

Toukokuu 2021

# QIASymphony<sup>®</sup> PAXgene<sup>®</sup> Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) -sarjan käyttöohjeet (käsikirja)



192

Versio 1



In vitro -diagnostiikkaan



768566



PreAnalytiX GmbH, Feldbachstrasse, CH - 8634  
Hombrechtikon, Sveitsi



R1

1123518FI



A QIAGEN / BD Company

Tavaramerkit: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH); QIAGEN®, QIAcube®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Corning®, Falcon® (Corning, Inc.); Eppendorf® (Eppendorf AG); SpeedVac® (Thermo Fisher Scientific tai sen tytäryhtiöt). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty.

#### QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan rajoitettu lisenssisopimus

Tämän tuotteen käyttö tarkoittaa ostajan tai käyttäjän suostumusta noudattaa seuraavia ehtoja:

1. Tuotetta saa käyttää ainoastaan tuotteen mukana toimitettujen protokollien ja tämän käsikirjan mukaisesti sekä ainoastaan paneelin sisältämien osien kanssa. PreAnalytiX® ei myönnä immateriaalioimaisuutensa lisenssiä tarkoitukseen käyttää tai liittää tämän paneelin sisältämiä osia muiden osien kanssa, jotka eivät sisälly tähän paneeliin lukuun ottamatta osia, jotka kuvataan tuotteen mukana toimitetuissa protokollissa, tässä käsikirjassa ja muissa protokollissa, jotka ovat saatavana osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ja [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

2. PreAnalytiX ei takaa kuin nimenomaisissa lisensseissään, että tämä paneeli ja/tai sen käyttäjä(t) eivät loukkaa minkään kolmannen tahon oikeuksia.

3. Tämä paneeli ja sen osat on lisensoitu kertakäyttöön, ja niiden uudelleenkäyttö, kunnostaminen tai edelleenmyynti ovat kiellettyjä.

4. PreAnalytiX kiistää nimenomaisesti kaikki käyttöoikeudet, suorat tai epäsuorat, joita ei ole tässä nimenomaisesti ilmoitettu.

5. Paneelin ostaja tai käyttäjä suostuu siihen, ettei hän suorita tai anna muiden suorittaa toimenpiteitä, jotka voisivat johtaa edellä mainittuihin kiellettyihin tapahtumiin tai edesauttaa niiden syntymistä. PreAnalytiX voi kääntyä minkä tahansa tuomioistuimen puoleen pannaakseen täytäntöön tämän rajoitetun lisenssisopimuksen kiellot ja saadakseen hyvityksen kaikista valmistelu- ja oikeuskuluista (asianajopalkkiot mukaan lukien), kun tarkoituksena on tämän rajoitetun lisenssisopimuksen tai paneeliin ja/tai sen komponentteihin liittyvien immateriaalioikeuksien täytäntöönpano.

Katso päivitetetyt käyttöoikeusehdot osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ja [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

HB-2866-001 1123518 © 2021 PreAnalytiX GmbH, kaikki oikeudet pidätetään.

# Sisältö

Käyttötarkoitus.....	5
Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä.....	5
Kuvaus ja toimintaperiaate .....	6
<b>Yhteenveto ja selitykset</b> .....	6
Testin periaatteet .....	7
Toimitetut materiaalit .....	9
<b>Sarjan sisältö</b> .....	9
Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen.....	10
<b>Välineet</b> .....	10
Varoitukset ja varotoimet .....	11
<b>Turvallisuustiedot</b> .....	11
<b>Varotoimet</b> .....	12
Reagenssien säilytys ja käsittely.....	14
<b>Tarvikesarjan osat</b> .....	14
Näytteiden ottaminen ja valmisteleminen .....	16
Menetelmä.....	20
<b>Yleistä: ccfDNA:n automaattinen puhdistus QIASymphony SP -laitteella</b> .....	20
<b>Protokollan yhteenveto</b> .....	25
<b>Protokolla: ccfDNA:n automaattinen puhdistus QIASymphony SP -laitteella</b> .....	28
Laadunvalvonta .....	31
Rajoitukset .....	31
Vianmääritysopas .....	32
Symbolit .....	34

Liite: ccfDNA:n kvantifiointi .....	36
Tilastiedot .....	37
Asiakirjan muutoshistoria .....	39

# Käyttötarkoitus

QIASymphony SP -laitteen kanssa käytettävä QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja (CE-IVD) on tarkoitettu kiertävän soluttoman DNA:n (circulating cell-free DNA, ccfDNA) eristämiseen ja puhdistamiseen plasmasta, joka on johdettu PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin (CE-IVD) kerätystä ihmisen laskimokokoverestä.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) käyttää magneettisia hiukkasia hyödyntävää tekniikkaa ccfDNA:n automaattiseen eristämiseen ja puhdistukseen ihmisen plasmasta.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) on tarkoitettu in vitro -diagnostiseen käyttöön, ja sitä saavat käyttää ammattilaiset, joilla on molekyylibiologian tekniikoita koskeva koulutus.

## Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä

Tämä sarja on tarkoitettu ammattikäyttöön.

Tuotetta saavat käyttää vain asianmukaisesti opastetut, molekyylibiologian tekniikoihin koulutetut ja tämän nimenomaisen tekniikan tuntevat henkilöt.

# Kuvaus ja toimintaperiaate

## Yhteenveto ja selitykset

Kiertävää solunulkoista DNA:ta (circulating cell-free DNA, ccfDNA) on plasmassa yleensä lyhyinä fragmentteina (<1000 bp). ccfDNA:n pitoisuus plasmassa on yleensä vähäinen (voi vaihdella alueella 1–100 ng/ml) ja voi vaihdella huomattavasti yksilöiden välillä. CE-merkitty PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) -putki yhdessä QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) -sarjan kanssa tarjoavat standardoidun työnkulun veren keräämiseen, säilyttämiseen ja kuljettamiseen, DNA:n stabilointiin suljetussa putkessa ja ccfDNA:n myöhempään eristämiseen ja puhdistamiseen ihmisen plasmasta QIAGEN® QIASymphony SP -laitteen avulla.

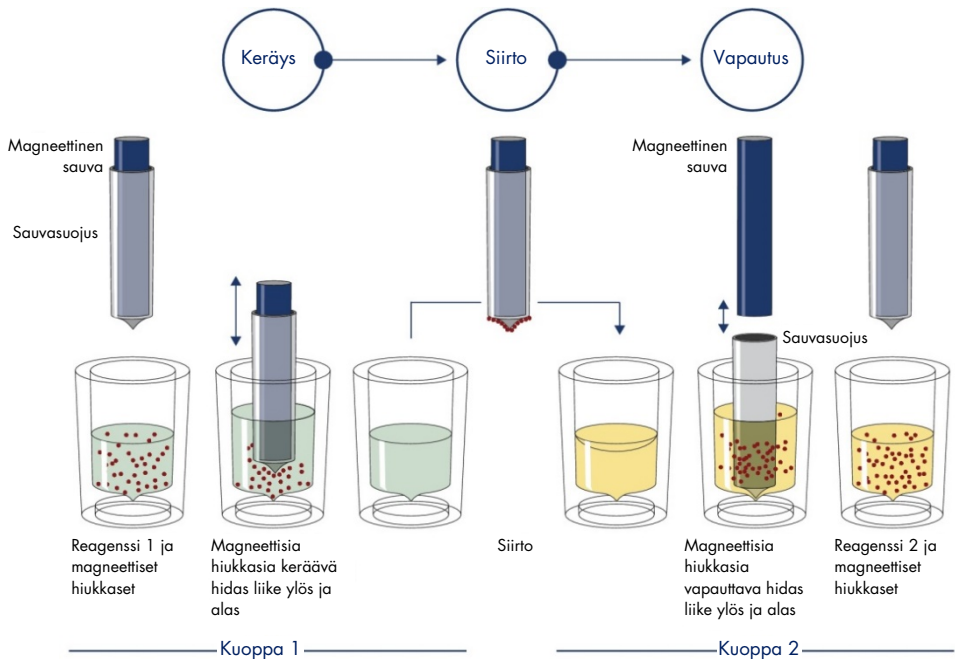
QIASymphony SP -laitteen protokollat tarjotaan ccfDNA:n eristämiseen 2,4 ml:sta ja 4,8 ml:sta plasmaa, joka on johdettu PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) -putkista kaksoisentrifugoinnilla. Plasma siirretään ja käsitellään toissijaisessa putkessa QIASymphony SP -laitteessa.

Vaihtoehtoisesti saatavilla ovat ensisijaisen putken käsittelyprotokollat QIASymphony SP -laitteessa 2,4 ja 4 ml:n syötettävälle plasmamäärälle. Tässä tapauksessa toiselle sentrifugointivaiheelle tai plasman siirtämiselle toissijaiseen putkeen ei ole tarvetta.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan magneettisia hiukkasia hyödyntävä tekniikka mahdollistaa korkealaatuisen ccfDNA:n, joka ei sisällä proteiineja, nukleaseja tai muita epäpuhtauksia, puhdistamisen. QIASymphony SP -laite tekee kaikki puhdistuksen toimenpidevaiheet. Enintään 96 näytettä 24 näytteen erissä käsitellään yhdellä ajolla. Katso ohjeet genomisen DNA:n (genomic DNA, gDNA) eristämiseen PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) -putkiin QIASymphony SP -laitteella kerätyn veren tumallisesta solufraktiosta PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) -putken käyttöohjeesta ([www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com)).

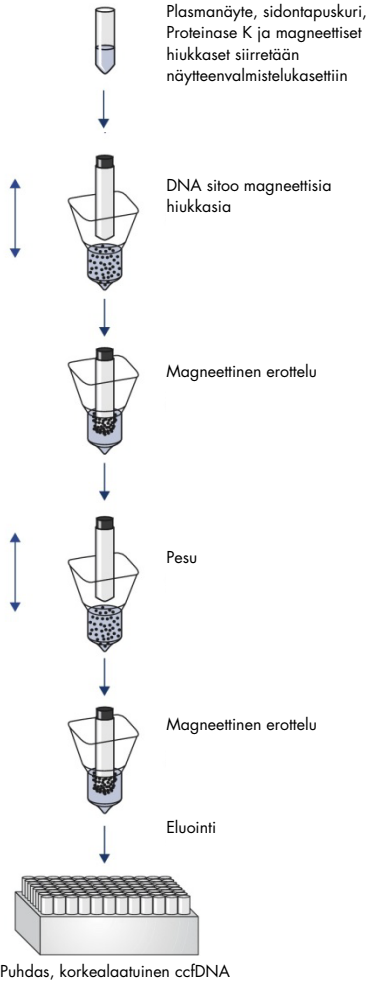
# Testin periaatteet

QIASymphony SP -laitteen tekniikka yhdistää anionin vaihtoon perustuvan nukleiinihappojen puhdistuksen nopeuden ja tehokkuuden kätevään magneettisten hiukkasten käsittelyyn (kuva 1). Puhdistustoimenpide on suunniteltu varmistamaan mahdollisesti tartuntavaarallisten näytteiden turvallinen ja toistettava käsittely. Toimenpide sisältää kolme vaihetta: sidonta, pesu ja eluointi (kuva 2). Käyttäjät voivat valita eri syötettävien näytemäärien väliltä.



Kuva 1. Kaavakuva QIASymphony SP -laitteen periaatteesta. QIASymphony SP -laite käsittelee magneettisia hiukkasia sisältävän näytteen seuraavalla tavalla: sauvan suojuksen suojaama magneettinen sauva siirtyy näytettä sisältävään kuoppaan ja vetää puoleensa magneettisia hiukkasia. Magneettisen sauvan suojus asettuu toisen kuopan yläpuolelle, ja magneettiset hiukkaset vapautuvat. Nämä vaiheet toistuvat useita kertoja näytteen käsittelyn aikana. QIASymphony SP -laite käyttää magneettista päätä, jossa on 24 magneettisen sauvan ryhmä. Siten se kykenee käsittelemään 24 näytettä samanaikaisesti.

## QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



Kuva 2. ccfDNA:n eristämisen vaiheet QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) -sarjalla. ccfDNA:n fragmentit eristetään plasmasta, joka on johdettu PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) -putkiin kerätystä ihmisen laskimokoveresta. Ensimmäisen käsittelyvaiheen aikana Proteinase K hajottaa plasman proteiinit ja ccfDNA sitoutuu magneettisten hiukkasten pintaan. Kolme pesuvaihetta takaavat, että kontaminantit poistetaan. Lopuksi ccfDNA eluoidaan magneettisista hiukkasista, ja se on valmis käytettäväksi myöhemmissä käyttötarkoituksissa.



# Toimitetut materiaalit

## Sarjan sisältö

Lyhenne	Nimi	Määrä	Vaikuttavat ainesosat	Pitoisuus [%]**
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192) Tuotenumero 768566 Reaktioiden määrä 192				
RC	Reagent cartridge*† (Reagenssikasetti)	2	Ei-ioninen puhdistusaine Anionin vaihtoon perustuva magneettinen hiukkanen NaOH Etanoli	≥ 0,5 – < 10 [w/w] Ei sovellu ≥ 0,05 – < 0,1 [w/w] ≥ 70 – < 90 [v/v]
PROTK	Proteinase K† (Proteinaasi K)	5 x 10 ml	Proteinase K	≥ 1 – < 3 % [w/w]
PL	Piercing Lid (Puhkaisukansi)	2	–	Ei sovellu
RSS	Reuse Seal Set‡ (Uudelleenkäytettävä tiivistesarja)	2	–	Ei sovellu
	Elution Microtubes CL, racked# (Eluutiomikroputket CL, telineessä)	2	–	Ei sovellu
	Caps for Elution Microtubes# (Eluutiomikroputkien korkit)	1 x (55 x 8)	–	Ei sovellu
	Käyttöohje (käsikirja)	1	–	Ei sovellu
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (Veren ccfDNA:n puhdistusprotokollan PAXgene-valintatyökalu)	1	–	Ei sovellu

\* Sisältää natriumatsidia säilöntäaineena.

† Sivulla 34 on luettelo symboleista ja niiden selitykset.

‡ Reuse Seal Set (RSS) sisältää kahdeksan (8) uudelleenkäytettävää tiivisteliustia.

# Saatavilla myös erikseen, katso Tilautiedot.

\*\* Enimmäispitoisuus yhdessä kuopassa.

# Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen

Kun työskentelet kemikaalien ja biologisten näytteiden parissa, noudata aina yleisiä varotoimenpiteitä ja käytä soveltuvaa laboratoriotakkia, kertakäyttöisiä käsineitä ja suojalaseja laitoksesi käytäntöjen ja menetelmien mukaisesti. Lisätietoja on asianmukaisissa käyttöturvatiedoissa (Safety Data Sheet, SDS), jotka ovat saatavana tuotteen toimittajalta.

Varmista, että välineet on tarkastettu ja kalibroitu valmistajan ohjeiden mukaan.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, tuotenro 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, tuotenro 997004)
- Filter-Tips, 200 µl ja 1500 µl (QIAGEN, tuotenrot 990332 ja 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, tuotenro 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (PreAnalytiX, tuotenro 768165)
- Näyteputket. Katso yhteensopivat ensisijaiset ja toissijaiset putkityypit laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
- Katso yhteensopivat putkityypit laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Välineet\*

- Pipetti (5 ml)
- QIASymphony SP -laite (QIAGEN, tuotenro 9001297)

\* Varmista ennen käyttöä, että laitteet on tarkistettu ja kalibroitu valmistajan suositusten mukaan.

# Varoitukset ja varotoimet

In vitro -diagnostiikkaan

Lue kaikki ohjeet huolellisesti ennen sarjan käyttöä.

Jos olet Euroopan unionissa sijaitseva asiakas, huomaa, että sinun voi olla tarpeen raportoida laitteeseen liittyvistä vakavista vaaratilanteista valmistajalle ja käyttäjän ja/tai potilaan oleskelumaan toimivaltaiselle viranomaiselle.

## Turvallisuustiedot

Kun työskentelet kemikaalien ja biologisten näytteiden parissa, noudata aina yleisiä varoimenpiteitä ja käytä soveltuvaa laboratoriotakkia, kertakäyttöisiä käsineitä ja suojalaseja laitoksesi käytäntöjen ja menetelmien mukaisesti. Lisätietoa saa tuotekohtaisista käyttöturvatieotteista (Safety Data Sheet, SDS). Ne ovat saatavilla PDF-muotoisina verkossa sivulla [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), jossa voit tarkastella ja tulostaa kaikkien PreAnalytiX-sarjan ja sarjakomponentin käyttöturvatieotteita.

- Kaikki kemikaalit ja biologiset aineet ovat mahdollisesti vaarallisia. Näytteet ovat mahdollisesti tartuntavaarallisia ja niitä on kohdeltava biovaarallisina materiaaleina.
- Hävitä näytteet ja määritysäte paikallisten turvallisuuskäytäntöjen mukaisesti.

## Varotoimet

Reagenssikasetin (RC) puskurit sisältävät natriumatsidia. Jos sarjan puskuireita roiskuu, puhdista roiskeet soveltuvalla laboratoriopuhdistusaineella ja vedellä. Jos roiskuneessa nesteessä on mahdollisia tartunnanaiheuttajia, puhdista roiskeiden alue ensin laboratoriopuhdistusaineella ja vedellä ja sen jälkeen 1-prosenttisella (til.) natriumhypokloriitilla (valkaisuaine).

Seuraavat varoitukset ja varotoimet koskevat QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan osia.

### MBS3

Sisältää: Natriumatsidi. Varoitus! Voi olla haitallista nieltynä. Käytä suojäkäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta.

### Proteinase K



Sisältää: Proteinase K:ta. Vaara! Aiheuttaa vähäistä ihoärsytystä. Voi aiheuttaa hengitettynä allergia- tai astmaoireita tai hengitysvaikeuksia. Vältä pölyn/savun/kaasun/sumun/höyryn/suihkeen hengittämistä. Käytä suojäkäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta. Käytä hengityksensuojainta. Altistumistapauksessa tai epävarmoissa tilanteissa: Ota yhteys myrkytystietokeskukseen tai lääkäriin. Siirrä altistunut henkilö raittiiseen ilmaan ja pidä lepoasennossa, jossa on helppo hengittää.

QSE2



Sisältää: Natriumhydroksidi. Vaara! Aiheuttaa vakavia palo- ja silmävammoja. Hävitä sisältö tai säiliö toimittamalla se hyväksytyyn jätelaitokseen. Jos liuosta joutuu silmiin, toimi seuraavasti: Huuhtelee huolellisesti vedellä useiden minuuttien ajan. Poista mahdolliset piilolinssit, jos ne ovat helposti poistettavissa. Jatka huuhtelua. Jos liuosta joutuu iholle (tai hiuksiin), toimi seuraavasti: Riisu kaikki kontaminoituneet vaatteet välittömästi. Huuhtelee ihoa vedellä/suihkulla. Soita heti myrkytystietokeskukseen tai lääkärille. Säilytä lukitussa tilassa. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta.

QSW9



Sisältää: Etanoli. Vaara! Erittäin tulenarka neste ja höyry. Aiheuttaa vakavaa silmien ärsytystä. Pidettävä poissa lämmönläheistä/kipinöistä/avotulesta/kuumista pinnoista. Ei tupakointia. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojaimia/kasvosuojainta.

# Reagenssien säilytys ja käsittely

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) -sarjaa on säilytettävä pystyasennossa huoneenlämmössä (15–25 °C). Reagenssikasettien (RC) magneettiset hiukkaset pysyvät aktiivisina, kun niitä säilytetään tällä lämpötila-alueella.

Huomautus: QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) -pakkauksen etiketti sisältää sarjan viimeisen käyttöpäivämäärän. Viimeinen käyttöpäivämäärä koskee reagenssikasettia.

Älä käytä QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) -sarjaa, kun se on vanhentunut.

## Tarvikesarjan osat

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) -sarja sisältää valmiskäyttöistä Proteinase K -liuosta, jota voidaan säilyttää huoneenlämmössä (15–25°C).

Reagenssikasetteja (RC) ei saa säilyttää alle 15 °C:n lämpötilassa.

Avatut QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) -sarjan reagenssikasetteja voidaan säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C) enintään 4 viikkoa, mikä mahdollistaa reagenssien kustannustehokkaan uudelleenkäytön ja joustavamman näytteen käsittelyn. Jos reagenssikasetti on osittain käytetty, aseta magneettiset hiukkaset sisältävän kourun kansi takaisin ja tiivistä reagenssikasetti sarjaan kuuluvilla uudelleenkäytettävillä tiivisteliuoksilla välittömästi protokolla-ajon jälkeen välttääksesi haihtumista.

Reagenssin haihtuminen voidaan välttää avaamalla reagenssikasetti enintään 15 tunniksi (mukaan lukien ajoaika) ympäristön enimmäislämpötilassa 32 °C. Sarjan osien virheellinen säilytys voi aiheuttaa puskurien nopeamman vanhenemisen.

Erien ajaminen pienillä näytemäärillä (< 24) suurentaa sekä aikaa, jonka reagenssikasetti on auki, että tarvittavaa puskurin määrää, mikä mahdollisesti pienentää kasettia kohden tehtävien näytepreparaattien kokonaismäärää.

Reagenssikasettien altistumista UV-valolle (esim. dekontaminaatiossa käytettävälle) on vältettävä, koska altistus voi saada reagenssikasetit ja puskurit vanhenemaan nopeammin.

Kaikki kaikkien osien pakkauksiin ja etiketteihin painetut viimeistä käyttöpäivämäärää ja säilytystä koskevat ohjeet on huomioitava. Älä käytä vanhentuneita tai virheellisesti säilytettyjä komponentteja.

# Näytteiden ottaminen ja valmisteleminen

Puhdistustoimenpide on optimoitu PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin (CE-IVD) kerätystä verestä johdetun plasman käyttöä varten. Lisätietoa veren keräämisestä, näiden putkien käsittelystä ja plasman valmistelusta on PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) -putken käyttöohjeissa, jotka ovat luettavissa tuotesivujen Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ja Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

Plasman valmistelussa voi käyttää (A) vakiotyyppistä kaksoisentrifugointiprotokollaa tai (B) ensisijaisten putkien käsittelyä: kertaluontoisten sentrifugoitujen PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkien (CE-IVD) suoraa käsittelyä QIASymphony SP -laitteessa.

## **A) Plasman valmistelu verestä vakioprotokollia varten**

1. Sentrifugoi PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkea (CE-IVD) huoneenlämmössä (15–25 °C) 15 minuuttia nopeudella 1600–3000 x g (ensimmäinen sentrifugointi) ja 10 minuuttia nopeudella 1600–3000 x g (toinen sentrifugointi) tasapainotetussa kääntyväkoteloisessa sentrifugissa. Jos jarrutusta halutaan käyttää, sen täytyy olla validoitu kyseiselle työnkululle ja voimakkuudeltaan mielellään keskitasoinen.

Huomautus: jos näytteitä on säilytetty jääkaapissa ennen sentrifugointia, parhaat tulokset saat, kun annat putkien palautua huoneenlämpöön ennen käsittelyä.

2. Pipetoi plasma 15 ml:n kartiopohjaiseen sentrifugiputkeen (ei sisälly pakkaukseen) sekoittamatta tumallista solufraktiota.
3. Sentrifugoi 15 ml:n kartiomaista sentrifugiputkea huoneenlämmössä (15–25 °C) 15 minuuttia nopeudella 1600–3000 x g (ensimmäinen sentrifugointi) ja 10 minuuttia nopeudella 1600–3000 x g (toinen sentrifugointi) tasapainotetussa sentrifugissa.

Huomautus: toissijaisen putken valmistajan suosittelemaa sentrifugoinnin enimmäisnopeutta ei saa ylittää.



4. Pipetoi tarvittava plasmamäärä (katso kohta Näytemäärä sivulla 20) 14 ml:n pyöreäpohjaiseen 17 x 100 mm:n polystyreeniputkeen sekoittamatta mahdollisesti jäljellä olevaa verisolupellettä.
5. Siirrä plasmanäytteen sisältävä pyöreäpohjainen putki putkitelineeseen ja aseta putkiteline QIASymphony SP -laitteen näytteidensyöttölokeroon.

Huomautus: suurimman mahdollisen ccfDNA-sadon saat käsittelemällä mahdollisimman paljon plasmaa.

Huomautus: Vaahdon muodostuminen plasmanäytteisiin tai niiden pinnalle on estettävä. Jos näytteessä on vaahtoa tai ilmakuplia, saatetaan pipetoida väärä määrä näytettä.

Huomautus: Veren keräämisen ja sentrifugoinnin jälkeen PAXgene Blood ccfDNA Tubes (IVD) -putket stabiiloivat ccfDNA:n (ccfDNA-profiilin) plasmassa 2–8 °C:n lämpötilassa enintään 7 päivää ennen plasman käsittelyä. Pidempää säilytystä varten suositellaan pakastamista alikvooteissa.

Huomautus: aiemmin varastoituja (esim. 2–8°C:ssa tai pakastettuina –20 tai –70/–80 °C:ssa säilytettyjä) plasmanäytteitä käytettäessä näytteiden täytyy antaa tasaantua huoneenlämpöön (15–25 °C) ennen ajon aloittamista.

## **B) Plasman valmistelu verestä ensisijaisten putkien QIASymphony SP -laitteessa käsittelyä varten**

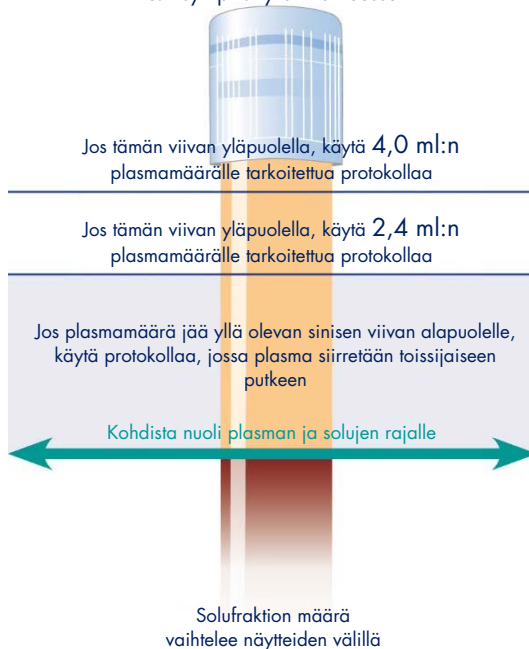
1. Sentrifugoi PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkea (CE-IVD) huoneenlämmössä (15–25 °C) 15 minuuttia nopeudella 3 000 x g tasapainotetussa kääntyväkoteloisessa sentrifugissa. Jos jarrutusta halutaan käyttää, sen täytyy olla validoitu kyseiselle työskululle ja voimakkuudeltaan mielellään keskitasoinen.

Huomautus: jos näytteitä on säilytetty jääkaapissa ennen sentrifugointia, parhaat tulokset saat, kun annat putkien palautua huoneenlämpöön ennen käsittelyä.

2. Kvantifioi kunkin putken plasmamäärä sentrifugikotelosta poistamisen jälkeen sarjaan sisältyvällä PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalulla (kuva 3). Kun putki poistetaan sentrifugista, työkalun turkoosinvärinen nuoli kohdistetaan plasman ja solujen rajalle. Siniset viivat osoittavat, onko plasman taso riittävä ensisijaisten putkien 2,4 tai 4,0 ml:n käsittelyprotokollalle. Plasmapylvään korkeuden on oltava vähintään 2,3 cm 2,4 ml:n protokollaa varten ja vähintään 3,4 cm 4,0 ml:n protokollaa varten.



Optimaalisen protokollan määrittäminen  
PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkien  
(CE-IVD) suoralle käsittelylle  
QIASymphony SP -laitteessa



Kuva 3. Plasmamäärän määrittäminen PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalulla (Tämä kuva on vain kuvitustarkoitukseen. Älä tulosta sitä, sillä se poikkeaa todellisesta koosta – ei saa käyttää näytteiden mittaamiseen.)

Huomautus: jos plasma ja solufraktio eivät ole erottuneet selkeästi tai faasit sekoittuivat vahingossa sentrifugista poiston aikana, sentrifugointi on toistettava.

3. Poista Hemogard Closure Cap -tulpat PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkista (CE-IVD), ennen kuin asetat ne QIASymphony SP -laitteeseen suoraa ccfDNA:n eristystä varten.

Huomautus: Putken sulkimen poistaminen ja avointen putkien käsittely on tehtävä varovasti näytteen roiskumisen, putkien välisen ristikontaminaation ja verelle altistumisen riskin pienentämiseksi.

4. Aseta avatut, riittävästi plasmaa sisältävät PAXgene Blood ccfDNA Tube -putket (CE-IVD) putkitelineeseen ja aseta putkiteline QIASymphony SP -laitteen näytteidensyöttölokeroon.

### **C) PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkesta käsiteltyjen plasmanäytteiden pakastaminen ja sulattaminen**

1. Siirrä plasma pakastamista varten soveltuviin putkiin (esim. kryoputkiin), jotka on asetettu sopivaan telineeseen.
2. Pakasta ja säilytä plasma  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa. Pakasta plasmanäytteet alle  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa säilyttämistä varten ensin  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa vähintään 24 tunnin ajan ja siirrä ne sitten  $-70$  tai  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilaan.

3. Sulata plasma huoneenlämpötilassa ( $15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Huomautus: älä sulata matalissa lämpötiloissa (esim.  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

4. Jos plasmaan muodostuu kryosaostumia, vorteksoi putkea 30 sekuntia sulattamisen jälkeen ja käytä näyte QIASymphony SP -laitteen ccfDNA-eritystoimenpiteeseen ilman lisäkäsittelyä.

Huomautus: plasmaa ei ole suositeltavaa sentrifugoida kryosaostumien poistamista varten, sillä ne voivat sisältää ccfDNA:ta.

Huomautus: kryosaostumien muodostumista voidaan välttää sulattamalla plasmaa  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa 30 minuutin ajan huoneenlämpötilan sijaan.

# Menetelmä

## Yleistä: ccfDNA:n automaattinen puhdistus QIASymphony SP -laitteella

QIASymphony SP -laite tekee automaattisesta näytteen valmistelusta helppoa ja kätevää. Näytteet, reagenssit ja kulutustarvikkeet sekä eluaatit on eroteltu eri lokeroihin. Aseta vain näytteet, erikoiskaseteissa olevat reagenssit ja telineisiin asetetut kulutustarvikkeet asianomaiseen lokeroon ennen ajoa. Käynnistä protokolla ja poista puhdistettu ccfDNA "Eluate" (Eluaatti) -lokerosta käsittelyn jälkeen. Katso käyttöohjeet laitteen mukana toimitetuista käyttöoppaista.

Huomautus: valinnainen ylläpito ei ole välttämätöntä instrumentin toiminnan kannalta, mutta se on erittäin suositeltavaa kontaminaatoriskin vähentämiseksi.

### Näytemäärä

Jotta tavallisessa työnkulussa voidaan varmistaa, että laite siirtää 2,4 ml (PAXcircDNA\_2400-protokolla) tai 4,8 ml näytettä (PAXcircDNA\_4800-protokolla), tarvitaan vastaavasti 0,4 ja 0,5 ml:n tyhjiä tilavuudet eli näytettä on syötettävä vähintään 2,8 tai 5,3 ml käytettävän protokollan mukaan. Jos saatavilla olevan plasman määrä on alle 2,8 tai 5,3 ml, protokollaan integroitu Less Sample mode (Pienen näytemäärän tila) -toiminto sallii lueteltuja pienempien plasmamäärien siirtämisen. Tällöin laite siirtää pienemmän määrän näytettä ja siirretty määrä näkyy tulostiedostosta. Lisäksi tällaiset näytteet merkitään epäselviksi (virhekoodi 140043, Enable Less Sample [Ota pienen näytemäärän tila käyttöön]). Pienimmät mahdolliset syötettävät plasmamäärät Less Sample mode (Pienen näytemäärän tila) -asetuksella ovat 1,6 ml ja 4,1 ml. Jos näytemäärä on pienempi, näytteitä ei käsitellä ja ne merkitään epäkelvoiksi. Ensisijaisten putkien käsittelytyönkulussa oikea näytemäärä varmistetaan sarjaan sisältyvällä PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalulla (josta kerrotaan kohdassa Näytemateriaalin valmistelu sivulla 24).

## Reagenssikasettien lisääminen "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokeroon

ccfDNA:n puhdistuksessa käytettävät reagenssit sisältyvät innovatiiviseen reagenssikasettiin (RC) (kuva 4). Reagenssikasetin jokainen ura sisältää tiettyä reagenssia, kuten magneettisia hiukkasia, sidospuskuria, pesupuskuria tai eluutiopuskuria. Osittain käytetyt reagenssikasetit voi sulkea uudelleen uudelleenkäytettävillä tiivisteliuksilla myöhempää käyttöä varten, jolloin vältetään jätteen syntyminen puhdistustoimenpiteestä jääneistä reagensseista.



Kuva 4. QIASymphony-reagenssikasetti (RC). Reagenssikasetti sisältää kaikki protokolla-ajossa tarvittavat reagenssit.

Varmista ennen toimenpiteen aloittamista, että magneettiset hiukkaset ovat suspendoituneet täysin. Poista magneettisten hiukkasten ura reagenssikasetin kehuksesta, käytä sitä vortex-laitteessa voimakkaasti vähintään 3 minuuttia ja aseta se takaisin reagenssikasetin kehukseen ennen ensimmäistä käyttökertaa.

Huomautus: Magneettiset hiukkaset voivat vaihtaa väriä. Sillä ei ole vaikutusta suorituskykyyn.

Aseta reagenssikasetti reagenssikasetin pidikkeeseen. Ennen kuin käytät reagenssikasettia ensimmäistä kertaa, aseta puhkaisukansi reagenssikasetin päälle (kuva 4).

Huomautus: Puhkaisukansi on terävä. Ole varovainen, kun asetat sen reagenssikasetin päälle. Muista asettaa puhkaisukansi reagenssikasetin päälle oikeassa suunnassa.

Kun magneettisten hiukkasten uran suojus on poistettu, reagenssikasetti ladataan "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokeroon.

Osittain käytettyjä reagenssikasetteja voidaan säilyttää, kunnes niitä tarvitaan jälleen (katso Reagenssien säilytys ja käsittely sivulla 14).

Huomautus: Proteinase K:ta on lisättävä (katso Ennen kuin aloitat sivulla 26).

Huomautus: varmista, että reagenssikasetit, magneettisten hiukkasten urat ja Proteinase K -pullot eivät vaihdu eri sarjaerien välillä.

Muovitarvikkeiden lisääminen "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokeroon

Näytteenvalmistelukasetit, 8-Rod Covers (molemmat valmiiksi asetettu telineeseen yksikkölaatikoihin) ja kertakäyttöiset suodatinkärjet (200 µl:n kärjet sinisissä telineissä, 1 500 µl:n kärjet mustissa telineissä) on asetettu "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokeroon.

Huomautus: varmista, että yksikkölaatikkojen kannet poistetaan ennen niiden asettamista Reagents and Consumables (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokeroon.

Huomautus: kärjissä on ristikontaminaatiota estävät suodatimet.

QIASymphony SP -laitteen työpöydällä olevat kärkitelinepaikat voidaan täyttää kumman tahansa tyyppisellä kärkitelineellä. QIASymphony SP -laite tunnistaa inventaarioskannauksen aikana ladattujen kärkien tyyppin.

Huomautus: Älä täytä näytteenvalmistelukasettien tai 8-Rod Covers -suojusten kärkitelineitä tai yksikkölaatikkoja uudelleen ennen toisen protokolla-ajon aloittamista. QIASymphony SP -laite voi käyttää osittain käytettyjä kärkitelineitä ja yksikköpakkauksia.

Muovitarvikkeiden tilaustiedot ovat sivulla 37.

## Waste (Jäte) -lokeron täyttäminen

Ajon aikana käytetyt näytteenvalmistelukasetit ja 8-Rod Covers asetetaan uudelleen telineeseen tyhjiässä yksikkölaatikoissa "Waste" (Jäte) -lokerossa. Varmista, että Waste (Jäte) -lokero sisältää riittävästi tyhjiä yksikkölaatikoita protokolla-ajon aikana syntyvälle muovijätteelle.

Huomautus: Varmista, että yksikkölaatikkojen suojat poistetaan ennen niiden asettamista Waste (Jäte) -lokeroon. Jos keräät käytetyt näytteenvalmistelukasetit ja 8-Rod Covers -suojukset 8-Rod Covers -suojusten laatikkoihin, varmista, että laatikon välystin on poistettu.

Käytettyjen suodatinkärkien pussi on kiinnitettävä "Waste" (Jäte) -lokeron etupuolelle.

Huomautus: Järjestelmä ei tarkista kärkien hävityspussin läsnäoloa. Varmista, että kärkien hävityspussi on asianmukaisesti kiinnitetty, ennen kuin käynnistät protokolla-ajon. Lisätietoa on laitteen mukana tulleissa käyttöoppaissa. Tyhjennä kärkipussi enintään 96 näytteen käsittelyn jälkeen, jotta kärjet eivät jää sinne jumiin.

Jätesäiliö kerää puhdistustoimenpiteen aikana syntyneen nestemäisen jätteen. Waste (Jäte) -lokero voidaan sulkea vain, jos jätesäiliö on paikoillaan. Hävitä nestemäinen jäte paikallisten turvallisuus- ja ympäristömääräysten mukaisesti. Älä puhdista täynnä olevaa jätepulloa autoklaavissa. Tyhjennä jätepullo enintään 96 näytteen käsittelyn jälkeen.

## Eluate (Eluaatti) -lokeron täyttäminen

Lataa tarvittava eluutioteline Eluate (Eluaatti) -lokeroon. Koska eluaattien pitkäkestoinen säilytys "Eluate" (Eluaatti) -lokerossa voi johtaa haihtumiseen tai kondensatioon, on käytettävä jäähdytyspaikkaa. Käytä vain aukkoa Elution slot 1 (Eluutioaukko 1) ja vastaavaa jäähdytyssovitinta.

Valittu eluutiotilavuus (µl)*	Alkuperäinen eluutiotilavuus (µl)†
60	75

\* Tämä on käytävissä olevan eluaatin vähimmäistilavuus lopullisessa eluaattiputkessa QIAGEN EMT -telineessä (tuotenro 19588) ja 1,5 ml:n Sarstedt-kierrekorkkiputkissa (tuotenro 72.607). Yksittäisissä tapauksissa lopullinen eluutiotilavuus yksittäisillä näytteillä voi olla korkeintaan 5 µl vähemmän.

† Vaadittava alkuperäinen eluutiopuskurin tilavuus, jotta voidaan varmistaa, että todellinen eluutiotilavuus on sama kuin yllä valittu tilavuus.

## Inventaarioskannaus

Ennen ajon aloittamista laite tarkistaa, että jonossa olevia eriä varten on asetettu riittävä määrä kulutustarvikkeita tarvittaviin lokeroihin.

## Näytemateriaalin valmistelu

Katso Näytteiden ottaminen ja valmisteleminen, sivu 16.

## ccfDNA:n säilytys

Näytteen valmistelun jälkeen ccfDNA-eluaatteja voidaan säilyttää  $-20$  tai  $-80$  °C:n lämpötilassa. Pakastettuja eluaatteja ei saa sulattaa enempää kuin kolme kertaa. Ajantasaisimmat tiedot ccfDNA:n stabiiludesta eluaateissa saat tuotesivulta osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tai [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).



# Protokollan yhteenveto

Taulukko 1. Protokollan yhteenveto

Näyte	PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) -putken käsittely	Syötettävä näytemäärä (tyhjä tilavuus mukaan lukien) (ml)	ccfDNA:n eristykseen käytettävä näytemäärä (ml)	Eluutiotilavuus (µl)	QIAsymphony SP -laitteen protokolla
PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin (CE-IVD) kerätystä ihmisen laskimokokoverestä johdettu plasma	2 x sentrifugointi, plasman siirto toissijaiseen putkeen	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	1 x sentrifugointi, suora käsittely QIAsymphony SP -laitteessa	Valintatyökalun mukaan	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

## Tärkeitä huomioita ennen kuin aloitat

- Kemikaalien ja biologisten näytteiden kanssa työskennellessä on aina käytettävä laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja saat asianmukaisista käyttöturvatiiedoista.
- Varmista, että tunnet QIAsymphony SP -laitteen käyttötavan. Katso käyttöohjeet laitteen mukana toimitetuista käyttöoppaista.
- Lue ennen toimenpiteen aloittamista kohta Testin periaatteet.
- Varmista, että tunnet protokollalomakkeen ja laboratoriotarvikeluettelon (saatavilla tuotesivun Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).
- Vältä reagenssikasetin voimakasta ravistelua, sillä se voi johtaa vahtoutumiseen, joka saattaa vaikeuttaa nestetason havaitsemista.

- Veri on kerättävä PAXgene Blood ccfDNA Tubes -putkiin (CE-IVD; PreAnalytiX, tuotenro 768165). Veren keräämistä ja käsittelyä sekä plasman käsittelyä koskevat ohjeet ovat käyttöohjeissa, jotka ovat saatavilla tuotesivun Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tai Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

## Ennen kuin aloitat

- Varmista ennen toimenpiteen aloittamista, että magneettiset hiukkaset ovat suspendoituneet täysin. Käytä magneettisia hiukkasia sisältävää uraa voimakkaasti vortex-laitteessa vähintään 3 minuutin ajan ennen ensimmäistä käyttökertaa.
- Varmista, että reagenssikasetin päälle on asetettu puhkaisukansi ja että magneettisten hiukkasten uran kansi on poistettu, tai, jos reagenssikasetti on osittain käytetty, varmista, että uudelleenkäytettävät tiivisteliuskat on poistettu.
- Proteinase K ei sisälly reagenssikasettiin, vaan käyttäjän on lisättävä se (näytelokero, aukko A, paikat 1 ja/tai 2). Varmista, että käytettävissä on oikea Proteinase K-määrä.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja (CE-IVD) sisältää käyttövalmiin Proteinase K -liuoksen. Proteinase K -liuosta voi säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C). Pidempää säilytystä varten Proteinase K -liuosta sisältävät entsyymipullot suositellaan pitämään 2–8 °C:n lämpötilassa.

Näytteen numero	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1 980 µl	2 860 µl
24	3 740 µl	6 380 µl
48	6 380 µl	11 660 µl†
96	11 660 µl†	23 320 µl†

\* Jokaista näytettä kohden tarvitaan 110 µl (2 400 µl plasmatai) tai 220 µl (4 800/4 000 µl plasmatai) ja lisäksi 1 100 µl:n tyhjä tilavuus [(n x 110 tai 220 µl) + 1 100 µl].

† Jos tarvitaan yli 11 660 µl näytettä, käytä toissijaista putkea (Corning, tuotenro 352051). Myös toiseen putkeen tarvitaan 1 100 µl:n tyhjä tilavuus.

Huomautus: Proteinase K:ta sisältävät putket asetetaan putkitelineeseen. Proteinase K:ta sisältävä putkiteline on asetettava Sample (Näyte) -lokeron aukon A paikkoihin 1 ja 2. Suosittelemme käyttämään Proteinase K -liuokselle 14 ml:n pyöreäpohjaisia 17 x 100 mm:n polystyreeniputkia (Corning, tuotenro 352051).

- Jos näytteet on viivakoodattu, suuntaa näytteet putkitelineessä siten, että viivakoodit ovat kohti QIASymphony SP -laitteen vasemmalla puolella olevaa viivakoodinlukijaa.
- Tietoa näyteputkista ja protokollien kanssa yhteensopivista miniminäytemääristä on vastaavassa laboratoriotarvikeluettelossa, joka on saatavilla tuotesivun Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Protokolla: ccfDNA:n automaattinen puhdistus QIASymphony SP -laitteella

Tarkempia tietoja kustakin protokollasta, mukaan lukien määrät ja putket, on protokollalomakkeella ja laboratoriotarvikeluettelossa, jotka ovat saatavilla tuotesivun Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Lisätietoa näytemateriaalin (PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) -putkeen kerätystä ihmisen laskimokokoverestä johdettu plasma) valmistelusta on tämän käsikirjan kohdissa Näytteiden ottaminen ja valmisteleminen ja Näytemateriaalin valmistelu sekä putken käyttöohjeissa, jotka ovat saatavilla tuotesivun Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tai Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

1. Sulje kaikki lokerot ja kuomu.
2. Käynnistä QIASymphony SP -laite ja odota, kunnes Sample Preparation (Näytteen valmistelu) -näyttö tulee näkyviin ja alustusprosessi on päättynyt.
3. Virtakytkin sijaitsee QIASymphony SP -laitteen vasemmassa alareunassa.
4. Kirjautu sisään instrumenttiin.

Lataa tarvittava eluutioline "Eluate" (Eluaatti) -lokeroon.

Älä lataa 96-kuoppalevyä aukkoon Elution slot 4 (Eluutioaukko 4). Käytä vain aukkoa Elution slot 1 (Eluutioaukko 1) ja vastaavaa jäähdytyssovitinta.

Kun käytät 96-kuoppaista levyä, varmista, että levyn suunta on oikea, koska virheellinen suunta voi aiheuttaa näytteiden sekaantumista myöhemmässä analyysissä.

Kun käytät Elution Microtubes CL -telinettä, poista pohja vääntämällä telinettä, kunnes pohja irtaa.

5. Varmista, että Waste (Jäte) -lokero on valmisteltu asianmukaisesti, ja tutki sen sisältö, mukaan lukien karkikouru ja nestemäisen jätteen säiliö. Vaihda karkkien jätepussi tarvittaessa.
6. Lataa vaadittavat reagenssikasetit ja kulutustarvikkeet "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja kulutustarvikkeet) -lokeroon.

7. Tee inventaarioloskannaus "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja kulutustarvikkeet) -lokerosta.
8. Aseta näytteet asianomaiseen näytetelineeseen ja aseta ne "Sample" (Näyte) -lokeroon.  
Huomautus: Tavanomaisen käsittelyn lisäksi, mukaan lukien plasman siirto soveltuvaan näyteputkitelineeseen (14 ml Falcon® polystyrene round-bottom tube 17 x 100 mm), PAXgene Blood ccfDNA Tube -putken ensisijainen putken käsittelyn työnkulku mahdollistaa ccfDNA:n eristämisen suoraan PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkesta (10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), 16 x 100 mm). Lisätietoa ensisijaisesta putken käsittelystä on protokollalomakkeessa, laboratoriotarvikeluettelossa ja putken käyttöohjeissa, jotka ovat saatavilla tuotesivun Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tai Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).
9. Käytä kosketusnäyttöä ja kirjoita tarvittavat tiedot jokaisesta käsiteltävästä näyte-erästä ja Proteinase K:sta.  
Anna seuraavat tiedot:
  - Näytetiedot (käytettävän näytetelineen mukaan valitse BD #352051 FalconPP 17 x 100 tai BD\_#768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100)
  - Ajettava protokolla (Assay Control Set [Määrittäksen kontrollijoukko])
  - Eluutiotilavuus ja ulostulosijaintiKun erän tiedot on syötetty, tila LOADED (LADATTU) muuttuu tilaksi QUEUED (JONOSSA). Heti kun jokin erä on jonossa, Run (Aja) -painike tulee näkyviin.
10. Aseta Proteinase K asianmukaisen näyteputkitelineen paikkoihin 1 ja 2 ja lataa ne "Sample" (Näyte) -lokeron aukkoon A.
11. Määritä Proteinase K painamalla IC-painiketta.
12. Aloita puhdistusprosessi painamalla Run (Aja) -painiketta.  
Kaikki käsittelyvaiheet ovat täysin automaattisia. Protokolla-ajon lopuksi erän tila RUNNING (AJO KESKEN) muuttuu tilaksi COMPLETED (VALMIS).
13. Ota puhdistetun ccfDNA:n sisältävä eluutioteline "Eluate" (Eluaatti) -lokerosta. Vahvista eluatiotelineen poisto QIASymphony SP -laitteen ohjelmistolla.

14. ccfDNA on valmis käytettäväksi tai varastoitavaksi  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n tai  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa enintään 6 kuukauden ajan.

QIAGEN suosittelee eluaattilevyn poistamista "Eluate" (Eluaatti) -lokerosta heti ajon päättymisen jälkeen. Jos eluutiorevyt jätetään QIASymphony SP -laitteeseen ajon päätyttyä, niihin saattaa tiivistyä kosteutta tai niistä saattaa haihtua kosteutta.

Huomautus: QIASymphony SP -laitteen jäähdytystoiminnon käyttäminen yön yli tehtävissä ajoissa on mahdollista.

Magneettiset hiukkaset eivät yleensä kulkeudu eluaatteihin. Jos siirtymistä tapahtuu, eluaateissa olevat magneettiset hiukkaset eivät vaikuta useimpiin myöhempiin sovelluksiin.

Jos magneettisia hiukkasia on poistettava ennen myöhempiä sovelluksia, eluaatit sisältävät putket tai levyt on ensin asetettava sopivaan magneettiin ja eluaatit siirrettävä puhtaaseen putkeen (katso Liite: ccfDNA:n kvantifiointi).

Jokaiselle eluutiorevylle generoituu tulostiedostot.

15. Jos reagenssikasetti on käytetty vain osittain, tiivistä se uudelleenkäytettävillä tiivisteliuskoilla protokollan päätyttyä, jotta kasetista ei haihtuisi nestettä.

Huomautus: Lisätietoa osittain käytetyistä reagenssikaseteista on kohdassa Reagenssien säilytys ja käsittely.

16. Hävitä käytetyt näyteputket ja jäte paikallisten turvallisuussäädösten mukaan.

Katso turvallisuustiedot kohdasta Varoitukset ja varotoimet.

17. Puhdista QIASymphony SP -laite.

Noudata instrumentin mukana toimitettujen käyttöoppaiden huolto-ohjeita. Muista puhdistaa kärkien suojukset säännöllisesti ristikontaminaation välttämiseksi.

18. Sulje laitteen lokerot ja katkaise QIASymphony SP -laitteesta virta.

# Laadunvalvonta

QIAGENin ISO-sertifioidun laadunhallintajärjestelmän mukaisesti jokainen QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan (CE-IVD) erä testataan määritettyjen spesifikaatioiden mukaisesti tuotteiden yhdenmukaisen laadun takaamiseksi.

## Rajoitukset

Järjestelmän suorituskyky on määritetty suorituskykyä arvioivissa tutkimuksissa, joissa puhdistettiin PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin (CE-IVD) kerätystä ihmisen laskimokokoverestä johdetun plasman ccfDNA:ta.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) -sarjan suorituskykyominaisuudet on määritetty 18S-ribosomaalisilla ja DYS14 Y-kromosomaalisilla ccfDNA:n fragmenteilla plasmassa.

Käyttäjän vastuulla on varmistaa järjestelmän suorituskyky kaikissa niissä laboratoriossa käytetyissä menetelmissä, joita QIAGENin ja PreAnalytiXin tekemät suorituskyvyn arviointitutkimukset eivät kata.

Jotta voidaan minimoida diagnostiin tuloksiin kohdistuvan negatiivisen vaikutuksen riski, myöhemmissä käyttötarkoituksissa on hyödynnettävä riittävää laaduntarkkailua. Saatujen diagnostisten tulosten tulkinnassa on otettava huomioon myös muut kliiniset löydökset tai laboratoriolöydökset.

# Vianmääritysopas

Tämä vianmääritysohje voi auttaa mahdollisissa esiin tulevissa ongelmissa. Yhteystiedot ja luettelo usein kysytyistä kysymyksistä ovat tuotesivuilla osoitteessa [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com) tai [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Huomautuksia ja ehdotuksia

### Yleinen käsittely

- a) Näytössä näkyvä virheilmoitus Jos näytössä näkyy virheilmoitus protokollan aikana, katso lisätietoja laitteen mukana toimitetuista käyttöoppaista.
- b) Vaihteleva eluaattimäärä yön yli tehtävien ajojen jälkeen Tuotantotehon optimoimiseksi QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) -sarja tukee näytteiden käsittelyä yön yli jäähdyttämällä eluaatit QIASymphony SP -laitteessa. Pitkien jäähdytysjaksojen aikana eluaattimäärät voivat vaihdella laboratorion lämpötilan ja ilmankosteuden mukaan. Esimerkiksi jos valittu määrä oli 60 µl 15–25 °C:n lämpötilassa ja 30–60 %:n ilmankosteudessa, määrä voi olla 50–85 µl, kun sitä on säilytetty laitteessa 12 tuntia.

### Kryosaostumia plasmanäytteiden sulattamisen jälkeen

- a) Kryosaostumia muodostuu plasmaan Kryosaostumien muodostumisen välttämiseksi plasmaa voidaan sulattaa 30 °C:ssa 30 minuutin ajan huoneenlämpötilan sijaan. Älä sulata matalammassa lämpötiloissa (esim. 4 °C). Vorteksoi putkea 30 sekuntia sulattamisen jälkeen
- b) Pieni ccfDNA:n tuotto plasmasta kryosaostumien poistamisen jälkeen Älä sentrifugoi plasmaa kryosaostumien poistamiseksi, sillä ne voivat sisältää ccfDNA:ta.

### PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) -putkien riittämätön plasmamäärä

- a) Alle 10 ml verta otettu PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkeen (CE-IVD) Varmista, että PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) -putkeen kerätään 10 ml verta. Katso PAXgene Blood ccfDNA Tube -putken käyttöohjeet.
- b) Suuri solufraktio Suuri solufraktiotaso (hematokriitti) ihmisen kokoveressä (esim. yli 51 % miehellä tai 47 % naisella) voi johtaa pienentyneisiin plasmamääriin.
- c) Pieni plasman tuotto sentrifugoinnin jälkeen Määritettyä pidemmällä veren säilytys- ja kuljetusajalla ja määritetystä eroavilla sentrifugointiolosuhteilla voi olla vaikutusta plasman tuottoon.



## Huomautuksia ja ehdotuksia

### Saostumat QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) -sarjan avatun reagenssikasetin (RC) urassa

- a) Puskurin haihtuminen Liiallinen haihtuminen saattaa lisätä suolapitoisuutta puskureissa. Hävitä reagenssikasetti. Sulje osittain käytetyn reagenssikasetin puskuriurat uudelleenkäytettävillä tiivisteliuksilla, kun sitä ei käytetä puhdistukseen.
- b) Reagenssikasetin säilytys Reagenssikasetin säilyttäminen alle 15 °C:n lämpötilassa saattaa johtaa saostuman muodostumiseen.
- Pieni cffDNA:n tuotto
- a) Magneettiset hiukkaset eivät suspendoituneet uudelleen kokonaan Varmista ennen toimenpiteen aloittamista, että magneettiset hiukkaset ovat suspendoituneet täysin. Vorteksoi vähintään 3 minuuttia ennen käyttöä. Epätäydellinen uudelleensuspendointi voi johtaa pipetointivirheisiin.
- b) Liukenematon materiaali on tukkinut pipettikärjen Liukenematonta materiaalia ei poistettu näyteestä ennen QIASymphony SP -laitteen puhdistusprosessin aloittamista.
- c) Näytemateriaali sisältää pienen pitoisuuden ccfDNA:ta Koska plasmanäytteissä on hyvin pieniä määriä ccfDNA:ta, ccfDNA-pitoisuuden mittaaminen voi olla haastavaa käytetyssä kvantifiointimenetelmästä riippuen.  
Herkän qPCR:n käyttöä suositellaan eluaattien ccfDNA-pitoisuuksien tarkistamiseen.
- d) Reagenssikasetin epätäydellinen uudelleensuskeminen Vaihto ympäröivän ilman kanssa voi aiheuttaa puskureiden heikentynyttä stabiiliutta, mikä voi johtaa heikompaan ccfDNA:n eristämistehoon osittain käytetyllä reagenssikasetilla. Sulje osittain käytetyn reagenssikasetin puskuriurat huolellisesti uudelleenkäytettävillä tiivisteliuksilla, kun sitä ei käytetä puhdistukseen.
- Heikko ccfDNA:n suorituskyky myöhemmissä käyttötarkoituksissa
- a) Eluaatti väkevöity tyhjiösentrifugoinnilla Älä väkevöi eluaattia tyhjiösentrifugoinnilla (esim. SpeedVac®-laitteella tai vastaavalla). Tämä voi johtaa heikentymiseen korkeiden lämpötilojen ja myöhempiä käyttötarkoituksia mahdollisesti häiritsevien eluaatin väkevöityneiden suolojen vuoksi.
- b) Helmien siirtyminen Magneettiset hiukkaset eivät yleensä kulkeudu eluaatteihin. Jos siirtymistä tapahtuu, eluaateissa olevat magneettiset hiukkaset eivät vaikuta useimpiin myöhempiin sovelluksiin. Jos tietyissä myöhemmissä määrityksissä tarvitaan hyvin suuria määriä eluaatteja, eluaatit voidaan pyöräyttää ja siirtää puhtaaseen putkeen.
- Ei näyteen siirtoa tai epätäydellinen näyteen siirto
- a) Väärä näytemäärä on ladattu vakioprotokollia varten Jos ladataan määritettyä pienempi näytemäärä, näyteen epäselvän merkinnän tai näyteen siirtymättömyyden (virheellinen merkintä) riski kasvaa.  
Lataa vastaavassa protokollalomakkeessa ja laboratoriotarvikeluettelossa ilmoitettu oikea näytemäärä.
- b) Kuplia ja/tai vahtoa näyteputkessa Kuplat tai vahto näytteessä ja/tai syötetyssä putkessa voi johtaa virheelliseen nestetason havaitsemiseen ja epätäydelliseen näyteen siirtoon. Poista kuplat näyteputkesta.

# Symbolit

Käyttöohjeessa tai pakkauksessa ja etiketeissä saattaa näkyä seuraavia symboleita:



<N>

Sisältää riittävästi reagensseja <N> testiin ilmaisee IVD:llä tehtävien IVD-testien kokonaismäärän.



Viimeinen käyttöpäivämäärä



Diagnostinen in vitro -lääketieteellinen laite



CE-merkki. Tämä tuote täyttää in vitro -diagnostisia lääkinnällisiä laitteita koskevan eurooppalaisen säännöksen 2017/746 vaatimukset.



Tuotenumero



Eränumero



Materiaalinumero (ts. komponentin merkintä)



Komponentit (ts. luettelo sisällöstä)



Sisältö

**NUM**

Määrä (esim. pullojen määrä)

**GTIN**

GTIN-numero

Rn

R tarkoittaa käyttöohjeen (käsikirja) versiota, ja n on versionumero



Lämpötilarajoitus



Valmistaja



Katso käyttöohjeet



Huomio

**PROTK**

Proteinase K

**WELL**

Kuoppnumero (reagenssikasetin kuoppa)

**REAG** | **CART**

Reagenssikasetti

Sodium azide

Natriumatsidi

## Liite: ccfDNA:n kvantifiointi

Koska näytemateriaalit sisältävät hyvin pienen ccfDNA-pitoisuuden, DNA:n mittausta spektrofotometrillä ei suositella. ccfDNA-pitoisuuden määrittämiseen tulee käyttää herkkää ja tarkkaa fluoresenssipohjaista kvantitointimäärittystä tai real-time PCR -määrittystä.

Jos magneettisia hiukkasia on poistettava, aseta DNA:ta sisältävä putki sopivaan magneettiseen erottimeen (esim. QIAGEN 12-Tube Magnet, tuotenumero 36912), kunnes magneettiset hiukkaset on eroteltu.

Jos DNA on mikrolevyillä, aseta mikrolevy sopivaan magneettiseen erottimeen (esim. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, tuotenumero 36915), kunnes magneettiset hiukkaset on eroteltu. Jos sopivaa magneettista erotinta ei ole käytettävissä, käytä DNA:ta sisältävää putkea mikrosentrifugissa 1 minuutin ajan täydellä nopeudella, jotta magneettisista hiukkasista muodostuisi pelletti.

# Tilaustiedot

Tuote	Sisältö	Tuotenro
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Sisältää 2 reagenssikasettia, Proteinase K -putket ja lisävarusteet	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 putkea: 16 x 100 mm, 1,5 ml lisäainetta, 10 ml:n verinäytteen ottomäärä	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	QIASymphony-näytteenpreparointimoduuli, sisältää 1 vuoden takuun osien rikkoutumisen ja valmistusvirheiden varalle	9001297
Liittyvät QIAGEN-tuotteet		
Proteinase K (10 ml)	1 x 10 ml:n pulloa	19133
Reagent Cartridge Holder (2)	Reagenssikasetin pidike käytettäväksi QIASymphony SP -laitteen kanssa	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Jäähdytysadapteri 2 ml:n kierrekorkkiputkille. Käytettäväksi QIASymphony SP -laitteen "Eluate" (Eluaatti) -lokerossa	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Jäähdytysadapteri EMT-telineille. Käytettäväksi QIASymphony SP -laitteen "Eluate" (Eluaatti) -lokerossa	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Jäähdytysadapteri 1,5 ml:n Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock tubes -putkille. Käytettäväksi QIASymphony SP -laitteen "Eluate" (Eluaatti) -lokerossa	9020731

Tuote	Sisältö	Tuotenro
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8-kuoppaiset näytteenpreparointikasetit QIASymphony SP -laitteen kanssa käytettäväksi	997002
8-Rod Covers (144)	8-sauvasuojukset QIASymphony SP -laitteen kanssa käytettäväksi	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, telineessä; (8 × 128). Käytettäväksi QIACube®- ja QIASymphony SP/AS -laitteen kanssa	990332
Filter-Tips, 1500 µl, Qsym SP (1024)	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, telineessä; (8 × 128). Käytettäväksi QIASymphony SP/AS -laitteen kanssa	997024
Tip Disposal Bags (15)	Kärkien hävityspussit QIASymphony SP -laitteen kanssa käytettäväksi	9013395
12-Tube Magnet	Magneetti magneettisten hiukkasten erottelamiseen 12 x 1,5 ml:n tai 2 ml:n putkissa	36912
96-Well Magnet Type A	Magneetti magneettisten hiukkasten erottelamiseen 96-kuoppalevyjen kuopista, 2 x 96-kuoppamikrolevyt FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Käytä tiivistesarjoja uudelleen osittain käytettyjen QIASymphony-reagenssikasettien sulkemiseen	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Epästeriilit polypropyleeniputket (enimmäiskapasiteetti 0,85 ml, säilytyskapasiteetti vähemmän kuin 0,7 ml, eluutiokapasiteetti 0,4 ml); 2 304 kpl 96 kpl:n telineissä; sisältää korkkiliuskat	19588

Tuote	Sisältö	Tuotenumero
Caps for Elution Microtubes (50 x 8)	Eluutiomikroputkien korkit (50 x 8)	19591
14 ml Falcon Tube	Pyöreäpohjainen polystyreeniputki 17 x 100 mm, käytetään QIASymphony SP -laitteen näyteputkena	Corning, 352051

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN-sarjojen käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat löytyvät osoitteesta [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com) ja [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

## Asiakirjan muutoshistoria

Versio	Kuvaus
R1, toukokuu 2021	Ensimmäinen versio

Tilaukset [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tekninen tuki [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Verkkosivusto [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tai [PreAnalytiX.com](http://PreAnalytiX.com)