
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Minta-előkészítő kazetták 8 cellával a QIASymphony SP készülékkel való használatra	997002
8-Rod Covers (144)	8-as rúdvédő burkolatok a QIASymphony SP készülékkel való használatra	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, állványban (8 x 128). QIACube® és QIASymphony SP/AS készülékkel való használatra	990332
Filter-Tips, 1500 µl, Qsym SP (1024)	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, állványban (8 x 128). A QIASymphony SP/AS készülékekkel való használatra	997024
Tip Disposal Bags (15)	Hegygyűjtő hulladék tasakok a QIASymphony SP készülékkel való használatra	9013395
12-Tube Magnet	Mágnes a mágneses részecskék 12 x 1,5 ml vagy 2 ml térfogatú tesztcsövekben történő elválasztásához	36912
96-Well Magnet Type A	Mágnes a mágneses részecskék 96 cellás mikrotiter lemezek celláiban történő elválasztásához, 2 x 96-Well Microplates FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Újrahasználati zárókészlet a részben felhasznált QIASymphony reagenskazetták lezárására	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Nem steril polipropilén tesztcsövek (0,85 ml maximális kapacitással, 0,7 ml-nél kisebb tároló kapacitással, 0,4 ml-es elúciós kapacitással); 2304 darab, 96-os állványokban; a zárókupak-sorokat is tartalmazza	19588

Termék	Tartalom	Katalógus-szám
Caps for Elution Microtubes (50 x 8)	Elúciós mikrocövekhez való kupakok (50 x 8)	19591
14 ml Falcon Tube	Mintahordozóként használt polisztirol, lekerekített végű, 17 x 100 mm-es cső a QIAsymphony SP készülékhez	Corning, 352051

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében, vagy felhasználói kézikönyvében található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói kézikönyvei a www.PreAnalytiX.com és a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, vagy a QIAGEN Műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

A dokumentum átdolgozási előzményei

Átdolgozás	Leírás
R1, 2021. május	Első kiadás

Rendelés: www.qiagen.com/shop | Műszaki támogatás: support.qiagen.com | Webhely: www.qiagen.com vagy PreAnalytiX.com