

Mai 2021

Komplekti QIASymphony[®] PAXgene[®] Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) kasutusjuhend (käsiraamat)



192

1. versioon

IVD

Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas

CE

REF

768566



PreAnalytiX GmbH, Feldbachstrasse, CH - 8634
Hombrechtikon, Šveits

R1 **MAT**

1123518EE

 **PreAnalytiX**

A QIAGEN / BD Company

Kaubamärgid: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH); QIAGEN®, QIAcube®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Corning®, Falcon® (Corning, Inc.); Eppendorf® (Eppendorf AG); SpeedVac® (Thermo Fisher Scientific või selle tütarfirmad). Käesolevas dokumendis kasutatud registreeritud nimetusi, kaubamärke jne ei arvestata seaduse poolt mittekaitstuks, ka juhul kui need pole kaubamärkidena tähistatud.

Komplekti QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit piiratud litsentsileping

Selle toote kasutamine tähendab, et toote ostja või kasutaja nõustub järgmiste tingimustega.

1. Toodeid tohib kasutada ainult vastavalt tootega kaasas olevatele protokollidele ja sellele käsiraamatule ning ainult koos paneelil sisalduvate komponentidega. PreAnalytiX® ei anna oma intellektuaalse omandi all litsentse paneeli komponentide kasutamiseks või ühendamiseks sellesse paneeli mittekuuluvate komponentidega, välja arvatud toote protokollides, selles käsiraamatus ja veebisaidil www.qiagen.com ja www.PreAnalytiX.com kirjeldatud juhtudel.
2. PreAnalytiX ei anna garantiid, et paneel ja/või selle kasutus ei riku kolmandate osapoolte õigusi, v.a selgesõnalised litsentsid.
3. Paneel ja selle osad on litsentsitud ühekordseks kasutuseks ning neid ei tohi korduskasutada, parandada ega edasi müüa.
4. PreAnalytiX ütleb lahti muudest otsestest või kaudsetest litsentsidest, v.a selgesõnalistest litsentsidest.
5. Paneeli ostja ja kasutaja nõustuvad, et ei tee ise ega luba kellelgi teisel teha midagi, mis võiks kaasa aidata või viia ülaltoodud keelatud toiminguteni. PreAnalytiX võib selle piiratud litsentsilepingu keelde jõustada mis tahes kohtus ning taotleda tagasi kõik piiratud litsentsilepingu või paneeli ja/või selle komponentidega seotud mis tahes intellektuaalse omandi õiguste jõustamiseks kulunud juurdlus- ja kohtukulud, sh advokaaditasud.

Uuendatud litsentsitingimused leiate veebilehelt www.qiagen.com ja www.PreAnalytiX.com.

HB-2866-001 1123518 © 2021 PreAnalytiX GmbH, kõik õigused on kaitstud.

Sisukord

Sihtotstarve	5
Sihtkasutaja	5
Kirjeldus ja põhimõte	6
Kokkuvõte ja selgitus	6
Protseduuri põhimõtted	7
Kaasasolevad materjalid	9
Komplekti sisu	9
Vajalikud materjalid, mida ei ole kaasas	10
Seadmed	10
Hoiatused ja ettevaatusabinõud.....	11
Ohutusteave	11
Ettevaatusabinõud	12
Reaktiivide säilitamine ja käitlemine	14
Komplekti osad	14
Proovide võtmine ja ettevalmistamine	16
Protseduur.....	20
Ülevaade ccfDNA automaatne puhastamine instrumendil QIA Symphony SP	20
Protokolli ülevaade	25
Protokoll: ccfDNA automaatne puhastamine instrumendil QIA Symphony SP	28
Kvaliteedikontroll	31
Piirangud.....	31
Tõrkeotsingujuhend	32
Sümbolid	34

Lisa: ccfDNA kvantifitseerimine.....	36
Tellimisteave	37
Dokumendi redaktsioonialugu	39

Sihtotstarve

Instrumendiga QIAasymphony SP kasutamiseks ettenähtud komplekt QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) on mõeldud tsirkuleeriva rakuvaba DNA (ccfDNA) automaatselt eraldamiseks ja puhastamiseks katsutisse PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) kogutud inimese venoossest täisverest saadud plasmast.

Komplekt QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) kasutab magnetosakeste tehnoloogiat, et inimese plasmast ccfDNA-d automaatselt isoleerida ja puhastada.

Komplekt QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) on erialaseks kasutamiseks *in vitro* diagnostikas nt tehnikutele ja arstidele, kes on saanud väljaõppe molekulaarbioloogia tehnikate alal.

Sihtkasutaja

Komplekt on ette nähtud erialaseks kasutamiseks.

Seda toodet võivad kasutada vaid töötajad, kes on läbinud spetsiaalse väljaõppe molekulaarbioloogia tehnikate alal ja on selle tehnoloogiaga tuttavad.

Kirjeldus ja põhimõte

Kokkuvõte ja selgitus

Tsirkuleeriv rakuvara DNA (ccfDNA) esineb plasmas tavaliselt lühikeste fragmentidena (< 1000 bp). ccfDNA kontsentratsioon plasmas on tavaliselt madal (vahemikus 1 kuni 100 ng/ml) ja see erineb arvestatavalt inimeseti. CE-vastavusmäärgisega katsuti PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) annab koos komplektiga QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) standardiseeritud töövoogu vere kogumiseks, säilitamiseks ja transportimiseks ning ühtlasi DNA stabiliseerimiseks suletud katsutis, edasiseks ccfDNA isoleerimiseks ja puhastamiseks inimese plasmas, kasutades instrumenti QIAGEN® QIASymphony SP.

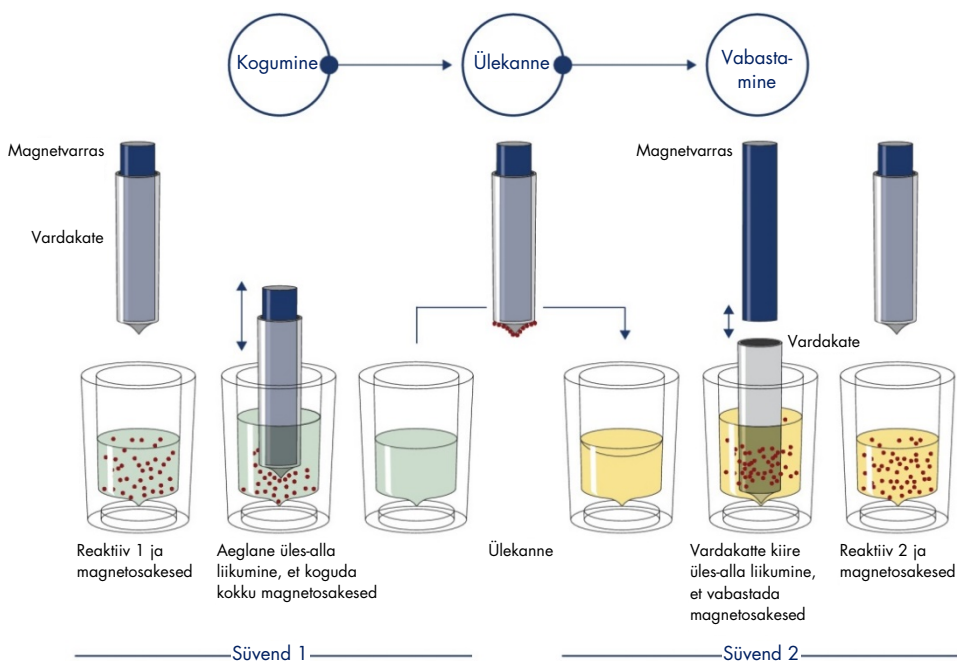
Instrument QIASymphony SP on varustatud protokollidega ccfDNA ekstraheerimiseks 2,4 ja 4,8 ml plasmas, mis on saadud katsuteid PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) kahekordselt tsentrifuugides. Plasma viiakse üle instrumenti QIASymphony SP ja töödeldakse seal sekundaarkatsutite abil.

Instrumentil QIASymphony SP on võimalus kasutada ka primaarkatsutite käitlusprotokolle 2,4 ja 4 ml plasma sisestusmahu korral. Sellisel juhul ei ole vaja teist korda tsentrifuugida ega plasmat üle viia sekundaarkatsutisse.

Komplekti QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit magnetosakeste tehnoloogia võimaldab välja puhastada kõrge kvaliteediga ccfDNA-d, mis ei sisalda valke, nukleaase ja teisi lisandeid. Instrument QIASymphony SP teostab kõik puhastamisprotseduuri etapid. Ühe tööseeria käigus töödeldakse kuni 96 proovi nii, et ühes partiis on 24 proovi. Teavet, kuidas isoleerida instrumentil QIASymphony SP genoomset DNA-d (gDNA) katsutitesse PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) kogutud vere tuumaga rakkude fraktsioonist, lugege katsutiga PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) kaasas olevast kasutusjuhendist (www.PreAnalytiX.com).

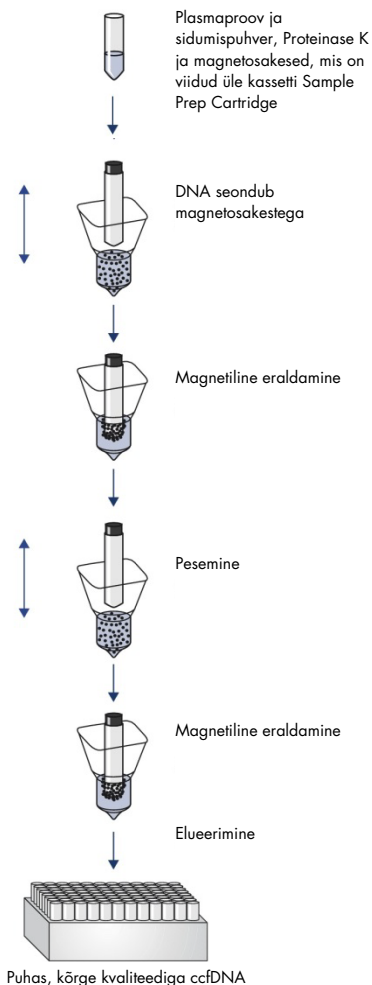
Protseduuri põhimõtted

Instrumenti QIAAsymphony SP tehnoloogia ühendab endas anioonivahetuspõhise nukleiinhappe puhastamise kiiruse ja tõhususe magnetosakeste lihtsa kasutusviisiga (joonis 1). Puhastusprotseduur on üles ehitatud nii, et see tagab nakkusohtlike proovide turvalise ja reprodutseeritava käitluse 3 etapiga: seondumine, pesu ja elueerimine (joonis 2). Kasutajad võivad valida erinevate proovi sisestusmahtude vahel.



Joonis 1. Instrumenti QIAAsymphony SP tööpõhimõtte skemaatiline diagramm. Instrument QIAAsymphony SP töötleb magnetosakesi sisaldava proovi järgmiselt. Proovi sisaldavasse süvendisse sisestatakse kattega magnetvarras, mis tõmbab ligi magnetosakesi. Magnetvarda kate paigutatakse teise süvendi kohale ja magnetosakesed vabastatakse. Neid etappe korratakse proovi töötlemise jooksul mitu korda. Instrument QIAAsymphony SP kasutab magnetpead, mis sisaldab 24 magnetvarda rida, ja võib seetõttu töödelda üheaegselt kuni 24 proovi.

Komplekt QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



Joonis 2. Etapid ccfDNA ekstraheerimiseks komplektiga QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD). ccfDNA fragmendid eraldatakse ja puhastatakse katsutisse PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) kogitud inimese venoossest täisverest saadud plasmast. Esimese töötlusetapi ajal lõhustab plasmavalge Proteinase K, samal ajal kui ccfDNA seondub magnetosakeste pinnale. Kolm pesuetappi tagavad, et saasteained eemaldatakse. Viimasena elueeritakse ccfDNA magnetosakestest ja neid saab kasutada edasistes protseduurides.

Kaasasolevad materjalid

Komplekti sisu

Lühendid	Nimetus	Kogus	Toimeained	Kontsentratsioon [%]**
	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)	(192)		
	Katalooginr	768566		
	Reaktsioonide arv	192		
RC	Reagent cartridge (Reaktiivi kassett)*†	2	Mitteioonne puhastusaine Anioonivahetusega magnetosake NaOH Etanool	≥ 0,5 – < 10 [mass/mass] Ei ole asjakohane ≥ 0,05 – < 0,1 [mass/mass] ≥ 70 – < 90 [maht/maht]
PROTK	Proteinase K (Proteinaas K)†	5 × 10 ml	Proteinase K	≥ 1 – < 3% [mass/mass]
PL	Piercing lid (Läbitorgatav kaas)	2	—	Ei ole asjakohane
RSS	Reuse Seal Set (Taaskasutatav pitseerimiskomplekt)‡	2	—	Ei ole asjakohane
	Elution Microtubes CL, racked (Elutsiooni mikrokatsutid CL alustel)#	2	—	Ei ole asjakohane
	Caps for Elution Microtubes (Elutsiooni mikrokatsutite korgid)#	1 × (55 × 8)	—	Ei ole asjakohane
	Kasutusjuhend (käsiraamat)	1	—	Ei ole asjakohane
	Tööriist PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	—	Ei ole asjakohane

* Sisaldab säilitusainena naatriumasiidi.

† Vt sümbolite ja seletuste loendit lehel 34.

‡ Reuse Seal Set sisaldab 8 taaskasutatavat pitseerimisriba.

Saadaval ka eraldi, vt Tellimisteave.

** Maksimalne kontsentratsioon ühes süvendis.

Vajalikud materjalid, mida ei ole kaasas

Järgige kemikaalide ja bioloogiliste proovidega töötamisel alati üldisi ettevaatusabinõusid ja kandke sobivad laborikiltit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille, nagu näevad ette teie asutuse eeskirjad ja protseduurid. Lisateabe saamiseks tutvuge toote tarnija pakutavalt saadavate ohutuskaartidega (Safety Data Sheets, SDS).

Veenduge, et seadmed on kontrollitud ja vastavalt tootja soovitudele kalibreeritud.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, katalooginr 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, katalooginr 997004)
- Filter-Tips, 200 µl ja 1500 µl (QIAGEN, katalooginr-d vastavalt 990332 ja 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, katalooginr 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (PreAnalytiX, katalooginr 768165)
- Proovikatsutid. Teavet ühilduvate primaar- ja sekundaarkatsutite kohta leiab veebilehe www.qiagen.com vahelehel Product Resources (Toodete loendid) laboritarvete loendist.
- Teavet ühilduvate elueerimiskatsutite kohta leiab laboritarvete loendist veebilehe www.qiagen.com vahelehel Product Resources (toodete loendid).

Seadmed*

- Pipett (5 ml)
- QIASymphony SP instrument (QIAGEN, katalooginr 9001297)

* Veenduge enne kasutamist, et seadmed on kontrollitud ja vastavalt tootja soovitudele kalibreeritud.

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas

Enne komplekti kasutamist lugege hoolikalt läbi kõik juhised.

Euroopa Liidus asuvad kliendid peavad teatama seadmega seotud tõsistest vahejuhtumitest tootjale ning kasutaja ja/või patsiendi asukohariigi pädevale asutusele.

Ohutusteave

Järgige kemikaalide ja bioloogiliste proovidega töötamisel alati üldisi ettevaatusabinõusid ja kandke sobivad laborikiltit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille, nagu näevad ette teie asutuse eeskirjad ja protseduurid. Lisateabe saamiseks tutvuge vastavate ohutuskaartidega (SDS). Need on saadaval PDF-vormingus veebiaadressil www.qiagen.com/safety. Seal saate vaadata kõiki PreAnalytiX-i komplekti ja selle osade ohutuskaarte ning need välja printida.

- Kõik kemikaalid ja bioloogilised materjalid on potentsiaalselt ohtlikud. Proovid ja bioloogiline materjal on potentsiaalselt nakkusohtlikud ja neid tuleb käsitleda bioloogiliselt ohtlike materjalidena.
- Visake proovide ja analüüside jäätmed ära vastavalt kohalikele ohutusnõuetele.

Ettevaatusabinõud

Reaktiivikassetis sisalduvad puhvrid sisaldab naatriumasiidi. Kui komplekti puhvleid maha läheb, puhastage see sobiva laboripesuvahendi ja veega. Kui mahaläinud vedelik sisaldab potentsiaalselt nakkusohutikke aineid, puhastage määratud pinda kõigepealt laboripesuvahendi ja veega ning seejärel 1% (maht/maht) naatriumhüpokloritiga (valgendi).

Komplekti QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komponentidele kehtib järgmine ohu- ja hoiatusteave.

MBS3

Sisaldab: naatriumasiidi. Hoiatus! Ohtlik allaneelamise korral. Kandke kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski.

Proteinase K



Sisaldab: lahust Proteinase K. Oht! Põhjustab kergelt nahaärritust. Võib põhjustada allergia või astma sümptomeid või hingamisraskusi, kui seda sisse hingata. Vältige tolmu/suitsu/gaasi/udu/aurude/pihuse sissehingamist. Kandke kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski. Kandke hingamiskaitset. Kokkupuute või kokkupuutekahtluse korral: Võtke ühendust mürgistuskeskuse või arstiga. Viige kannatanu värskesse õhku ja jätke lamama hingamist kergendavasse asendisse.

QSE2



Sisaldab: naatriumhüdroksiidi. Ohtlik! Põhjustab rasket nahasöövitust ja silmakahjustusi. Toode/pakend hävitatakse vastavalt ohtlike jäätmete käitlemise nõuetele. Silma sattumise korral: loputada mitu minutit hoolikalt veega. Eemaldage kontaktläätsed, kui neid kannate ja kui neid on kerge eemaldada. Jätkake loputamist. Nahale (või juustele) sattumise korral: eemaldage / võtke kohe seljast kõik saastunud rõivad. Loputage nahka veega / duši all. Võtke kohe ühendust mürgistuskeskuse või arstiga. Hoidke lukustatult. Kandke kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski.

QSW9



Sisaldab: etanooli. Ohtlik! Väga tuleohtlik vedelik ja aur. Põhjustab tõsist silmaärritust. Hoidke eemal soojusallikast, sädemetest, leekidest ja kuumadest pindadest. Ärge suitsetage. Kandke kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski.

Reaktiivide säilitamine ja käitlemine

Komplekti QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) tuleb säilitada toatemperatuuril (15–25 °C). Selles temperatuurivahemikus jäävad magnetosakesed reaktiivikassetides (RC) aktiivseks.

Märkus. Komplekti QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) karbil olev silt näitab komplekti aegumiskuupäeva. Aegumiskuupäev käib reaktiivikasseti kohta.

Ärge kasutage komplekti QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) pärast aegumiskuupäeva.

Komplekti osad

Komplekt QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) sisaldab kasutusvalmis lahust Proteinase K, mida võib säilitada toatemperatuuril (15–25 °C).

Ärge säilitage reaktiivikassette (RC) temperatuuril alla 15 °C.

Avatud komplekti QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) reaktiivkassette võib hoida toatemperatuuril (15–25 °C) kuni 4 nädalat, mis võimaldab reaktiive säästlikumalt taaskasutada ja proove paindlikumalt töödelda. Kui reaktiivikassetti on osaliselt kasutatud, asetage magnetosakesi sisaldava anuma kaas tagasi ja sulgege reaktiivikassett aurustumise vältimiseks pärast protokolliga tööseeria lõppemist kaasasolevate taaskasutatavate pitseerimisribadega.

Reaktiivi aurustumise vältimiseks võib reaktiivikassett olla avatud kuni 15 tundi (sh tööseeria) keskkonna temperatuuril kuni 32 °C. Säilitades komplekti osi nõudeid järgimata, võivad puhvrid enneaegselt aeguda.

Väheste proovidega (< 24) partiide töötlemisel suureneb nii aeg, mille jooksul reaktiivikassett on avatud kui ka vajalik puhvrimaht, mis võib vähendada proovide arvu, mida on võimalik ühe kasseti kohta ette valmistada.

Vältida tuleb reaktiivikasseti sattumist UV-valguse kätte (nt kui viimast kasutatakse saasteainetest puhastamiseks), sest UV-valgus võib kiirendada reaktiivikassettide ja puhvrite aegumist.

Pöörake tähelepanu karbile ja komponentide siltidele prinditud aegumiskuupäevale ja säilitamistingimustele. Ärge kasutage aegunud ega valesti säilitatud komponente.

Proovide võtmine ja ettevalmistamine

Puhastamisprotseduur on optimeeritud kasutamiseks katsutitesse PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) kogutud verest saadud plasmas. Teavet, kuidas koguda verd, käidelda neid katsuteid ja plasmata ette valmistada, lugege katsuti PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) kasutusjuhendist, mille leiab vastavalt veebilehtede www.qiagen.com ja www.PreAnalytiX.com tooteteabe lehtedelt vahekaartidelt Product Resource (Toodete loendid) ja Resources (Ressursid).

Plasma saab valmistada, kasutades (A) standardset kahekordse tsentrifuugimise protokollid või (B) primaarkatsuteid: ühekordselt tsentrifuugitud katsuti PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) otsene töötlemine instrumendil QIASymphony SP.

A) Plasma ettevalmistamine standardsete protokollidega

1. Tsentrifuugige katsuti PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) toatemperatuuril (15–25 °C) 15 minutit 1600–3000 × g juures (esimene tsentrifuugimine) ja 10 minutit 1600–3000 × g juures (teine tsentrifuugimine), kasutades tasakaalustatud väljapööratud anumatega tsentrifuugi. Kui eelistatakse pidurdamist, on soovitatav kasutada keskmise tasemega pidurdamist ja see peaks olema kinnitatud teie konkreetse töövoos jaoks.

Märkus. Enne tsentrifuugimist jahutatult säilitatavate proovide parimate tulemuste saavutamiseks laske katseklaasil enne töötlemist toatemperatuurile soojeneda.

2. Pipeteerige plasma 15 ml koonilise põhjaga tsentrifuugikatsutisse (pole komplektis), veendumaks, et see ei häiri tuumastatud rakufraktsiooni.

3. Tsentrifuugige 15 ml koonilise põhjaga tsentrifuugikatsuti toatemperatuuril (15–25 °C) 15 minutit 1600–3000 × g juures (esimene tsentrifuugimine) ja 10 minutit 1600–3000 × g juures (teine tsentrifuugimine), kasutades tasakaalustatud väljapööratud anumatega tsentrifuugi.

Märkus. Ärge ületage sekundaarkatsuti tootja maksimaalset soovitatavat tsentrifuugimiskiirust.

4. Pipeteerige vajalik plasmakogus (vt jaotist „Proovi kogus“ lk 20) 14 ml, 17 × 100 mm ümarapõhjalisse polüstüreenkatsutisse veendumaks, et see ei häiriks vererakkude jääki, kui see on olemas.
5. Viige ümarapõhjaline katsuti koos plasmaprooviga katsutikandurisse ja laadige katsutikandur instrumendi QIASymphony SP proovi sisestussahklisse.

Märkus. Maksimaalse ccfDNA saagise saamiseks töödeldge maksimaalne saadaolev plasmakogus.

Märkus. Vältige vahu tekkimist plasmaproovide sees või peal. Vaht või õhumullid proovidel võivad viia vale proovimahu pipeteerimisele.

Märkus. Pärast vere kogumist ja tsentrifugimist stabiliseerivad katsutid PAXgene Blood ccfDNA Tubes (IVD) ccfDNA (ccfDNA profiil) plasmas temperatuuril 2–8 °C kuni 7 päevaks enne plasma töötlemist. Pikemaks säilitamiseks soovitame alikvootide külmutamist.

Märkus. Varem säilitatud plasmaproovide kasutamisel (nt säilitatud temperatuuril 2–8 °C või külmutatuna temperatuuril –20 °C või –70/–80 °C) tuleb need enne töösükli käivitamist viia toatemperatuurile (15–25 °C).

B) Vereplasma ettevalmistamine primaarkatsutite käitlemiseks QIASymphony SP instrumendil

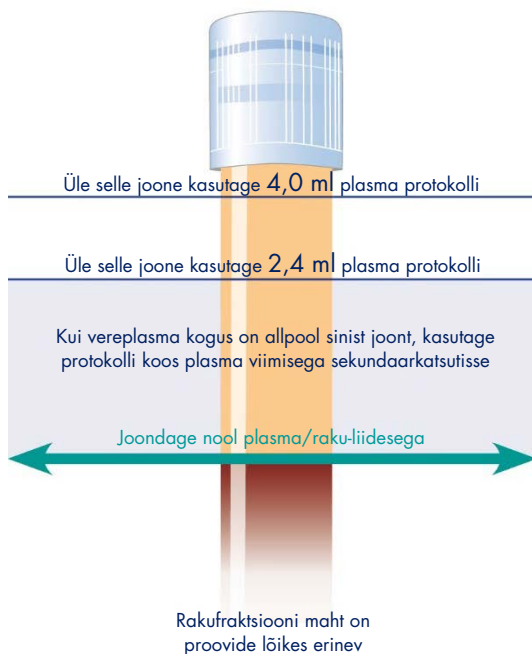
1. Tsentrifuugige katsutit PAXgene Blood ccfDNA Tube(CE-IVD) toatemperatuuril (15–25 °C) 15 minutit 3 000 × g juures, kasutades tasakaalustatud väljapööratud anumatega tsentrifugi. Kui eelistatakse pidurdamist, on soovitatav kasutada keskmise tasemega pidurdamist ja see peaks olema kinnitatud teie konkreetse töövoogu jaoks.

Märkus. Enne tsentrifugimist jahutatult säilitatavate proovide parimate tulemuste saavutamiseks laske katseklaasidel enne töötlemist toatemperatuurile soojeneda.

2. Kvantifitseerige iga katsuti plasma maht pärast nende eemaldamist tsentrifuugianumast, kasutades valimise tööriista PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, mis on komplektiga kaasas (joonis 3). Pärast katsuti eemaldamist tsentrifuugist on tööriista sinine nool joondatud plasma/raku-liidesega. Sinised jooned näitavad, kas plasmataase on 2,4 või 4,0 ml primaarkatsutite käitlemisprotokolli jaoks piisav. 2,4 ml protokolli jaoks on vajalik minimaalne plasmakolonni kõrgus 2,3 cm ja 4,0 ml puhul vähemalt 3,4 cm.



Määrake katsutite PAXgene Blood ccfDNA Tubes(CE-IVD) töötlemise optimaalne protokoll otse QIASymphony SP instrumendil



Joonis 3. Plasma koguse määramine tööriista PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool abil (see on ainult illustratiivne; palun ärge printige, sest tegelik kogus erineb – mitte proovidega kasutamiseks).

Märkus. Juhul kui plasma ja rakufraktsiooni selget eraldumist ei toimunud või faasid olid tsentrifuugist eemaldamisel kogemata segunenud, tuleb tsentrifuugimist korrata.

3. Enne QIASymphony SP instrumendile paigutamist ccfDNA otseseks ekstraheerimiseks eemaldage katsutitelt PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) Hemogardi sulgemiskork.

Märkus. Katsuti sulgurit tuleb eemaldada ja avatud katsuteid käsitseda ettevaatlikult, et vähendada proovi mahaminemise, katsute vahelise ristsaastumise ja verega kokkupuute ohtu.

4. Asetage avatud katsutid PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD), mis sisaldavad piisavalt plasmat, katsutikandurisse ja laadige katsutikandur QIASymphony SP instrumendi proovisestussahtlisse.

C) Katsutis PAXgene Blood ccfDNA Tube töödeldud plasmaproovide külmutamine ja sulatamine

1. Külmutamiseks viige plasma vastavatele riulile paigutatud sobivatesse katsutitesse (nt krüoviaalid).
2. Külmutage ja säilitage plasmat temperatuuril $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Säilitamiseks temperatuuril alla $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, külmutage plasmaproove kõigepealt vähemalt 24 tundi temperatuuril $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ja viige seejärel temperatuurile -70 või $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Sulatage plasma toatemperatuuril ($15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Märkus. Ärge sulatage madalal temperatuuril (nt $4\text{ }^{\circ}\text{C}$).

4. Kui plasmas moodustuvad krüopretsipitaadid, segage katsutit pärast sulatamist vorteksil 30 sekundit ja kasutage proovi instrumenti QIASymphony SP ccfDNA isoleerimise protseduuriks edasise töötlemiseta.

Märkus. Krüopretsipitaate ei ole soovitatav eemaldada plasmat tsentrifuugides, kuna need võivad sisaldada ccfDNA-d.

Märkus. Krüopretsipitaatide moodustumise vältimiseks võib plasmat toatemperatuuri asemel sulatada 30 minutit temperatuuril $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Protseduur

Ülevaade ccfDNA automaatne puhastamine instrumendil QIASymphony SP

Instrument QIASymphony SP muudab proovi automaatse ettevalmistamise lihtsaks ja mugavaks. Proovid, reaktiivid ja proovimaterjalid ning eluaadid eraldatakse erinevatesse sahtlitesse. Lihtsalt laadige enne tööseeriat proovid, kaasasolevad reaktiivid spetsiaalsetesse kassetitesse ja eelnevalt eraldatud materjalid õigesse sahtlisse. Alustage protokolliga ja eemaldage puhastatud ccfDNA pärast töötlemist sahtlist Eluate (Eluaat). Vt seadmega kaasasolevatest kasutusjuhenditest kasutusjuhiseid.

Märkus. Seadme toimimiseks ei ole valikuline hooldus kohustuslik, kuid see on väga soovitatav saasteohu vähendamiseks.

Proovi kogus

Veendumaks, et tavalise töövoos korral edastatakse instrumendiga üle 2,4 ml (protokoll PAXcircDNA_2400) ja 4,8 ml proovi (protokoll PAXcircDNA_4800), on vaja tühimahtu vastavalt 0,4 ja 0,5 ml, mis tähendab, et sisestada tuleb minimaalselt 2,8 ja 5,3 ml proovi. Kui saadaval plasmakogus on vähem kui 2,8 või 5,3 ml, võimaldab protokolliga integreeritud režiim Less Sample (Vähendatud proovikogus) viia üle väiksema plasmakoguse, kui näidatud. Sellisel juhul edastatakse instrumendi abil vähendatud kogus proovi ja edastatud kogus dokumenteeritakse tulemusefailis. Lisaks märgistatakse vastavad proovid sildiga ebaselge (veakood 140043, režiim Luba vähendatud proovikogus). Režiimi Less Sample (Vähendatud proovikogus) lubamiseks on plasma minimaalne sisestuskogus 1,6 ml ja 4,1 ml. Proove ei töödelda ja need märgistatakse sildiga kehtetu, kui proovi kogus on vähendatud. Primaarkatsutite käitlemise töövoos korral tagatakse sobiv proovikogus, kasutades komplekti kuuluvat tööriista PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (kirjeldatud jaotises „Proovimaterjali valmistamine“ lk 24.)

Reaktiivikassetide laadimine sahtlisse Reagents and Consumables (Reaktiivid ja kulumaterjal)

ccfDNA puhastamiseks ettenähtud reaktiivid on uuenduslikus reaktiivikassetis (joonis 4). Reaktiivikasseti iga anum sisaldab teatud reaktiivi, nagu magnetosakesed, sidumispuhver, pesupuhver või elueerimispuhver. Osaliselt kasutatud reaktiivikassetid võib hilisemaks kasutamiseks uuesti sulgeda taaskasutatavate pitseerimisribadega, mis väldib jäätmete tekkimist puhastusprotseduuri lõpus ülejäänud reaktiivide tõttu.



Joonis 4. QIAasympathy reaktiivikasset (RC). Reaktiivikasset sisaldab kõiki protokollis tööseeria läbiviimiseks vajalikke reaktiive.

Enne protseduuri alustamist veenduge, et magnetosakesed on täielikult uuesti suspendeeritud. Eemaldage reaktiivikasseti raamilt magnetosakeste anum, keeristage seda jõuliselt vähemalt 3 minutit ja asetage seejärel enne esimest kasutamist reaktiivikasseti raamile.

Märkus. Magnetosakeste värvus võib muutuda. See ei mõjuta toimivust.

Pange reaktiivikasset reaktiivikasseti hoidikusse. Pange enne reaktiivikasseti esmakordset kasutamist reaktiivikassetile peale läbitorgatav kaas (joonins 4).

Märkus. Läbitorgatav kaas on terav. Olge ettevaatlik, kui panete selle reaktiivikasseti peale. Veenduge, et asetate läbitorgatava kaane reaktiivikasseti peale õiget pidi.

Pärast magnetosakeste anuma katte eemaldamist laaditakse reaktiivikasset sahtlisse Reagents and Consumables (Reaktiivid ja kulumaterjal).

Osaliselt kasutatud reaktiivikassette saab säilitada seni, kuni neid jälle vaja läheb (vt jaotis „Reaktiivide säilitamine ja käitlemine“, lk 14)

Märkus. Lisada tuleb lahust Proteinase K (vt jaotis „Mida on vaja teha enne alustamist“, lk 26).

Märkus. Jälgige, et reaktiivikassetid, magnetosakeste anumad ja Proteinase K pudelid ei läheks komplekti erinevate partiide vahel sassi.

Plastnõude laadimine sahtlisse Reagents and Consumables (Reaktiivid ja kulumaterjal)

Proovi preparaadi kassetid, 8-Rod Covers (mõlemad eelnevalt eraldatud jaotuskarpidesse) ja ühekordselt kasutatavad otsikud Filter-Tips (200 µl otsikud sinistel alustel, 1500 µl otsikud hallidel alustel) laaditakse sahtlisse Reagents and Consumables (Reaktiivid ja kulumaterjal).

Märkus. Veenduge, et jaotuskarpide kaaned eemaldatakse enne, kui jaotuskarbid laaditakse sahtlisse Reagents and Consumables (Reaktiivid ja kulumaterjal).

Märkus. Otsikutel on filtrid, et vältida ristsaastumist.

Instrumenti QIASymphony SP töölaual asuvad otsikute aluse pesad võib täita mõlemat tüüpi otsikute alusega. Instrument QIASymphony SP tuvastab inventari skaneerimise ajal laaditud otsikute tüübi.

Märkus. Ärge täitke otsikute aluseid ega kassetide Sample Prep Cartridges või katete 8-Rod Covers jaotuskarpe uuesti enne uue protokolliga tööseeria käivitamist. Instrument QIAAsymphony SP võib kasutada osaliselt kasutatud otsiku aluseid ja jaotuskarpe.

Plastnõude tellimise kohta vt lehte 37.

Sahtli Waste (Jäätmed) laadimine

Tööseeria ajal kasutatud kassetid Sample Prep Cartridges ja 8-Rod Covers pannakse uuesti tühjadesse jaotuskarpidesse sahtlis Waste (Jäätmed). Veenduge, et sahtlis Waste (Jäätmed) on piisavalt tühje jaotuskarpe protokolliga tööseeria ajal tekkinud plastjäätmete jaoks.

Märkus. Veenduge, et jaotuskarpide kaaned eemaldatakse enne, kui jaotuskarbid laaditakse sahtlisse Waste (Jäätmed). Kui te kasutate kasutatud proovi preparaate kassetide ja katete 8-Rod Covers kogumiseks katete 8-Rod Covers karpe, veenduge, et karbi vaheosad on eemaldatud.

Kasutatud otsikute Filter-Tips kott tuleb kinnitada sahtli Waste (Jäätmed) esiküljele.

Märkus. Süsteem ei kontrolli otsikute prügikoti olemasolu. Veenduge, et otsikute prügikott on enne protokolliga tööseeria alustamist õigesti kinnitatud. Täiendavat teavet vt seadmega kaasasolevast kasutusjuhendist. Tühjendage otsikute kott maksimaalselt 96 proovi töötlemise järel, et vältida otsikute kinnijäämist.

Jäätmekonteiner kogub vedelaid jäätmeid, mis tekivad puhastusprotseduuri käigus. Sahtli Waste (Jäätmed) saab sulgeda üksnes siis, kui jäätmekonteiner on oma kohal. Kõrvaldage vedelad jäätmed vastavalt kohalikele ohutus- ja keskkonnaseadustele. Ärge töödelge täidetud jäätmepudelit autoklaavis. Tühjendage jäätmepudel maksimaalselt 96 proovi töötlemise järel.

Sahtli Eluate (Eluaat) laadimine

Laadige nõutav elueerimisstatiiv sahtlisse Eluate (Eluaat). Kuna eluaadi pikaajaline hoidmine sahtlis Eluate (Eluaat) võib põhjustada aurustumist või kondenseerumist, tuleb kasutada jahutusega asukohta. Kasutage koos vastava jahutusadapteriga „Elueerimise ava 1“.

Valitud elueerimismaht (µl)*	Esmane elueerimismaht (µl)†
60	75

* See on minimaalne juurdepääsetav eluaadimaht statiivi QIAGEN EMT (katalooginr 19588) lõplikus elueerimiskatsutis ja 1,5 ml keeratava korgiga katsutites Sarstedt (katalooginr 72.607). Üksikutel juhtudel võib üksikute proovide lõplik eluaadimaht olla kuni 5 µl väiksem.

† Vajalik esmane elueerimislahuse kogus, mis tagab, et tegelik eluaadimaht oleks sama kui valitud kogus.

Inventari skaneerimine

Enne tööseria alustamist kontrollib seade, et järjekorras oleva(te) partii(de) jaoks on vastavatesse sahtlitesse laaditud piisavalt proovimaterjale.

Proovimaterjali valmistamine

Vt jaotist „Proovide võtmine ja ettevalmistamine“, lk 16.

ccfDNA säilitamine

Pärast proovi ettevalmistamist võib ccfDNA eluaate säilitada temperatuuril –20 või –80 °C. Külmutatud eluaate ei tohi üles sulatada üle kolme korra. Kõige ajakohasema teabe saamiseks ccfDNA stabiilsuse kohta eluaatides, lugege tooteteavet veebilehelt www.qiagen.com või www.PreAnalytiX.com.

Protokolli ülevaade

Tabel 1. Protokolli ülevaade

Näidis	Katsuti PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) töötlemine	Proovi sisestuskogus (sh tühimaht) (ml)	ccfDNA ekstraheerimiseks kasutatud proovi kogus (ml)	Elueerimismaht (µl)	Instrumenti QIA Symphony SP protokoll
Katsutitesse PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) kogutud inimese venoossest täisverest saadud plasma	Kahekordne tsentrifugimine, plasma üleviimine sekundaarkatsutisse	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	Ühekordne tsentrifugimine, otsene töötus instrumendil	Vastavalt valimise tööriistale	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
	QIA Symphony SP		4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Enne alustamist pidage silmas järgmist

- Kandke kemikaalidega ja bioloogiliste proovidega töötamisel alati sobivat laborikitlit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille. Lisateabe saamiseks tutvuge vastavate ohutuskaartidega.
- Veenduge, et te oskate kasutada instrumenti QIA Symphony SP. Vt seadmega kaasasolevatest kasutusjuhenditest kasutusjuhiseid.
- Lugege enne protseduuriga alustamist jaotist „Protseduuri põhimõtted“.
- Tutvuge kindlasti protokolli lehega ja laboritarvete loendiga (leiab veebilehelt www.qiagen.com tooteteabe lehelt vahekaardilt Product Resources (Toodete loendid)).
- Vältige reaktiivikasseti jõulist loksutamist, sest vastasel korral võib tekkida vaht, mis võib põhjustada vedelikutaseme tuvastamise seotud probleeme.

- Veri tuleb koguda katsutitesse PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (PreAnalytiX, katalooginr 768165). Juhiseid, kuidas koguda ja käidelda verd ning plasmat töödelda, lugege kasutusjuhendist, mille leiab vastavalt veebilehtede www.qiagen.com ja www.PreAnalytiX.com tooteteabe lehtedelt vahekaartidelt Product Resource (Toodete loendid) ja Resources (Ressursid).

Mida on vaja teha enne alustamist

- Enne protseduuri alustamist veenduge, et magnetosakesed on täielikult uuesti suspendeeritud. Enne esimest kasutamist keeristage magnetosakesi sisaldavat anumad jöuliselt vähemalt 3 minutit.
- Veenduge, et läbistatav kaas on pandud reaktiivikassetile ja magnetosakeste anuma kate on eemaldatud, või kui kasutatakse osaliselt kasutatud reaktiivikasseti, veenduge, et taaskasutatavad pitseerimisribad on eemaldatud.
- Reaktiivikasset ei sisalda lahust Proteinase K, vaid selle peab hankima kasutaja (proovi sahtel, pesa A, koht 1 ja/või 2). Veenduge, et saadaval oleks õige kogus lahust Proteinase K.

Komplekt QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) sisaldab kasutusvalmis lahust Proteinase K. Lahust Proteinase K võib säilitada toatemperatuuril (15–25 °C). Pikemaajalisel säilitamisel soovime ensüümiviale hoida lahusega Proteinase K temperatuuril 2–8 °C.

Proovi number	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 [†]

* Iga proovi jaoks on vaja 110 µl (2400 µl plasma korral) või 220 µl (4800/4000 µl plasma korral), millele on lisatud täiendav tühimaht 1100 µl [(n x 110 või 220 µl) + 1100 µl].

[†] Kui vajatakse rohkem kui 11 660 µl, kasutage teist katsutit (Corning, katalooginr 352051). Teise katsuti jaoks on vaja lisatühimahtu 1100 µl.

Märkus. Lahust Proteinase K sisaldavad katsutid asetatakse katsutikandurisse. Katsutikandur, mis sisaldab lahust Proteinase K, tuleb asetada sahtlisse Sample (Proov) pesa A kohtadesse 1 ja 2. Lahuse Proteinase K jaoks soovitame kasutada 14 ml ümarapõhjalisi 17 x 100 mm polüstüreenkatsuteid (Corning, katalooginr 352051).

- Kui proovidel on ribakoodid, paigutage proovid katsutihoidikus nii, et ribakoodid on ribakoodilugeja poole instrumendi QIASymphony SP vasakul poolel.
- Teavet protokollidega ühilduvate proovikatsutite ja minimaalse proovimahu kohta lugege vastavast laboritarvikute loendist, mille leiab veebilehe www.qiagen.com tooteteabe lehe vahekaardilt Product Resources (Toodete loendid).

Protokoll: ccfDNA automaatne puhastamine instrumendil QIASymphony SP

Täpset teavet iga protokolliga kohta, sh mahud ja katsutid, lugege protokollilehel ja laboritarvikute loendist, mille leiab veebilehel www.qiagen.com tooteteabe lehel vahekaardilt Product Resources (Toodete loendid). Proovimaterjali (katsutisse PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) kogutud inimese venoosest täisverest saadud plasma) ettevalmistamiseks lugege selle käsiraamatu jaotist „Proovide võtmine ja ettevalmistamine“ ja „Proovimaterjali valmistamine“ kui ka katsuti kasutusjuhendist, mille leiab vastavalt veebilehtede www.qiagen.com ja www.PreAnalytiX.com tooteteabe lehtedelt vahekaartidelt Product Resource (Toodete loendid) ja Resources (Ressursid).

1. Sulgege kõik sahtlid ja kate.
2. Lülitage sisse instrument QIASymphony SP ja oodake, kuni ekraanile ilmub kuva Sample Preparation (Proovi ettevalmistamine) ja käivitustoiming on lõppenud.
3. Toitelüliti asub instrumendi QIASymphony SP alumises vasakus nurgas.
4. Logige seadmesse sisse.
Laadige nõutav elueerimisstatiiv sahtlisse Eluate (Eluaat).
Ärge laadige 96 süvendiga plaati „Elueerimise avale 4“. Kasutada tuleb koos vastava jahutusadapteriga „Elueerimise ava 1“.
Kui kasutate 96 süvendiga plaati, veenduge, et plaat on õiges asendis, sest vale paigutus võib põhjustada proovide segiminekut järelanalüüsis.
Kui kasutate statiivi Elution Microtubes CL, eemaldage põhi, keerates statiivi, kuni põhi tuleb küljest ära.
5. Veenduge, et sahtel Waste (Jäätmed) on õigesti ette valmistatud, ja skaneerige sahtel Waste (Jäätmed) inventar, sh otsikute rennid, katsutilaadur, tühi vedelate jäätmete anum ja tühjad jaotuskarbid. Vajaduse korral asendage otsikute prügikott.
6. Laadige vajalikud reaktiivikassetid ja proovimaterjalid sahtlisse Reagents and Consumables (Reaktiivid ja kulumaterjal).

7. Viige läbi sahtli Reagents and Consumables (Reaktiivid ja kulumaterjal) varude skaneerimine.

8. Asetage proovid õigesse proovikandurisse ja laadige need sahtlisse Sample (Proov).

Märkus. Lisaks tavapärasele töötlusele, sh plasma üleviimine sobivasse proovikandurisse (14 ml Falcon® polüstüreenist ümara-põhjaline katsuti 17 x 100 mm), võimaldab katsuti PAXgene Blood ccfDNA Tube primaarkatsuti käitlemise töövoog ccfDNA-d ekstraheerida otse katsutist PAXgene Blood ccfDNA Tube (10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm). Rohkem teavet primaarkatsuti käitlemise kohta lugege protokollilehel, laboritarvikute loendist ja katsuti kasutusjuhendist, mille leiab vastavalt veebilehtede www.qiagen.com või www.PreAnalytiX.com tooteteabe lehtedelt vahekaartidelt Product Resource (Toodete loendid) ja Resources (Ressursid).

9. Kasutades puutekraani, sisestage iga töödeldava proovide partii ja lahuse Proteinase K kohta vajalikud andmed.

Sisestage järgmised andmed:

- proovi andmed (sõltuvalt kasutatud proovi alustest valige BD #352051 FalconPP 17 x 100 või BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100)
- kasutatav protokoll Assay Control Set (Analüüsi kontrollimise komplekt)
- elueerimisvõime ja väljastamise positsioon

Pärast partii andmete sisestamist kuvatakse oleku LOADED (LAADITUD) asemel olek QUEUED (JÄRJEKORRAS). Kohe kui üks partii on järjekorda pandud, ilmub nupp Run (Käivita).

10. Asetage Proteinase K õigesse proovikandurisse kohta 1 ja 2 ning laadige need sahtli Sample (Proov) pessa A.

11. Määratlege Proteinase K, vajutades nuppu IC.

12. Vajutage nuppu Run (Käivita), et alustada puhastamise protseduuri.

Kõik töötlemise etapid on täisautomaatsed. Protokollile lõpus ilmub partii olek RUNNING (TÖÖTAB) asemel olek COMPLETED (VALMIS).

13. Võtke puhastatud ccfDNA-d sisaldav elueerimisalus välja sahtlist Eluate (Eluaat). Kinnitage elueerimisaluse eemaldamine instrumendi QIASymphony SP tarkvaras.

14. ccfDNA on kasutamiseks valmis või seda saab säilitada temperatuuril $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ või $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ kuni 6 kuud.

QIAGEN soovib eemaldada eluaadi plaadi sahtlist Eluate (Eluaat) kohe pärast tööseeria lõppemist. Olenevalt temperatuurist ja niiskusest võib pärast tööseeria lõppemist instrumenti QIASymphony SP jäetud elueerimisplaatidel tekkida kondenseerumine või aurustumine.

Märkus. Instrumendi QIASymphony SP üleöö tööseeriade puhul jahutusfunktsiooni kasutamine.

Üldiselt ei kanta magnetosakesi üle eluaatidesse. Kui ülekandmine toimub, ei mõjuta eluaatides olevad magnetosakesed enamikku järelrakendusi.

Kui magnetosakesed tuleb enne järelrakenduste teostamist eemaldada, tuleb eluaate sisaldavad katsutid või plaadid asetada kõigepealt sobivale magnetile ja edastada eluaadid puhtasse katsutisse (vt „Lisa: ccfDNA kvantifitseerimine“).

Iga elueerimisplaadi kohta luuakse tulemuste failid.

15. Kui reaktiivikassetti on kasutatud üksnes osaliselt, sulgege see kaasasolevate taaskasutatavate pitseerimisribadega pärast protokollis tööseeria lõppemist, et vältida aurustumist.

Märkus. Rohkem teavet osaliselt kasutatud reaktiivikassetide kohta lugege jaotisest „Reaktiivide säilitamine ja käitlemine“.

16. Hävitage kasutatud proovivõtukatsutid ja analüüsijätmed vastavalt kohalikele ohutusnõuetele.

Ohutusteavet lugege jaotisest „Hoiatused ja ettevaatusabinõud“.

17. Puhastage instrument QIASymphony SP.

Järgige seadmega kaasasolevaid kasutusjuhendi hooldusjuhiseid. Pidage meeles, et puhastaksite regulaarselt otsikukatteid, et vähendada ristsaastumise ohtu.

18. Sulgege seadme sahtlid ja lülitage instrument QIASymphony SP välja.

Kvaliteedikontroll

QIAGEN-i ISO sertifikaadiga kvaliteedihalduse süsteemi kohaselt on iga komplekti QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) partiid testitud eelnevalt määratud nõuete kohaselt, et tagada toote ühtlane kvaliteet.

Piirangud

Süsteemi toimumisnäitajad on määratud toimumise hindamisuuringutes, milles puhastati katsutisse PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) kogutud inimese venoossest täisverest saadud plasmast ccfDNA-d.

Komplekti QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) toimumisnäitajad on määratud 18S ribosoomi ja DYS14 Y-kromosoomi ccfDNA fragmentide abil plasmas.

Kasutaja vastutab oma laboris QIAGEN-i ja PreAnalytiX-i toimumisnäitajate hindamisuuringutes käsitlemata protseduurideks kasutatava süsteemi toimumisnäitajate kinnitamise eest.

Negatiivse mõju vähendamiseks diagnostilistele tulemustele tuleks kasutada järelrakenduste sobivaid kontrolle. Mis tahes saadud diagnostilisi tulemusi tuleb tõlgendada koos muude kliiniliste või laboratoorsete leidudega.

Tõrkeotsingujuhend

See tõrkeotsingu juhend võib olla abiks tekkinud probleemide lahendamisel. Kontaktteabe ja korduma kippuvad küsimused leiate veebilehtede www.PreAnalytiX.com või www.qiagen.com vastavatelt tooteteabe lehtedelt.

Kommentaariid ja ettepanekud

Üldine käsitsemine

- a) Puutekraanil kuvatav veateade Kui protokollil veateade kuvatakse protokollil läbimise ajal, vt selle kohta teavet seadmega kaasasolevast kasutusjuhenditest.
- b) Erinev eluaadi maht pärast üleõiseid tööseeriaid Jõudluse optimeerimiseks toetab komplekt QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) proovide töötlemist üleöö, jahutades eluaate instrumendil QIASymphony SP. Pikkade jahutusperioodi ajal võivad eluaadi mahud muutuda sõltuvalt temperatuurist ja niiskusest laboris. Näiteks kui valitud maht oli temperatuuri 15–25 °C ja 30–60% niiskuse juures 60 µl, võib maht olla pärast 12 tundi instrumendis hoidmist vahemikus 50–85 µl.

Krüopretsipitaadid pärast plasmaproovide ülessulatamist

- a) Plasmas moodustuvad krüopretsipitaadid Krüopretsipitaatide moodustumise vältimiseks võib plasmataatemperatuuri asemel sulatada 30 minutit temperatuuril 30 °C. Ärge sulatage madalal temperatuuril (nt 4 °C). Segage katsutit pärast ülessulamist 30 sekundit vorteksiga.
- b) Madal ccfDNA saagis plasmast pärast krüopretsipitaatide eemaldamist Ärge tsentrifugeerige plasmataate, et krüopretsipitaate eemaldada, kuna need võivad sisaldada ccfDNA-d.

Ebapiisav plasmamaht katsutitest PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)

- a) Katsutisse PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) on kogutud vähem kui 10 ml verd Veenduge, et katsutisse PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) on kogutud 10 ml verd. Lugege katsuti PAXgene Blood ccfDNA Tube kasutusjuhendit.
- b) Kõrge rakufraktsiooni tase Kõrge rakufraktsiooni (hematokrit) tase inimese täisveres (nt meestel üle 51% ja naistel üle 47%) võib vähendada plasma mahtu.
- c) Vähene plasma saagis pärast tsentrifugimist Vere pikad säilitus- ja transportimisajad või ettenähtust erinevad tsentrifugimistingimused võivad mõjutada plasma saagist.

Komplekti QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) avatud reaktiivikasseti anumas on sade

- a) Puhvri aurustumine Liigne aurustumine võib põhjustada puhvrites suurenenud soolasisaldust. Kõrvaldage reaktiivikasset kasutusest. Veenduge, et sulgete osaliselt kasutatud reaktiivikasseti puhvri anumad taaskasutatavate pitseerimisribadega, kui neid ei ole kasutatud puhastamiseks.
- b) Reaktiivikassetide säilitamine Reaktiivikasseti (RC) säilitamine temperatuuril alla 15 °C võib kaasa tuua sademe tekkimise.

ccfDNA madal saagis

- a) Magnetosakesed ei olnud täielikult uuesti suspendeeritud Enne protseduuri alustamist veenduge, et magnetosakesed on täielikult uuesti suspendeeritud. Segage enne kasutamist vähemalt 3 minutit vorteksiga. Ebapiisav uuesti suspendeerimine võib tekitada vigu pipeteerimisel.
- b) Pipetiotsiku ummistumine lahustumatu aine tõttu Lahustumatu aine ei ole enne instrumendi QIASymphony SP puhastusprotseduuri alustamist proovist eemaldatud.
- c) Proovimaterjali ccfDNA kontsentratsioon on madal Kuna ccfDNA kogus plasmaproovides on väga väike, võib ccfDNA kontsentratsiooni mõõtmine olla olenevalt kasutatud kvantifitseerimismeetodist keerukas.

Eluaatide ccfDNA kontsentratsiooni kontrollimiseks on soovitatav kasutada tundlikku qPCR-i.

- d) Reaktiivikasset on puudulikult taassuletud Õhuleke võib vähendada puhvrite stabiilsust, vähendades osaliselt kasutatud reaktiivikasseti abil ccfDNA ekstraheerimise efektiivsust. Veenduge, et sulgekste hoolikalt osaliselt kasutatud reaktiivikasseti puhvri anumad taaskasutatavate pitseerimisribadega, kui neid ei kasutata puhastamiseks.

ccfDNA halb toimivus edasistes rakendustes

- a) Eluaati on kontseentreeritud vaakumsentrifugimisega Ärge kontseentreerige eluaati vaakumsentrifugimisega (nt instrumendis SpeedVac® või sarnane). See võib põhjustada lagunemist kõrge temperatuuri tõttu ja soolade teket eluaadis, mis võib häirida edasist kasutust.
- b) Osakeste ülekandmine Üldiselt ei kanta magnetosakesi üle eluaatidesse. Kui ülekandmine toimub, ei mõjuta eluaatides olevad magnetosakesed enamikku järelrakendusi. Kui spetsiifilisteks edasisteks analüüsideks on vaja kasutada eluaatide väga suuri koguseid, võib eluaadid tsentrifugida ja viia puhtasse katsutisse.

Ebaõnnestunud/puudulik proovi üleviimine

- a) Standardseteks protokollideks laaditakse valed proovimahud Kui laaditakse ettenähtust väiksem proovimaht, on suurem risk proovile ebaselgeks sildistamiseks või proovi üleviimise ebaõnnestumiseks (kehtetu sildistamine).
Laadige õige proovimaht, nagu ette nähtud vastaval protokollilehel ja laboritarvikute loendis.
- b) Proovikatsutis on mullid ja/või vaht Mullid või vaht proovis ja/või proovi sisestuskatsutis võib olla tingitud sellest, et tuvastatud on vale vedeliku tase ja seetõttu on proovi ülekandmine puudulik. Eemaldage proovikatsutist mullid.

Sümbolid

Kasutusjuhendis või pakendil ja sildil võivad olla järgmised sümbolid.



<N>

Sisaldab reaktiive, millest piisab <N> analüüsi jaoks. Tähistab IVD-analüüsides koguarvu, mida saab selle IVD-ga teha.



Kõlblik kuni



In vitro diagnostiline meditsiiniseade



CE-vastavusmärgis. See toode täidab Euroopa Liidu määruse 2017/746 *in vitro* diagnostikaks kasutatud meditsiiniseadmete kohta nõudeid.



Katalooginumber



Partii number



Materjali number (st komponendi tähistamine)



Komponendid (st nimekiri sisalduvate komponentide kohta)



Sisaldab (sisud)

NUM

Arv (st viaalid, pudelid)

GTIN

Globaalne kaubaartikli number

Rn

R tähistab kasutusjuhendi (käsiraamatu) redigeerimist ja n on versiooninumber



Temperatuuripiirangud



Tootja



Tutvuge kasutusjuhendiga



Ettevaatust!

PROTK

Proteinase K

WELL

Süvendi number (st reaktiivikasseti süvend)

REAG | **CART**

Reaktiivikassett

Sodium azide

Naatriumasiid

Lisa: ccfDNA kvantifitseerimine

Kuna proovimaterjalis on ccfDNA kontsentratsioon väga madal, ei soovitata DNA-d mõõta spektrofotomeetriga. ccfDNA kontsentratsiooni tuleb määrata tundliku ja täpse fluorestsentsipõhise kvantifitseerimisanalüüsiga või analüüsiga real-time PCR.

Kui tuleb eemaldada magnetosakesed, paigutage DNA-d sisaldav katsuti sobivale magnetseparaatorile (nt QIAGEN 12-Tube Magnet, katalooginr 36912), kuni magnetosakesed on eraldunud.

Kui DNA on mikroplaadil, paigutage mikroplaat sobivale magnetseparaatorile (nt QIAGEN 96-Well Magnet Type A, katalooginr 36915), kuni magnetosakesed on eraldunud. Kui sobivat magnetseparaatorit ei ole võimalik kasutada, tsentrifuugige DNA-d sisaldavat katsutit 1 minut täiskiirusel mikrotsentrifuugis, et granuleerida kõik järelejäänud magnetosakesed.

Tellimisteave

Toode	Sisukord	Katalooginr
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Sisaldab 2 reaktiivikasetti, Proteinase K katsuteid ja tarvikuid	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 katsutiit: 16 x 100 mm, 1,5 ml lisand, 10 ml võetud vere maht	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	QIASymphony proovi preparaadi moodul, 1-aastane garantii osadele ja laborile	9001297
Seotud QIAGEN-i tooted		
Proteinase K (10 ml)	1 x 10 ml pudel	19133
Reagent Cartridge Holder (2)	Reaktiivikasetti hoidik kasutamiseks instrumendiga QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	2 ml keeratava korgiga katsutite jahutusadapter. Kasutamiseks instrumendi QIASymphony SP sahtlis Eluate (Eluaat).	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	EMT-statiivide jahutusadapter. Kasutamiseks instrumendi QIASymphony SP sahtlis Eluate (Eluaat).	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Jahutusadapter 1,5 ml katsutitele Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock. Kasutamiseks instrumendi QIASymphony SP sahtlis Eluate (Eluaat).	9020731

Toode	Sisukord	Katalooginr
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Kassetid 8-well Sample Prep Cartridges kasutamiseks instrumendiga QIAAsymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	Kaheksavardalised katted kasutamiseks instrumendiga QIAAsymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Ühekordsed otsikud Filter-Tips, alusel; (8 × 128). Kasutamiseks instrumendiga QIAcube® ja QIAAsymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl, Qsym SP (1024)	Ühekordsed otsikud Filter-Tips, alusel; (8 × 128). Kasutamiseks instrumendiga QIAAsymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Otsikute prügikotid kasutamiseks instrumendiga QIAAsymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Magnet magnetosakeste eraldamiseks 12 × 1,5 ml või 2 ml katsutites	36912
96-Well Magnet Type A	Magnet magnetosakeste eraldamiseks 96 süvendiga plaadi süvendites, 2 × 96 Well Microplates FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Taaskasutatavad pitseerimiskomplektid osaliselt kasutatud QIAAsymphony reaktiivikassettide sulgemiseks	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Mittesteriilsed polüpropüleenist katsutid (maksimaalne maht 0,85 ml, säilitusmaht alla 0,7 ml, elueerimismaht 0,4 ml); 2304 96 süvendiga statiivides; sisaldab korgiribasid	19588

Toode	Sisukord	Katalooginr
Caps for Elution Microtubes (50 x 8)	Elutsiooni mikrokatsetite korgid (50 x 8)	19591
14 ml Falcon Tube	Polüstüreenist ümara põhjaga katsuti 17 x 100 mm, mida kasutatakse instrumendi QIASymphony SP proovikandurina	Corning, 352051

Ajakohase litsentsiteabe ja tootepõhised lahtiütlused leiate vastavast QIAGEN-i komplekti käsiraamatust või kasutusjuhendist. QIAGEN-i komplekti käsiraamatud ja kasutusjuhendid on saadaval veebilehel www.PreAnalytiX.com ja www.qiagen.com või tellimisel QIAGEN-i tehniliselt toelt või kohalikult müügiesindajalt.

Dokumendi redaktsiooniajalugu

Redaktsioon	Kirjeldus
R1, mai 2021	Esmene väljalase

Tellimine www.qiagen.com/shop | Tehniline tugi support.qiagen.com | Veebisait www.qiagen.com või PreAnalytiX.com