

2021. gada maijs

QIAsymphony[®] PAXgene[®] Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) komplekta lietošanas instrukcijas (rokasgrāmata)



192

1. versija



Lietošanai in vitro diagnostikā



768566



PreAnalytiX GmbH, Feldbachstrasse, CH - 8634
Hombrechtikon, Šveice



1123518LV



A QIAGEN / BD Company

Preču zīmes: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH); QIAGEN®, QIAcube®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Corning®, Falcon® (Corning, Inc.); Eppendorf® (Eppendorf AG); SpeedVac® (Thermo Fisher Scientific vai tā filiāles). Tiek uzskatīts, ka šajā dokumentā minētie reģistrētie nosaukumi, preču zīmes u.c. ir aizsargāti ar likumu arī tad, ja tas nav īpaši norādīts.

Ierobežots licences līgums QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplektam

Šī produkta izmantošana liecina par katra produkta pircēja vai lietotāja piekrišanu tālāk minētajiem nosacījumiem:

1. Šo produktu drīkst lietot tikai saskaņā ar protokolliem, kas piegādāti ar šo produktu, kā arī saskaņā ar šo rokasgrāmatu un tikai kopā ar kopā ar sastāvdaļām, kas ietilpst šajā panelī. PreAnalytiX® nepiešķir nekāda veida licenci uz nevienu no tā intelektuālajiem īpašumiem, lai šajā panelī ietvertās sastāvdaļas izmantotu kopā ar jebkādam sastāvdaļām, kas neietilpst šajā panelī, vai ar tām apvienotu, izņemot gadījumus, kas aprakstīti kopā ar produktu piegādātajos protokolos un šajā rokasgrāmatā, kā arī papildu protokolos, kas pieejami tīmekļa vietnē www.qiagen.com un www.PreAnalytiX.com.
2. PreAnalytiX nesniedz citas garantijas, izņemot skaidri norādītās licences, ka šis panelis un/vai tā lietošana neaizskar trešo personu tiesības.
3. Šis komplekts un tā sastāvdaļas ir licencētas vienreizējai lietošanai, un tās nedrīkst izmantot atkārtoti, atjaunot vai pārdot tālāk.
4. Uzņēmums PreAnalytiX īpaši atsakās no jebkādam citām tiesām vai netiešām licencēm, kas nav skaidri norādītas.
5. Komplekta pircējs no lietotājs piekrīt neveikt un neatļaut citiem veikt nekādas darbības, kas varētu izraisīt vai veicināt jebkuras no iepriekš aizliegtajām darbībām. PreAnalytiX var pieprasīt šī ierobežotā licences līguma aizliegumu īstenošanu jebkurā tiesā un apņemas atgūt visus savus izmeklēšanas un tiesas izdevumus, ieskaitot advokātu honorārus, kas radušies, īstenojot šī ierobežotā licences līguma nosacījumus vai jebkuru no uzņēmuma intelektuālā īpašuma tiesībām saistībā ar paneli un/vai tā komponentiem.

Jaunākos licences nosacījumus skatiet vietnē www.qiagen.com un www.PreAnalytiX.com.

HB-2666-001 1123518 © 2021 PreAnalytiX GmbH, visas tiesības paturētas.

Saturs

Paredzētais lietojums	5
Paredzētais lietotājs	5
Apraksts un princips	6
Kopsavilkums un skaidrojums	6
Procedūras principi.....	7
Nodrošinātie materiāli.....	9
Komplekta saturs	9
Nepieciešamie materiāli, kas netiek nodrošināti.....	10
Aprīkojums	10
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi.....	11
Drošības informācija	11
Piesardzības pasākumi	12
Reaģentu glabāšana un lietošana	14
Komplekta komponenti.....	14
Paraugu savākšana un apstrāde.....	16
Procedūra.....	20
Pārskats: Automātiska ccfDNA attīrīšana QIASymphony SP instrumentā.....	20
Protokola pārskats	25
Protokols: Automātiska ccfDNA izdalīšana uz QIASymphony SP instrumenta.....	28
Kvalitātes kontrole	31
Ierobežojumi	31
Norādījumi par problēmu novēršanu	33
Simboli.....	35

Pielikums. ccfDNA kvantificēšana	37
Informācija par pasūtīšanu	38
Dokumenta pārskatīšanas vēsture	40

Paredzētais lietojums

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), kas izmantojams kopā ar QIASymphony SP instrumentu, ir paredzēts cirkulējošas šūnas nesaturošas DNS (ccfDNA) automatizētai izolēšanai un izdalīšanai no plazmas, kas iegūta no stobriņā PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) savāktajām cilvēka venozajām pilnasinīm.

Komplekts QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) izmanto magnētisko daļiņu tehnoloģiju, lai automatizēti izdalītu un attīrītu ccfDNA no cilvēka plazmas.

Komplekts QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) ir paredzēts lietošanai in vitro diagnostikā tikai profesionāliem lietotājiem, piemēram, tehniķiem un ārstiem, kuri ir apmācīti lietot molekulāri bioloģiskās metodes.

Paredzētais lietotājs

Šis komplekts ir paredzēts profesionālai lietošanai.

Produktu drīkst lietot tikai molekulārās bioloģijas metodikā īpaši instruēts un apmācīts personāls, kas pazīst šo tehnoloģiju.

Apraksts un princips

Kopsavilkums un skaidrojums

Parasti cirkulējošas šūnas nesaturošas DNS (ccfDNA) atrodas plazmā īsu fragmentu veidā (<1000 bp). Parasti ccfDNA koncentrācija plazmā ir zema (var svārstīties no 1 līdz 100 ng/ml), un katram indivīdam tā var ievērojami atšķirties. PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) ar CE marķējumu apvienojumā ar QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) komplektu veido standarta darbplūsmu, kura sniedz iespēju savākt, stabilizēt, uzglabāt un transportēt asinis, nodrošina DNS stabilizāciju noslēgtā stobriņā un sekojošu ccfDNA izolēšanu un izdalīšanu no cilvēka plazmas, izmantojot QIAGEN® QIASymphony SP instrumentu.

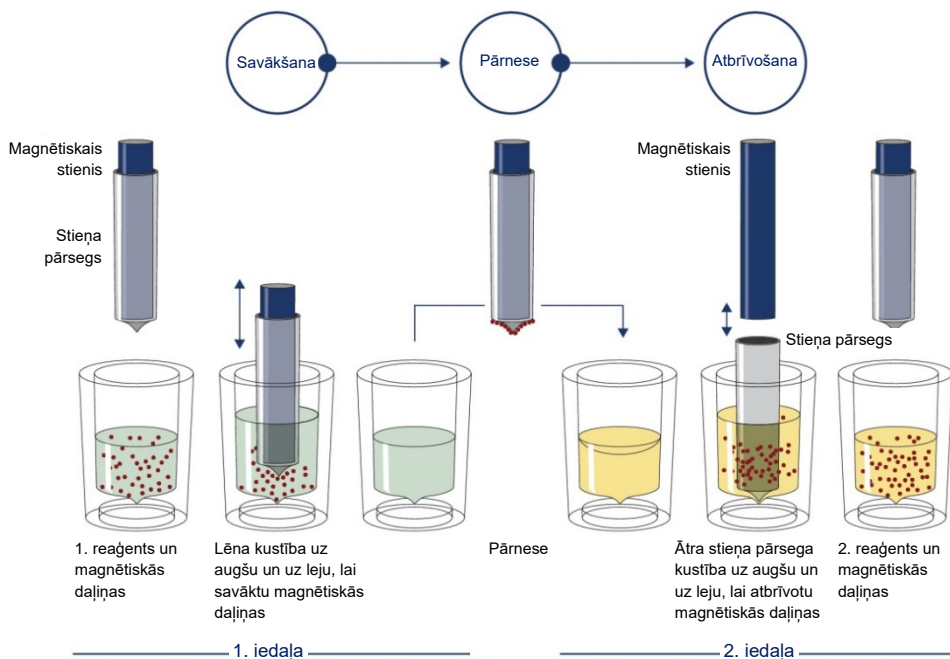
Ir nodrošināti QIASymphony SP instrumenta protokoli, kas attiecas uz ccfDNA izdalīšanu no 2,4 ml un 4,8 ml plazmas, kas ģenerēta PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) stobriņos, veicot divkārtu centrifugēšanu. Plazma tiek pārvietota un apstrādāta sekundārajā stobriņā QIASymphony SP instrumentā.

Ir pieejami arī primārā stobriņa apstrādes protokoli QIASymphony SP instrumentā 2,4 ml un 4 ml plazmas ievades tilpumam. Šajā gadījumā otrās centrifugēšanas posms un plazmas pārvietošana uz sekundāro stobriņu nav nepieciešama.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekta magnētisko daļiņu tehnoloģija ļauj izdalīt augstas kvalitātes ccfDNA, kas nesatur proteīnus, nukleāzes un citus piemaisījumus. QIASymphony SP instruments veic visas izdalīšanas procedūras darbības. Vienā izpildē tiek apstrādāti līdz 96 paraugi, kas sadalīti 24 paraugu partijās. Informāciju par genoma DNS (gDNA) izolēšanu no asins kodoloto šūnas frakcijas PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) stobriņos QIASymphony SP instrumentā skatiet instrukcijās, kas pievienotas PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) stobriņa lietošanas instrukcijām (www.PreAnalytiX.com).

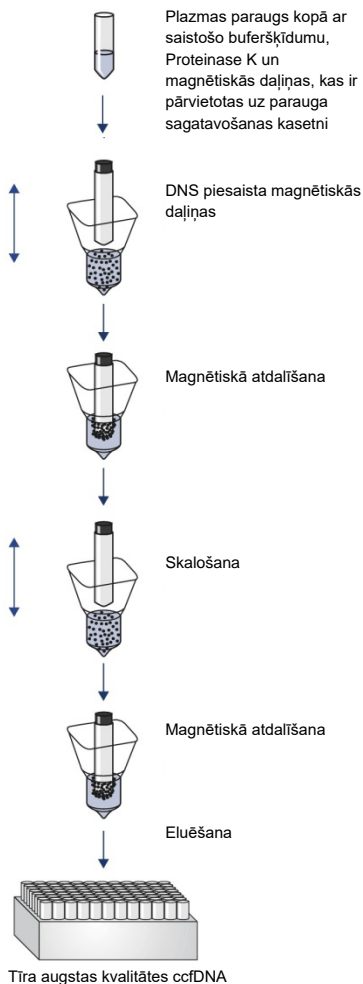
Procedūras principi

QIASymphony SP instrumenta tehnoloģija apvieno uz anjonu apmaiņu bāzētās nukleīnskābes izdalīšanas ātrumu un efektivitāti ar ērtu magnētisko daļiņu apstrādi (1. attēls). Izdalīšanas procedūra ir izstrādāta tā, lai garantētu potenciāli infekciozo paraugu drošu un atkārtojamu apstrādi, un tā ietver 3 posmus: saistīšanu, skalošanu un eluēšanu (2. attēls). Lietotāji var izvēlēties dažādus parauga ievades tilpumus.



1. attēls. QIASymphony SP instrumenta darbības principa shematiska diagramma. QIASymphony SP instruments apstrādā magnētiskās daļiņas saturošus paraugus šādi: magnētiskais stienis, ko aizsargā stieņa pārsegs, nonāk iedaļā, kurā ir paraugs, un piesaista magnētiskās daļiņas. Magnētiskā stieņa pārsegs tiek novietots virs citas iedaļas, un magnētiskās daļiņas tiek atbrīvotas. Šīs darbības parauga apstrādes laikā tiek atkārtotas vairākas reizes. QIASymphony SP instruments izmanto magnētisko galvu, kurā ir 24 magnētisko stieņu virkne, tāpēc vienlaikus var apstrādāt līdz 24 paraugiem.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



2. attēls. Darbības ccfDNA ekstrakcijai, izmantojot komplektu QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD). ccfDNA fragmenti tiek izolēti no plazmas, kas iegūta no PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) stobriņā savāktām cilvēka venozajām pilnasinīm. Pirmā apstrādes posma laikā plazmas proteīni tiek noārdīti ar Proteinase K, bet ccfDNA piesaistās magnētisko daļiņu virsmai. Trīs mazgāšanas posmi nodrošina, ka kontaminanti tiek atdalīti. Nobeigumā ccfDNA tiek eluēts no magnētiskajām daļiņām un ir gatavs izmantošanai pakārtotos lietojumos.

Nodrošinātie materiāli

Komplekta saturs

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) Kataloga Nr. Reakciju skaits		(192) 768566 192		
Saīsinājums	Nosaukums	Daudzums	Aktīvās sastāvdaļas	Koncentrācija [%]**
RC	Reagent cartridge (Reaģentu kasetne)*†	2	Nejonu mazgāšanas līdzeklis Anjonu apmaiņas magnētiskā daļiņa NaOH Etanols	≥0,5 – <10 [w/w] Nav piemērots ≥0,05 – <0,1 [w/w] ≥70 – <90 [v/v]
PROTK	Proteinase K (Proteināze K)†	5 x 10 ml	Proteinase K	≥1 – <3 % [w/w]
PL	Piercing lid (Caurduršanas vāks)	2	—	Nav piemērots
RSS	Reuse Seal Set (Atkārtoti lietojamo bļīvenšu komplekts)‡	2	—	Nav piemērots
	Elution Microtubes CL, racked (Eluēšanas mikrostobriņi, statīvos)#	2	—	Nav piemērots
	Caps for Elution Microtubes (Eluēšanas mikrostobriņu vāciņi)#	1 x (55 x 8)	—	Nav piemērots
	Lietošanas instrukcijas (rokasgrāmata)	1	—	Nav piemērots
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXgene asins ccfDNA izdalīšanas protokola atlases rīks)	1	—	Nav piemērots

* Kā konservantu satur nātrija azīdu.

† Simbolu un definīciju sarakstu skatīt 35. lpp.

‡ Komplektā Reuse Seal Set iekļautas 8 atkārtoti lietojamas bļīventes.

Pieejams arī atsevišķi, skatīt Informācija par pasūtīšanu.

** Maksimāla koncentrācija atsevišķā iedaļā.

Nepieciešamie materiāli, kas netiek nodrošināti

Strādājot ar ķīmiskiem un bioloģiskiem paraugiem, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles atbilstoši iestādes politikai un procedūrām. Lai saņemtu papildinformāciju, lūdzu, iepazīstieties ar attiecīgajām drošības datu lapām (DDL), kas ir pieejamas pie produkta piegādātāja.

Pārlicinieties, vai instrumenti ir pārbaudīti un kalibrēti saskaņā ar ražotāja ieteikumiem.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, kat. Nr. 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, kat. Nr. 997004)
- Filter-Tips, 200 µl un 1500 µl (QIAGEN, kat. Nr. attiecīgi 990332 un 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, kat. Nr. 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (PreAnalytiX, kat. Nr. 768165)
- Paraugu stobriņi. Lai iegūtu informāciju par primārajiem un sekundārajiem stobriņu formātiem, skatiet laboratorijas aprīkojuma sarakstu Labware, kas ir pieejams izstrādājumu lapas avotu cilnē Product Resources, vietnē www.qiagen.com.
- Lai iegūtu informāciju par saderīgiem eluēšanas stobriņu formātiem, skatiet laboratorijas aprīkojuma sarakstu Labware, kas ir pieejams izstrādājumu lapas avotu cilnē Product Resources, vietnē www.qiagen.com.

Aprīkojums*

- Pipete (5 ml)
- QIASymphony SP instruments (QIAGEN, kat. Nr. 9001297)

* Pirms lietošanas pārlicinieties, vai instrumenti ir pārbaudīti un kalibrēti saskaņā ar ražotāja ieteikumiem.

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

Lietošanai *in vitro* diagnostikā

Pirms komplekta lietošanas rūpīgi izlasiet visus norādījumus.

Klientiem Eiropas Savienībā: lūdzu, ņemiet vērā, ka jums jāziņo ražotājam un tās dalībvalsts kompetentajai iestādei, kurā lietotājs un pacients ir reģistrēts, par nopietniem negadījumiem, kas notikuši saistībā ar ierīci.

Drošības informācija

Strādājot ar ķīmiskiem un bioloģiskiem paraugiem, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles atbilstoši iestādes politikai un procedūrām. Lai iegūtu papildinformāciju, skatiet attiecīgās drošības datu lapas (DDL). Tās ir pieejamas PDF formātā tiešsaistē vietnē www.qiagen.com/safety, kur var meklēt, skatīt un drukāt katra PreAnalytiX komplekta un komplekta komponenta DDL.

- Visas ķīmiskās vielas un bioloģiskie materiāli ir potenciāli bīstami. Paraugi ir potenciāli infekciozi un jāapstrādā kā bioloģiski bīstami materiāli.
- Izmetiet paraugus un testu atkritumus atbilstoši vietējām drošības procedūrām.

Piesardzības pasākumi

Buferšķīdumi reaģentu kasetnē (RC) satur nātrija azīdu. Ja komplekta buferšķīdumi tiek izšķīdināti, noslaukiet ar piemērotu laboratorijas mazgāšanas līdzekli un ūdeni. Ja izšķīdinātais šķīdums satur potenciāli infekciozas vielas, vispirms notīriet skarto vietu ar laboratorijas mazgāšanas līdzekli un ūdeni un pēc tam ar 1% (tilpumkoncentrācija) nātrija hipohlorītu (balinātāju).

Tālāk norādītie riska un piesardzības pasākumu paziņojumi attiecas uz QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekta komponentiem.

MBS3

Satur: nātrija azīdu. Brīdinājums! Var būt kaitīgs, norijot. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/aizsargbrilles/sejas masku.

Proteinase K



Satur: Proteinase K. Bīstami! Izraisa mērenu ādas kairinājumu. Ieelpojot var izraisīt alerģiju vai astmas simptomus, vai apgrūtināt elpošanu. Neieelpojiet putekļus/dūmus/gāzi/miglu/tvaikus/izsmidzinājumus. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/aizsargbrilles/sejas masku. Lietojiet elpceļu aizsardzības līdzekļus. Saskares gadījumā vai ja ir aizdomas par to: Zvaniet uz saindēšanās centru vai ārstam/ģimenes ārstam. Pārvietot cietušo svaigā gaisā un novietot mierīgā pozīcijā, kurā nav apgrūtināta elpošana.

QSE2



Satur: Nātrija hidroksīds. Bīstami! Izraisa smagus ādas apdegumus un acu traumas. Utilizējiet komponentus/konteineru, to nododot apstiprinātam atkritumu pārstrādes uzņēmumam. Ja iekļūst acīs: uzmanīgi skalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to ir viegli izdarīt. Turpināt skalot. Ja nokļūst uz ādas (vai matiem): Nekavējoties noņemiet/novelciet visu kontaminēto apģērbu. Skalojiet ādu ar ūdeni/dušu. Nekavējoties sazinieties ar saindēšanās centru vai ārstu/ģimenes ārstu. Glabājiet aiz atslēgas. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/aizsargbrilles/sejas masku.

QSW9



Satur: Etanols. Bīstami! Viegli uzliesmojošs šķidrums un tvaiki. Izraisa nopietnu acu kairinājumu. Sargāt no karstuma/dzirkstelēm/atklātas liesmas/karstām virsmām. Nesmēķēt. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/aizsargbrilles/sejas masku.

Reaģentu glabāšana un lietošana

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) komplekts ir jāuzglabā vertikāli, istabas temperatūrā (15–25°C). Uzglabājot šajā temperatūras diapazonā, reaģentu kasetnēs (RC) esošās magnētiskās daļiņas saglabājas aktīvas.

Piezīme. Uz QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) kārbas ir norādīts komplekta derīguma termiņš. Derīguma termiņš attiecas uz reaģentu kasetni.

Nelietojiet QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) komplektu, ja ir beidzies tā derīguma termiņš.

Komplekta komponenti

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) komplekts satur lietošanai gatavu šķīdumu Proteinase K, ko var uzglabāt istabas temperatūrā (15–25°C).

Reaģentu kasetnes (RC) nedrīkst uzglabāt temperatūrā, kas ir zemāka par 15°C.

Atvērtas QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) reaģentu kasetnes (RC) var glabāt istabas temperatūrā (15–25°C) līdz 4 nedēļām, nodrošinot ekonomiski efektīvu reaģentu lietošanu un pielāgojamāku paraugu apstrādi. Ja reaģentu kasetne (Reagent Cartridge, RC) ir izmantota daļēji, nomainiet magnētiskās daļiņas saturošās iedobes vāku un aizlīmējiet reaģenta kasetni (Reagent Cartridge, RC) ar atkārtoti lietojamām blīvlentēm tūlīt pēc protokola beigšanas, lai nepieļautu iztvaikošanu.

Lai nepieļautu reaģenta iztvaikošanu, reaģenta kasetne (RC) var būt atvērta maksimāli 15 stundas (iekļaujot izpildes laiku) pie maksimālās vides temperatūras 32°C. Nepareiza komplekta komponentu uzglabāšana var izraisīt paātrinātu buferšķīdumu novecošanos.

Partiju ar zemu paraugu skaitu (<24) apstrāde palielina gan laiku, kurā reaģentu kasetne (RC) ir bijusi atvērta, gan nepieciešamo buferšķīdumu tilpumu, tādējādi iespējami samazinot kopējo paraugu sagatavošanas reižu skaitu, kas ir iespējams, izmantojot vienu kasetni.

Nepakļaujiet reaģenta kasetnes (RC) UV staru iedarbībai (piemēram, izmantojot to dekontaminācijai), jo iedarbība var paātrināt reaģenta kasetņu (RC) un buferšķīdumu novecošanos.

Pievērsiet uzmanību derīguma termiņiem un uzglabāšanas nosacījumiem, kas norādīti uz kastītes un visu komponentu etiķetēm. Neizmantojiet nederīgus vai nepareizi uzglabātus komponentus.

Paraugu savākšana un apstrāde

Izdalīšanas procedūra ir optimizēta izmantošanai ar plazmu, kas iegūta no stobriņos PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) savāktajām asinīm. Informāciju par asins savākšanu, šo stobriņu apstrādi un plazmas sagatavošanu skatiet PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) lietošanas instrukcijās, kas atrodamas produktu lapu cilnēs “Product Resources” (Produktu resursi) un cilnēs “Resources” (Resursi) tīmekļa vietnēs attiecīgi www.qiagen.com un www.PreAnalytiX.com.

Plazmas sagatavošanu var veikt, izmantojot (A) standarta divkārtās centrifugēšanas protokolu vai (B) apstrādājot primāros stobriņus: apstrādājot centrifugētus vienreiz centrifugētus stobriņus PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) tieši QIASymphony SP instrumentā.

A) Plazmas sagatavošana no asinīm standarta protokoliem

1. Centrifugējiet stobriņu PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 15 min istabas temperatūrā (15–25 °C) pie 1600–3000 × g, (pirmā centrifugēšana) un 10 min pie 1600–3000 × g (otrā centrifugēšana) izmantojot līdzsvarotu svārstīgo kausu centrifūgu. Ja ir vēlams, ieteicams izmantot vidēja līmeņa bremzēšanu, un tai jābūt apstiprinātai jūsu konkrētajai darbplūsmi.

Piezīme. Lai nodrošinātu, ka paraugi, kas pirms centrifugēšanas glabāti ledusskapī, uzrāda labāko veiktspēju, pirms apstrādes stobriņi ir jāatstāj istabas temperatūrā.

2. Pipetējiet plazmu 15 ml centrifūgas stobriņā ar konisku apakšu (nav iekļauts komplektā) un ievērojiet piesardzību, lai nesabojātu kodoloto šūnas frakciju.

3. Centrifugējiet 15 ml centrifūgas stobriņu ar konisku apakšu istabas temperatūrā (15–25°C) 15 min pie 1600–3000 × g (pirmā centrifugēšana) un 10 min pie 1600–3000 × g (otrā centrifugēšana), izmantojot līdzsvarotu centrifūgu.

Piezīme. Nepārsniedziet sekundāro stobriņu ražotāja maksimālo ieteicamo centrifugēšanas ātrumu.

4. Pipetējiet nepieciešamo plazmas tilpumu (sk. sadaļu "Parauga tilpums" 20. lpp.) 14 ml, 17 x 100 mm polistirola stobriņā ar noapaļotu apakšu un ievērojiet piesardzību, lai neizkustinātu atlikušo asins šūnas granulu, ja tāda ir.
5. Pārnesiet stobriņu ar noapaļoto apakšu un plazmas paraugu uz stobriņu glabātāju un ievietojiet to QIASymphony SP instrumenta paraugu ievades nodalījumā.

Piezīme. Lai maksimāli iegūtu ccfDNA, apstrādājiet maksimālo pieejamo plazmas tilpumu.

Piezīme. Novērsiet putu veidošanos plazmas paraugos vai uz tiem. Ja paraugos ir putas vai gaisa burbuļi, var tikt pipetēts nepareizs parauga tilpums.

Piezīme. Pēc asins paņemšanas un centrifugēšanas pirms plazmas apstrādes PAXgene Blood ccfDNA Tubes (IVD) stabilizē ccfDNA (ccfDNA profils) plazmā pie 2–8°C līdz 7 dienām. Ilgākai glabāšanai ieteicams sasaldēt alikvotas.

Piezīme. Ja tiek izmantoti iepriekš glabāti plazmas paraugi (piemēram, glabāti 2-8°C temperatūrā vai sasaldēti -20 vai -70 °C/-80 °C temperatūrā), pirms apstrādes sākšanas tie ir jālīdzsvaro līdz istabas temperatūras sasniegšanai (15–25 °C).

B) Plazmas sagatavošana no asinīm primāro stobriņu apstrādei QIASymphony SP instrumentā

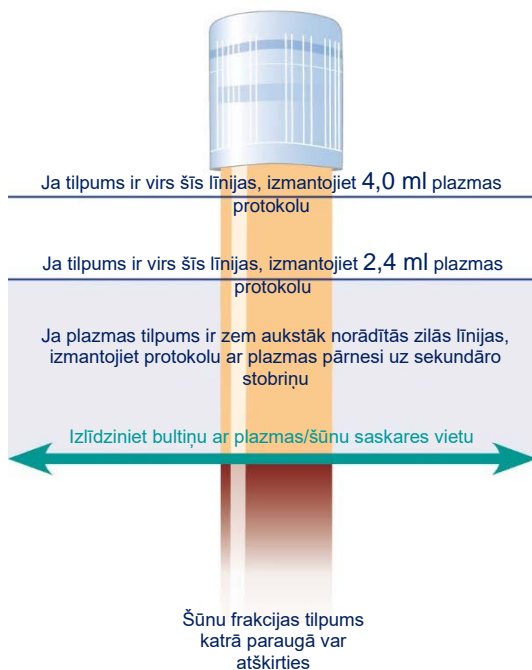
1. Centrifugējiet PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 15 minūtes istabas temperatūrā (15–25 °C) ar ātrumu 3 000 x g, izmantojot līdzsvarotu svārstīgo kausu centrifūgu. Ja ir vēlams, ieteicams izmantot vidēja līmeņa bremsēšanu un tai jābūt apstiprinātai jūsu konkrētajai darbplūsmi.

Piezīme. Lai nodrošinātu, ka paraugi, kas pirms centrifugēšanas glabāti ledusskapī, uzrāda labāko veiktspēju, pirms apstrādes stobriņi ir jāatstāj istabas temperatūrā.

2. Pēc izņemšanas no centrifūgas kausa kvantitatīvi nosakiet plazmas tilpumu katrā stobriņā, izmantojot komplektā iekļauto PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (3. att.). Pēc stobriņa izņemšanas no centrifūgas rīka zilganzaļā bultiņa ir izlīdzināta ar plazmas/šūnu saskares vietu. Zilās līnijas norāda, vai plazmas līmenis ir pietiekams 2,4 vai 4,0 ml primāro stobriņu apstrādes protokolam. Minimālais plazmas kolonnas augstums 2,3 cm ir vajadzīgs 2,4 ml protokolam un vismaz 3,4 cm augstums — 4,0 ml protokolam.



Nosakiet optimālo protokolu stobriņu
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)
apstrādei tieši QIASymphony SP
instrumentā



3. attēls. Plazmas tilpuma noteikšana, izmantojot PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (paredzēts tikai ilustratīvos nolūkos; nedrukājiet to, jo faktiskais izmērs atšķiras — nav paredzēts lietošanai ar paraugiem).

Piezīme. Ja pēc izņemšanas no centrifūgas nenotika skaidra plazmas un šūnu frakcijas atdalīšanās vai fāzes nejauši sajaucās, centrifugēšana ir jāatkārto.

3. Noņemiet Hemogard Closure Cap no stobriņiem PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD), pirms ievietojat tos QIASymphony SP instrumentā tiešai ccfDNA ekstrakcijai.

Piezīme. Noņemot stobriņa aizdari un rīkojoties ar vaļējiem stobriņiem, tas jādara piesardzīgi, lai samazinātu iespējamo parauga izšļakstīšanas, kā arī stobriņu un asiņu savstarpējas kontaminācijas risku.

4. Novietojiet pietiekamu plazmas daudzumu saturošos atvērtos stobriņus PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) stobriņu glabātājā un ielieciet šo stobriņu glabātāju QIASymphony SP instrumenta paraugu ievades nodalījumā.

C) PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņā apstrādātās plazmas paraugu sasaldēšana un atkausēšana

1. Sasaldēšanai pārvietojiet plazmu piemērotos stobriņos (piem., krio mēģenēs), kas ievietotas piemērotā statīvē.
2. Sasaldējiet un uzglabājiet plazmu -20°C . Glabāšanai temperatūrā, kas zemāka par -20°C vispirms sasaldējiet plazmas paraugus pie -20°C uz vismaz 24 stundām, pēc tam pārvietojiet tos -70 vai -80°C temperatūrā.
3. Atkausējiet plazmu istabas temperatūrā ($15-25^{\circ}\text{C}$).

Piezīme. Neatkausējiet zemā temperatūrā (piem., 4°C).

4. Ja paraugos ir redzami krioprecipitāti, pēc atkausēšanas centrifugējiet stobriņu 30 s un izmantojiet paraugu QIASymphony SP instrumenta ccfDNA izolēšanas procedūrai bez papildu apstrādes.

Piezīme. Nav ieteicams centrifugēt plazmu, lai nodalītu krioprecipitātus, jo tie var saturēt ccfDNA.

Piezīme. Lai novērstu krioprecipitātu veidošanos, plazmu 30 min var atkausēt pie 30°C , nevis istabas temperatūrā.

Procedūra

Pārskats: Automātiska ccfDNA attīrīšana QIASymphony SP instrumentā

QIASymphony SP instruments vienkārši un ērti veic automātisku paraugu sagatavošanu. Paraugi, reaģenti, palīgmateriāli un eluāti atrodas atsevišķi dažādos nodalījumos. Pirms apstrādes procesa vienkārši ievietojiet paraugus, reaģentus, kas piegādāti īpašās kasetnēs, un statīvos ievietotus palīgmateriālus attiecīgajā nodalījumā. Sāciet protokola izpildi un pēc apstrādes izņemiet izdalītās ccfDNA no nodalījuma "Eluate" (Eluāts). Lietošanas instrukcijas skatiet instrumenta komplektācijā iekļautajās lietošanas rokasgrāmatās.

Piezīme. Papildu apkope instrumenta darbības nodrošināšanai nav obligāti nepieciešama, bet ir ļoti ieteicama, lai samazinātu kontaminācijas risku.

Parauga tilpums

Lai nodrošinātu, ka regulārajā darbplūsmā ar iekārtu tiek pārnesti 2,4 ml (protokols PAXcircDNA_2400) un 4,8 ml parauga (protokols PAXcircDNA_4800), ir nepieciešams tukšais tilpums, attiecīgi 0,4 un 0,5 ml, un līdz ar to jānodrošina vismaz 2,8 un 5,3 ml paraugu ievades. Ja ir pieejami mazāki plazmas tilpumi nekā 2,8 vai 5,3 ml, režīms Less Sample (Mazāks parauga tilpums) kā integrēta protokola funkcija ļauj pārnest plazmas tilpumu, kas ir mazāks par norādīto. Šajā gadījumā instruments pārnes mazāk parauga un pārnestais tilpums tiek dokumentēts rezultātu failā. Turklāt attiecīgie paraugi tiek atzīmēti kā neskaidri (kļūdas kods 140043, režīms Enable Less Sample (ļespējot mazāku parauga tilpumu)). Lai iespējotu režīmu Less Sample (Mazāks parauga tilpums), jāizmanto minimālie plazmas ievades tilpumi 1,6 ml un 4,1 ml. Ja tiek izmantots mazāks paraugu tilpums, paraugi netiks apstrādāti un tiks atzīmēti kā nederīgi. Primārā stobriņa apstrādes darbplūsmai tiek nodrošināts atbilstošs parauga tilpums, izmantojot komplektā iekļauto PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool kā komplektu (aprakstīts "Parauga materiāla sagatavošana" 24. lpp.).

Reaģentu kasetņu (RC) ievietošana nodalījumā “Reagents and Consumables” (Reaģenti un izejmateriāli)

Reaģenti ccfDNA attīrīšanai ir ievietoti inovatīvā reaģentu kasetnē (RC) (4. attēls). Katra reaģenta kasetnes (RC) iedobe satur noteiktu reaģentu, piemēram, magnētiskās daļiņas, saistīšanas, skalošanas vai eluēšanas buferšķīdumu. Daļēji izlietotas reaģentu kasetnes (Reagent Cartridge, RC) var aizvērt, izmantojot blīvlenti, lai vēlāk tās varētu izmantot atkārtoti, tādējādi izvairoties no atkritumu rašanās pārpalikušu reaģentu dēļ izdalīšanas procedūras beigās.



4. attēls. QIASymphony reaģentu kasetne (RC). Reaģentu kasetne (RC) satur visus protokola veikšanai nepieciešamos reaģentus.

Pirms procedūras sākšanas obligāti pārbaudiet, vai magnētiskās daļiņas ir līdz galam resuspendētas. Pirms pirmās lietošanas izņemiet magnētisko daļiņu iedobi no reaģentu kasetnes (RC) rāmja, enerģiski kratiet to vismaz 3 minūtes un ievietojiet to atpakaļ reaģentu kasetnes (RC) rāmī.

Piezīme. Magnētiskās daļiņas var mainīt krāsu. Tas nekādi neietekmē veiktspēju.

Ievietojiet reaģentu kasetni (RC) reaģentu kasetnes turētājā. Pirms pirmās reaģentu kasetnes (RC) lietošanas uzlieciet reaģentu kasetnei (RC) caurduršanas vāku (4. attēls).

Piezīme. Caurduršanas vāks ir ass. Uzliekot to reaģentu kasetnei (RC), ievērojiet piesardzību. Raugiet, lai caurduršanas vāks tiek uzlikts reaģenta kasetnei (RC) pareizā virzienā.

Kad magnētisko daļiņu iedobes vāks ir noņemts, reaģentu kasetne (RC) tiek ievietota nodalījumā "Reagents and Consumables" (Reaģenti un izejmateriāli).

Daļēji izlietas reaģentu kasetnes (RC) var uzglabāt, līdz tās atkal ir nepieciešamas (skatīt "Reaģentu glabāšana un lietošana" 14. lpp.).

Piezīme. Nepieciešams pievienot Proteinase K (skatīt "Pirms darba sākšanas veicamās darbības" 26. lpp.).

Piezīme. Pārbaudiet, vai reaģentu kasetnes (RC), magnētisko daļiņu iedobes un Proteinase K pudeles nav savstarpēji sajauktas starp dažādām komplekta partijām.

Plastmasas izstrādājumu ievietošana nodalījumā "Reagents and Consumables" (Reaģenti un izejmateriāli)

Parauga sagataves kasetnes, 8-Rod Covers (abi iepriekš ievietoti ierīces bloku statīvos) un vienreizējās lietošanas filtru-uzgaļi (200 µl uzgaļi zilos statīvos, 1500 µl uzgaļi melnos statīvos) ir ievietoti nodalījumā "Reagents and Consumables" (Reaģenti un izejmateriāli).

Piezīme. Pirms ierīces bloku ievietošanas nodalījumā "Reagents and Consumables" (Reaģenti un izejmateriāli) pārlicinieties, vai to vāki ir noņemti.

Piezīme. Lai novērstu savstarpēju kontamināciju, uzgaļi ir aprīkoti ar filtriem.

Uzgaļu statīva ligzdās, kas atrodas QIASymphony SP instrumentā, var ievietot jebkura tipa uzgaļu statīvus. QIASymphony SP instruments identificēs ievietoto uzgaļu tipu inventāra skenēšanas laikā.

Piezīme. Pirms cita protokola izpildes atkārtoti neaizpildiet uzgaļu statīvus vai paraugu ierīces blokus sagatavošanas kasetnēm Sample Prep Cartridges vai 8-Rod Covers. QIASymphony SP instruments var izmantot daļēji izlietotus uzgaļu statīvus un ierīces blokus.

Plastmasas izstrādājumu pasūtīšanas informāciju skatiet 38. lpp.

“Waste” (Atkritumi) atvilktnes piekraušana

Paraugu sagatavošanas kasetnes Sample Prep Cartridges un 8-Rod Covers, ko izmanto apstrādes procesa laikā, tiek pārkārtoti nodalījuma “Waste” (Atkritumi) tukšajos ierīces blokos. Raugiet, lai nodalījumā “Waste” (Atkritumi) būtu pietiekami daudz tukšu ierīces bloku plastmasas atkritumiem, kas rodas protokola izpildes laikā.

Piezīme. Pirms ierīces bloku ievietošanas nodalījumā “Waste” (Atkritumi) pārbaudiet, vai to vāki ir noņemti. Ja izlietoto paraugu sagatavošanas kasetņu un 8-Rod Covers savākšanai izmanto 8-Rod Covers blokus, pārbaudiet, vai bloka starpliika ir noņemta.

“Waste” (Atkritumi) atvilktnes priekšējā malā jābūt piestiprinātam maisam, kas paredzēts izlietotajiem filtru uzgaļiem.

Piezīme. Sistēma nepārbauda uzgaļu savākšanas maisa esamību. Pirms sākt protokola izpildi, pārlicinieties, vai uzgaļu savākšanas maisis ir pareizi piestiprināts. Plašāku informāciju skatiet instrumentam pievienotajās lietotāja rokasgrāmatās. Iztukšojiet uzgaļu maisu pēc tam, kad ir apstrādāti maksimāli 96 paraugi, lai nepieļautu uzgaļu sastrēgumu.

Atkritumu konteiners savāc šķidros atkritumus, kas radušies izdalīšanas procedūras laikā. Nodalījumu “Waste” (Atkritumi) var aizvērt tikai tad, kad atkritumu konteiners atrodas savā vietā. Utilizējiet šķidros atkritumus saskaņā ar vietējiem drošības un vides noteikumiem. Pildīto atkritumu pudeli neievietojiet autoklāvā. Iztukšojiet atkritumu pudeli pēc tam, kad ir apstrādāti maksimāli 96 paraugi.

Nodalījuma “Eluate” (Eluāts) ievietošana

Ievietojiet nepieciešamo eluēšanas statīvu nodalījumā “Eluate” (Eluāts). Tā kā eluātu ilgstoša glabāšana nodalījumā “Eluate” (Eluāts) var radīt to iztvaikošanu, obligāti jāizmanto dzesēšanas pozīcija. Izmantojiet “Elution slot 1” (Eluāta 1. atvere) ar atbilstošu dzesēšanas adapteri.

Atlasītais eluēšanas tilpums (µl)*	Sākotnējais elūcijas tilpums (µl)†
60	75

* Šis ir minimālais pieejamais eluāta tilpums pēdējā eluāta stobriņā QIAGEN EMT statīvam (kat. Nr. 19588) un 1,5 ml Sarstedt stobriņiem ar skrūvējamu vāciņu (kat. Nr. 72.607). Atsevišķos gadījumos pēdējais eluāta tilpums atsevišķiem paraugiem var būt līdz 5 µl mazāks.

† Eluāta buferšķīduma sākotnējais tilpums, kas nepieciešams, lai pārliecinātos, vai faktiskais eluāta tilpums atbilst atlasītajam tilpumam.

Inventāra skenēšana

Pirms apstrādes procesa instruments pārbauda, vai rindā ievietotajai(-ām) partijai(-ām) ir atbilstošajos nodalījumos ir ielādēts pietiekami daudz palīgmateriālu.

Parauga materiāla sagatavošana

Skatīt “Paraugu savākšana un apstrāde” 16. lpp.

ccfDNA uzglabāšana

Pēc parauga sagatavošanas ccfDNA eluātus var uzglabāt –20 vai –80°C. Sasaldētus eluātus drīkst atkausēt ne vairāk kā trīs reizes. Jaunāko informāciju par ccfDNA stabilitāti eluātos skatiet produkta lapā tīmekļa vietnē www.qiagen.com vai www.PreAnalytiX.com.

Protokola pārskats

1. tabula. Protokola pārskats

Paraugs	PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) apstrāde	Parauga ievades tilpums (tostarp tukšais tilpums) (ml)	Parauga tilpums, kas tiek izmantots ccfDNA ekstrakcijai (ml)	Eluāta tilpums (µl)	QIASymphony SP instrumenta protokols
Plazma, kas iegūta no stobriņos PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) savāktajām cilvēka venozajām pilnasinīm	2x centrifugēšana, plazmas pārvietošana uz sekundāro stobriņu	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5.3.	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	1x centrifugēšana, tieša apstrāde QIASymphony SP instrumentā	Aaskaņā ar atlasē rīku	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Svarīga informācija pirms darba sākšanas

- Strādājot ar ķīmiskām vielām un bioloģiskiem paraugiem, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai iegūtu sīkāku informāciju, skatiet attiecīgās drošības datu lapas (safety data sheet, SDS).
- Obligāti iepazīstieties ar QIASymphony SP instrumenta darbības principiem. Lietošanas instrukcijas skatiet instrumenta komplektācijā iekļautajās lietošanas rokasgrāmatās.
- Pirms procedūras sākšanas izlasiet nodaļu "Procedūras principi".
- Obligāti iepazīstieties ar protokola lapu un laboratorijas aprīkojuma sarakstu (atrodami produkta lapas cilnē "Product Resources" (Produktu resursi), tīmekļa vietnē www.qiagen.com).
- Reaģentu kasetni (RC) nav ieteicams enerģiski kratīt, pretējā gadījumā var veidoties putas, kas var radīt noteikšanas problēmas šķidruma līmenī.

- Asinis jāsavāc PAXgene Blood ccfDNA Tubes stobriņos (CE-IVD; PreAnalytiX, kat. Nr. 768165). Instrukcijas par asins savākšanu, apstrādi un plazmas apstrādi skatiet lietošanas instrukcijās, kas atrodamas produkta lapas cilnē “Product Resources” (Produkta resursi) un cilnē “Resources” (Resursi), tīmekļa vietnē www.qiagen.com vai www.PreAnalytiX.com.

Pirms darba sākšanas veicamās darbības

- Pirms procedūras sākšanas obligāti pārbaudiet, vai magnētiskās daļiņas ir līdz galam resuspendētas. Pirms izmantošanas pirmo reizi enerģiski kratiet tvertni, kas satur magnētiskās daļiņas vismaz 3 min.
- Pārbaudiet, vai caurduršanas vāks ir novietots uz reaģentu kasetnes (Reagent Cartridge, RC) un ka magnētisko daļiņu tvertnes vāks ir noņemts vai, ja tiek izmantota daļēji izlietota reaģentu kasetne (Reagent Cartridge, RC), pārbaudiet, vai atkārtoti lietojamas blīvļentes ir noņemtas.
- Šķīdums Proteinase K nav iekļauts reaģentu kasetnē (RC), un tas ir jānodrošina lietotājam (paraugu nodalījums, A atvere, 1. un/vai 2. pozīcija). Pārbaudiet, vai ir ieejams pareizs šķīduma Proteinase K tilpums.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) satur lietošanai gatavu šķīdumu Proteinase K. Proteinase K var glabāt istabas temperatūrā (15–25 °C). Ilgākai glabāšanai ieteicams glabāt enzīmu flakonus ar Proteinase K 2–8 °C temperatūrā.

Parauga numurs	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†

* Katram paraugam nepieciešams 110 µl tilpuma (2400 µl plazmai) vai 220 µl tilpuma (4800/4000 µl plazmai), kā arī papildu 1100 µl tukšā tilpuma [(n x 110 vai 220 µl) + 1100 µl].

† Ja nepieciešams vairāk nekā 11 660 µl, izmantojiet otru stobriņu (Corning, kat. Nr. 352051). Otrajam stobriņam nepieciešams papildu 1100 µl tukšā tilpuma.

Piezīme. Stobriņi, kas satur Proteinase K, tiek ievietoti stobriņu glabātājā. Stobriņu glabātājs, kas satur stobriņus ar Proteinase K, jāievieto nodalījuma "Sample" (Paraugs) A atveres 1. un 2. pozīcijā. Ieteicams Proteinase K izmantot 14 ml, 17 x 100 mm polistirola stobriņus ar noapaļotu apakšu (Corning, kat. Nr. 352051).

- Ja paraugi ir kodēti ar svītrkodu, novietojiet paraugus stobriņu turētājā tā, lai svītrkodi ir vērsti pret svītrkodu lasītāju QIASymphony SP instrumenta kreisajā pusē.
- Lai iegūtu informāciju par paraugu stobriņiem un minimālo parauga tilpumu salīdzinot ar protokolu, skatiet attiecīgo laboratorijas aprīkojuma sarakstu, kas ir pieejams izstrādājumu lapas cilnē "Product Resources" (Produktu resursi) vietnē **www.qiagen.com**.

Protokols: Automātiska ccfDNA izdalīšana uz QIASymphony SP instrumenta

Lai iegūtu detalizētu informāciju par katru protokolu, tostarp tilpumu un stobriņiem, skatiet protokola lapu un laboratorijas aprīkojuma sarakstu, kas ir pieejamas izstrādājumu lapas cilnē “Product Resources” (Produktu resursi) tīmekļa vietnē www.qiagen.com. Informāciju par parauga materiālu (plazma, kas iegūta no PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) stobriņā savāktām cilvēka venozajām pilnasinīm) skatiet šīs rokasgrāmatas nodaļās “Paraugu savākšana un apstrāde” un “Parauga materiāla sagatavošana”, kā arī stobriņa lietošanas instrukcijas, kas atrodamas produkta lapas cilnē “Product Resources” (Produktu resursi) un cilnē “Resources” (Resursi) tīmekļa vietnē www.qiagen.com vai www.PreAnalytiX.com.

1. Aizveriet visus nodalījumus un vāku.
2. Ieslēdziet (ON) QIASymphony SP instrumentu un nogaidiet, līdz tiek parādīts ekrāns **Sample Preparation** (Paraugu sagatavošana) un ir pabeigta inicializācijas procedūra.
3. Ieslēgšanas/izslēgšanas slēdzis atrodas QIASymphony SP instrumenta apakšējā kreisajā stūrī.
4. Piesakieties instrumentā.

Ievietojiet nepieciešamo eluēšanas statīvu nodalījumā “Eluate” (Eluāts).

Nodalījumā “Elution slot 4” (Eluāta 4. atvere) nedrīkst ievietot 96 iedaļu plāksni. Izmantojiet tikai nodalījumu “Elution slot 1” (Eluāta 1. atvere) ar atbilstošu dzesēšanas adapteri.

Izmantojot 96 iedaļu plāksni, pārlicinieties, vai plāksne ir novietota pareizā virzienā, jo nepareizs novietojums var izraisīt paraugu sajaukšanos pakārtotajā analīzē.

Izmantojot Elution Microtubes CL statīvu, noņemiet pamatni, pagriežot statīvu, līdz pamatne atdalās.

5. Pārbaudiet, vai nodalījums "Waste" (Atkritumi) ir pareizi sagatavots un veiciet nodalījuma "Waste" (Atkritumi) inventāra skenēšanu, iekļaujot uzgaļu tekni, uzgaļu novietošanas staciju, tukšo šķidro atkritumu konteineru un tukšos ierīces blokus. Ja nepieciešams, nomainiet uzgaļu savākšanas maisu.
6. Ievietojiet vajadzīgo reaģentu kasetni(-es) (RC) un izejmateriālus nodalījumā "Reagents and Consumables" (Reaģenti un izejmateriāli).
7. Veiciet inventāra skenēšanu nodalījumā "Reagents and Consumables" (Reaģenti un izejmateriāli).
8. Ievietojiet paraugus attiecīgajā paraugu turētājā un ievietojiet tos nodalījumā "Sample" (Paraugs).

Piezīme. Papildus parastajai apstrādei, ieskaitot plazmas pārnesei uz piemērotu parauga nesēju (14 ml Falcon® polistirola stobriņš ar noapaļotu apakšu, 17 x 100 mm), PAXgene Blood ccfDNA Tube primārā stobriņa apstrādes darbplūsmā nodrošina ccfDNA ekstrakciju tieši no PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņa (10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), 16 x 100 mm). Plašāku informāciju par promārā stobriņa apstrādi skatiet protokola lapā, laboratorijas aprīkojuma sarakstā un stobriņa lietošana instrukcijās, kuras atrodamas produkta lapas cilnē "Product Resources" (Produktu resursi) un cilnē "Resources" (Resursi) tīmekļa vietnē www.qiagen.com vai www.PreAnalytiX.com.

9. Izmantojot skārienekrānu, ievadiet nepieciešamo informāciju par katru apstrādājamo paraugu partiju un šķīdumu Proteinase K.

Ievadiet šādu informāciju:

- parauga informācija (atkarībā no lietotajiem paraugu statīviem atlasiet BD #352051 FalconPP 17 x 100 vai BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100)
- izpildāmais protokols (Assay Control Set (Testu kontrolmateriālu komplekts));
- eluēšanas tilpums un izvades pozīcija.

Kad informācija par partiju ir ievadīta, statuss LOADED (Ievietots) tiek mainīts ar QUEUED (Ievietots rindā). Kad viena partija ir ievietota rindā, tiek parādīta poga Run (Izpilde).

10. Ievietojiet Proteinase K attiecīgajā paraugu nesējā 1. un 2. pozīcijā un ievietojiet nodalījumā "Sample" (Paraugš) A atverē.
11. Definējiet Proteinase K, nospiežot pogu **IC**.
12. Lai sāktu izdalīšanas procedūru, nospiediet pogu **Run** (Izpilde).

Visi apstrādes posmi ir pilnībā automatizēti. Protokola izpildes beigās partijas statuss **RUNNING** (Notiek izpilde) tiek mainīts uz **COMPLETED** (Pabeigts).
13. Izņemiet eluēšanas statīvu, kas satur izdalīto ccfDNA, no nodalījuma "Eluate" (Eluāts). Apstipriniet eluāta statīva izņemšanu QIASymphony SP instrumenta programmatūrā.
14. ccfDNA ir gatavs izmantošanai, vai to var uzglabāt -20°C vai -80°C temperatūrā līdz 6 mēnešiem.

QIAGEN iesaka noņemt eluāta plāksni no nodalījums "Eluate" (Eluāts) tūlīt pēc apstrādes procesa pabeigšanas. Atkarībā no temperatūras un mitruma līmeņa pēc apstrādes procesa pabeigšanas uz QIASymphony SP instrumentā atstātajām eluēšanas plāksnēm var veidoties kondensāts vai var rasties to iztvaikošana.

Piezīme. Izmantojot QIASymphony SP instrumenta dzesēšanas funkciju, ir iespējamās izpildes nakts laikā.

Parasti magnētiskās daļiņas netiek pārnestas eluēšanas šķīdumos. Ja pārnese nenotiek, eluēšanas šķīdumos esošās magnētiskās daļiņas neietekmē vairumu pakārtoto procedūru.

Ja pirms pakārtoto procedūru veikšanas magnētiskās daļiņas ir jāatdala, stobriņi vai plāksnes, kas satur eluēšanas šķīdumus, vispirms ir jāievieto piemērotā magnētā un eluēšanas šķīdumi jāpārnes tīrā stobriņā (skatīt "Pielikums. ccfDNA kvantificēšana").

Rezultātu faili tiek ģenerēti katrai eluēšanas platei.

15. Ja reaģenta kasetne (Reagent Cartridge, RC) ir izmantota tikai daļēji, tiklīdz tiek pabeigta protokola izpilde, aizlīmējiet to ar komplektācijā iekļautajām atkārtoti lietojamām blīvlentēm, lai novērstu iztvaikošanu.

Piezīme. Lai iegūtu sīkāku informāciju par daļēji izmantoto reaģentu kasetni (RC) uzglabāšanu, skatiet "Reaģentu glabāšana un lietošana".

16. Izmetiet izlietotos paraugu stobriņus un atkritumus atbilstoši vietējiem drošības noteikumiem.

Drošības informāciju skatīt sadaļā “Brīdinājumi un piesardzības pasākumi”.

17. Veiciet QIASymphony SP instrumenta tīrīšanu.

Ievērojiet lietotāja rokasgrāmatā sniegtos norādījumus par apkopi. Regulāri notīriet uzgaļu aizsargus, lai samazinātu savstarpējas kontaminācijas risku.

18. Aizveriet instrumenta nodalījumus un izslēdziet (OFF) QIASymphony SP instrumentu.

Kvalitātes kontrole

Atbilstoši ISO prasībām sertificētajai QIAGEN Kvalitātes vadības sistēmai katra QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) komplektu partija ir pārbaudīta, salīdzinot ar iepriekš noteiktiem parametriem, lai nodrošinātu nemainīgu produkta kvalitāti.

Ierobežojumi

Sistēmas veiktspēja ir veidota, izmantojot veiktspējas novērtējuma izpēti, izdalot ccfDNA no plazmas, kas iegūta no stobriņos PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) savāktajām cilvēka venozajām pilnasinīm.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) komplekta veiktspējas raksturojums ir veidots, izmantojot 18S ribosomu un DYS14 Y hromosomu ccfDNA fragmentus plazmā.

Lietotāja pienākums ir pārbaudīt sistēmas veiktspēju attiecībā uz visām laboratorijā izmantotajām procedūrām, kas nav ietvertas QIAGEN un PreAnalytiX darbības novērtējuma pētījumos.

Lai samazinātu negatīvas ietekmes uz diagnostikas rezultātiem risku, pakārtotiem lietojumiem ir jāizmanto atbilstoši kontrolmateriāli. Visi iegūtie diagnostikas rezultāti jāinterpretē kopā ar citiem klīniskām vai laboratoriskām atradnēm.

Norādījumi par problēmu novēršanu

Šie norādījumi par problēmu novēršanu var palīdzēt atrisināt radušās problēmas. Lai skatītu kontaktinformāciju un biežāk uzdoto jautājumu sarakstu, apmeklējiet attiecīgo produkta lapu tīmekļa vietnē www.PreAnalytiX.com vai www.qiagen.com.

Komentāri un ieteikumi

Vispārēja apstrāde

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Skārienekrānā ir parādīts kļūdas ziņojums | Ja protokola izpildes laikā tiek parādīts kļūdas ziņojums, skatiet instrumenta komplektācijā iekļautās lietotāja rokasgrāmatas. |
| b) | Dažāds eluāta tilpums pēc izpildēm nakts laikā | Lai optimizētu efektivitāti QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) komplekts atbalsta paraugu apstrādi nakts laikā, atdzesējot eluātus QIASymphony SP instrumentā. Ilgos dzesēšanas periodos eluāta tilpums var mainīties atkarībā no temperatūras un mitruma laboratorijā. Piemēram, ja izvēlētais tilpums bija 60 µl pie 15–25°C temperatūras un 30–60% mitruma, tilpums pēc 12 stundu glabāšanas instrumentā var būt diapazonā 50–85 µl. |

Krioprecipitāti pēc plazmas paraugu atkausēšanas

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Krioprecipitātu veidošanās plazmā | Lai novērstu krioprecipitātu veidošanos, plazmu 30 minūtes var atkausēt pie 30°C, nevis istabas temperatūrā. Neatkausējiet zemā temperatūrā (piem., 4°C). Pēc atkausēšanas centrifugējiet stobriņū 30 sekundes |
| b) | Zems ccfDNA ieguvums no plazmas pēc krioprecipitātu atdalīšanas | Neveiciet plazmas centrifugēšanu, lai atdalītu krioprecipitātus, jo tie var saturēt ccfDNA. |

Nepietiekams plazmas tilpums no PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) stobriņiem

- | | | |
|----|---|---|
| a) | PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) stobriņā ir savākts mazāk nekā 10 ml asiņu | Stobriņā PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) ir savākts mazāk nekā 10 ml asiņu. Skatiet PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņu lietošanas instrukcijas. |
| b) | Liels šūnu tilpums | Augsts šūnu (hematokrits) tilpums cilvēka pilnasinīs (piem., vairāk par 51% vīriešiem un vairāk par 47% sievietēm) var izraisīt samazinātu plazmas tilpumu. |
| c) | Zems plazmas ieguvums pēc centrifugēšanas | Ilgāks asins uzglabāšanas un transportēšanas laiks vai citādi centrifugēšanas apstākļi, nekā norādīts, var ietekmēt plazmas iegūšanu. |

Komentāri un ieteikumi

Nogulsnes atvērtas QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) komplekta reaģentu kasetnes (RC) iedobē

- | | |
|---------------------------------------|---|
| a) Buferšķīduma iztvaikošana | Pārmērīga iztvaikošana var izraisīt sāls koncentrācijas palielināšanos buferšķīdumos. Izmetiet reaģentu kasetni (RC). Ja netiek lietots izdalīšanai, gādājiet, lai daļēji izlietotas reaģentu kasetnes (Reagent Cartridge, RC) buferšķīduma iedobes tiktu aizvērtas ar atkārtoti lietojamām blīvēlēm. |
| b) Reaģentu kasetnes (RC) uzglabāšana | Glabājot reaģentu kasetni (RC) temperatūrā, kas zemāka par 15°C, var veidoties nogulsnes. |

Nepietiekams ccfDNA iegūtais daudzums

- | | |
|---|---|
| a) Magnētiskās daļiņas netika pilnībā resuspendētas | Pirms procedūras sākšanas pārbaudiet, vai magnētiskās daļiņas ir līdz galam resuspendētas. Pirms lietošanas kratiet vismaz 3 minūtes. Nepilnīga resuspendēšana var izraisīt pipetēšanas kļūdas. |
| b) Pipetes gala nosprostošanās nešķīstoša materiāla dēļ | Pirms QIASymphony SP instrumenta izdalīšanas procedūras sākšanas no parauga nav atdalīts nešķīstošs materiāls. |
| c) Parauga materiāls satur zemu ccfDNA koncentrāciju | ccfDNA koncentrācijas mērījums var būt apgrūtināts atkarībā no izmantotās kvantifikācijas metodes zema ccfDNA daudzuma plazmas paraugos dēļ. |
| d) Nepilnīga reaģentu kasetnes (RC) aizvēršana | ccfDNA koncentrācijas eluēšanas šķīdumos pārbaudei ieteicams izmantot jutīgu qPCR.
Apmaiņa ar apkārtējo gaisu var izraisīt buferšķīdumu stabilitātes samazināšanos, kas savukārt var samazināt tādas ccfDNA ekstrahēšanas efektivitāti, kurā tiek lietota daļēji izmantota reaģentu kasetne (RC). Rūpīgi aizveriet daļēji izlietotas reaģentu kasetnes (Reagent Cartridge, RC) buferšķīduma tvertnes ar atkārtoti lietojamām blīvēlēm, ja tās netiek izmantotas izdalīšanas procedūrā. |

Zema ccfDNA veikspēja pakārtotajās procedūrās

- | | |
|---|--|
| a) Eluāts, kas koncentrēts, izmantojot vakuuma centrifugēšanu | Neveiciet eluāta koncentrēšanu, izmantojot vakuuma centrifugēšanu (piem., SpeedVac® vai līdzīgā instrumentā). Tas var izraisīt noārdīšanos augstas temperatūras un koncentrētu eluāta sāļu dēļ, kas var traucēt pakārtotiem lietojumiem. |
| b) Lodīšu pārnese | Parasti magnētiskās daļiņas netiek pārnestas eluēšanas šķīdumos. Ja pārnese nenotiek, eluēšanas šķīdumos esošās magnētiskās daļiņas neietekmē vairumu pakārtoto procedūru. Ja specifiskām pakārtotām analizēm ir nepieciešamas ļoti liels eluātu daudzums, eluātus var izgriezt un pārnest uz tīru stobriņu. |

Neveikta/nepilnīga parauga pārnese

- | | |
|---|---|
| a) Standarta protokoliem tiek ielādēts nepareizs parauga apjoms | Ja tiek ievietots mazāks parauga tilpums, pastāv paaugstināts neskaidras parauga atzīmēšanas vai neveiktas parauga pārnese risks (nederīga atzīmēšana).
Ievietojiet pareizu parauga tilpumu, kā aprakstīts attiecīgajā protokola lapā un laboratorijas piederumu sarakstā. |
| b) Burbuļi un/vai putas parauga stobriņā | Burbuļi vai putas paraugā un/vai paraugu ievades stobriņā var radīt nepareizu šķīduma līmeņa noteikšanu un pēc tam nepilnīgu parauga pārnese. Izvadiet burbuļus no parauga stobriņa. |

Simboli

Lietošanas instrukcijās vai uz iepakojuma un marķējuma var būt šādi simboli:



Satur pietiekami daudz reaģentu <N> testiem Norāda kopējo IVD testu skaitu, ko var paveikt ar IVD.



Izlietot līdz



In vitro diagnostikas medicīnas ierīce



CE marķējums. Šis produkts atbilst Eiropas Regulas 2017/746 prasībām attiecībā uz *in vitro* diagnostikas medicīnas ierīcēm.



Kataloga numurs



Partijas numurs



Materiāla numurs (piemēram, komponenta marķējums)



Komponenti (piemēram, iekļauto komponentu saraksts)



Saturs (iekļautie komponenti)

NUM

Skaitis (piemēram, flakoni, pudeles)

GTIN

Globālais tirdzniecības identifikācijas numurs (GTIN)

Rn

R attiecas uz lietošanas instrukciju (rokasgrāmatas) versiju, n norāda versijas numuru



Temperatūras ierobežojums



Ražotājs



Skatīt lietošanas norādījumus



Uzmanību!

PROTK

Proteinase K

WELL

Iedaļas numurs (piemēram, RC iedaļa)

REAG | **CART**

Reaģentu kasetne

Sodium azide

Nātrija azīds

Pielikums. ccfDNA kvantificēšana

Ja ccfDNA koncentrācija parauga materiālos ir ļoti zema, nav ieteicams veikt DNS mērījumus ar spektrofotometru. Lai noteiktu ccfDNA koncentrāciju, izmantojiet jutīgu un precīzu fluorescences kvantifikācijas vai real-time PCR analīzi.

Ja magnētiskās daļiņas nav atdalītas, stobriņu, kas satur DNS, apstrādājiet piemērotā magnētiskajā separatorā (piem., QIAGEN 12-Tube Magnet, kat. Nr. 36912), līdz magnētiskās daļiņas ir atdalītas.

Ja DNS ir mikroplašu veidā, mikroplati apstrādājiet piemērotā magnētiskajā separatorā (piem., QIAGEN 96-Well Magnet Type A, kat. Nr. 36915), līdz magnētiskās daļiņas ir atdalītas. Ja piemērots magnētiskais separators nav pieejams, centrifugējiet stobriņu, kas satur DNS, mikrocentrifūgā 1 minūti pilnā ātrumā, lai granulētu visas atlikušās magnētiskās daļiņas.

Informācija par pasūtīšanu

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Iekļautas 2 reaģentu kasetnes (RC) un Proteinase K stobriņi un piederumi	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 stobriņi: 16 × 100 mm, 1,5 ml piedeva, 10 ml asins ņemšanas tilpums	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	QIASymphony parauga sagatavošanas modulis, 1 gada garantija daļām un darbam	9001297
Saisītie QIAGEN produkti		
Proteinase K (10 ml)	1 x 10 ml pudele	19133
Reagent Cartridge Holder (2)	RC turētājs lietošanai ar QIASymphony SP instrumentu	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Dzesēšanas adapteris 2 ml stobriņiem ar skrūvējamu vāku. Lietošanai QIASymphony SP instrumenta nodalījumā "Eluate" (Eluāts)	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Dzesēšanas adapteris EMT statīviem. Lietošanai QIASymphony SP instrumenta nodalījumā "Eluate" (Eluāts)	9020730

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Dzesēšanas adapteris 1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock stobriņiem. Lietošanai QIASymphony SP instrumenta nodalījumā "Eluate" (Eluāts)	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8 iedaļu parauga sagatavošanas kasetnes izmantošanai ar QIASymphony SP instrumentu	997002
8-Rod Covers (144)	8 stieņa pārsegu izmantošanai ar QIASymphony SP instrumentu	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Vienreizējās lietošanas filtra uzgaļi, statīvos; (8 x 128). Lietošanai ar QIAcube® un QIASymphony SP/AS instrumentu	990332
Filter-Tips, 1500 µl, Qsym SP (1024)	Vienreizējās lietošanas filtra uzgaļi, statīvos; (8 x 128). Lietošanai ar QIASymphony SP/AS instrumentu	997024
Tip Disposal Bags (15)	Uzgaļu atkritumu maiši izmantošanai ar QIASymphony SP instrumentu	9013395
12-Tube Magnet	Magnēts magnētisko daļiņu atdalīšanai 12 x 1,5 ml vai 2 ml stobriņos	36912
96-Well Magnet Type A	Magnēts magnētisko daļiņu atdalīšanai 96 iedaļu plates iedaļās, 2 x 96-Well Microplates FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Reuse Seal Set komplekti daļēji izlietotu QIASymphony reaģentu kasetņu (Reagent Cartridge, RC) aizvēršanai	997006

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Nesterili polipropilēna stobriņi (maksimālais tilpums 0,85 ml, glabāšanas tilpums mazāks nekā 0,7 ml, eluēšanas tilpums 0,4 ml); 2304 gab. statīvos pa 96, ieskaitot uzgaļu strēmelītes	19588
Caps for Elution Microtubes (50 x 8)	Eluēšanas mikrostobriņu vāciņi (50 x 8)	19591
14 ml Falcon Tube	Polistirola stobriņš ar noapaļotu apakšu 17 x 100 mm, kas tiek izmantots kā parauga nesējs QIASymphony SP instrumentā	Corning, 352051

Jaunāko informāciju par licencēšanu un preču juridiskās atrunas skatiet attiecīgā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja rokasgrāmatā. QIAGEN komplektu rokasgrāmatas un lietotāja rokasgrāmatas ir pieejamas vietnē www.PreAnalytiX.com and www.qiagen.com vai tās var saņemt, sazinoties ar QIAGEN tehniskā atbalsta centriem vai vietējo izplatītāju.

Dokumenta pārskatīšanas vēsture

Versija	Apraksts
R1, 2021. gada maijs	Sākotnējais izdevums

Pasūtīšana www.qiagen.com/shop | Tehniskais atbalsts support.qiagen.com | Tīmekļa vietne www.qiagen.com vai PreAnalytiX.com