

2021 m. balandis

„QIAAsymphony[®] SP“ instrumento naudojimo instrukcijos (protokolo lapas)

„PreAnalytiX QIAAsymphony PAXgene[®] Blood
ccfDNA Kit“ (CE-IVD) ir „PreAnalytiX PAXgene
Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD; **CE 0123**)

„PAXgene Blood ccfDNA“ IVD protokolai:

„PAXcircDNA _2400“, „PAXcircDNA _4800“, „PAXcircDNA_PrimaryTube_2400“ ir „PAXcircDNA_PrimaryTube_4000“

Bendroji informacija

Skirta *in vitro* diagnostikai.

Rinkinys „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD), naudojamas su „QIASymphony SP“ instrumentu, skirtas cirkuliuojančios neląstelinės DNR (ccfDNR) automatiniam išskyrimui ir išgryninimui iš plazmos, gautos iš žmogaus viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD).

Išgryninimo procedūra optimizuota naudoti su plazma, gauta iš žmogaus viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD). Kraujo paėmimo procedūros instrukcijas žr. mėgintuvėlio „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) naudojimo instrukcijose, pateiktose produkto pagrindiniame puslapyje (www.PreAnalytiX.com).

Automatiniam ccfDNR išskyrimui iš plazmos, gautos iš žmogaus viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD), buvo nustatyti keturi protokolai. Standartinėse versijose galima pasirinkti 2,4 arba 4,8 ml plazmos mėginio įvesties tūrius. Be to, pirminio mėgintuvėlio tvarkymo protokolai leidžia dėti mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) tiesiai į „QIASymphony SP“ instrumentą. Pirminio mėgintuvėlio tvarkymo protokolai taikomi naudojant 2,4 arba 4,0 ml plazmos mėginio įvesties tūrius (žr. lenteles kituose puslapiuose).

Kiekvienam ccfDNR išskirti naudojamam plazmos tūriui gauti reikalingas atitinkamas mėginio įvesties tūris, įskaitant neveikos tūrį, ir atitinkamas protokolo scenarijus, kaip apibendrinta 1 lentelėje.

1 lentelė. Bendroji rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) naudojimo informacija

Mėginio medžiaga	Žmogaus plazma, gauta iš viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD)			
Rinkinys	„QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD), 192, kat. nr. 768566			
Programinės įrangos versija	5.0 arba naujesnė versija			
Protokolas	Protokolo eilutė	Mėginio įvesties tūris (įsk. neveikos tūrį) (ml)	ccfDNR išskirti naudojamame mėginio tūris (ml)	(Assay Control_) protokolo pavadinimas
	Standartas	2,8	2,4	(ACS_) PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	(ACS_) PAXcircDNA_4800
	Pirminio mėgintuvėlio tvarkymas	pagal pasirinkimo įrankį	2,4	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Paruošti plazmą galima naudojant (A) standartinį dvigubo centrifugavimo protokolą arba (B) naudojant pirminį mėgintuvėlį: tiesioginis vieną kartą atskirai centrifuguotų mėgintuvėlių „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD) apdorojimas „QIASymphony SP“ instrumente.

A) Plazmos paruošimas iš kraujo, taikant standartinius protokolus

1. Centrifuguokite mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) kambario temperatūroje (15–25 °C) 15 minučių 1 600–3 000 × g, naudodami subalansuotą kintamojo kampo centrifugos rotorių. Jei pageidaujama naudoti stabdymą, rekomenduojama taikyti vidutinio lygio stabdymą ir jis turi būti patvirtintas konkrečiai darbo eigai.

Pastaba. Siekdami užtikrinti geriausius rezultatus, prieš centrifuguodami šaldytuve laikytus mėginius, leiskite mėgintuvėliams sušilti iki kambario temperatūros.

2. Pipete perkeltite plazmą į 15 ml centrifugavimo mėgintuvėlį kūgišku dugnu (nepateikiamas), nesujudindami branduolėtos ląstelių frakcijos.
3. Centrifuguokite 15 ml centrifugavimo mėgintuvėlį kūgišku dugnu 10 minučių kambario temperatūroje (15–25 °C) 1 600–3 000 × g, naudodami subalansuotą centrifugą.

Pastaba. Neviršykite antrinio mėgintuvėlio gamintojo didžiausio rekomenduojamo centrifugavimo greičio.

4. Pipete perkeltite reikiamą plazmos tūrį (žr. skyrių „Mėginio tūris“ 6 psl.) į 14 ml, 17 x 100 mm polistireno mėgintuvėlį apvaliu dugnu, nesujudindami, jei yra, likusių kraujo ląstelių granulių.
5. Mėgintuvėlį apvaliu dugnu su plazmos mėginiu perkeltite į mėgintuvėlių laikiklį ir įdėkite mėgintuvėlių laikiklį į „QIASymphony SP“ instrumento mėginių stalčių.

Pastaba. Norėdami gauti didžiausią ccfDNR išeigą, apdorokite didžiausią turimą plazmos tūrį.

Pastaba. Saugokitės, kad plazmos mėginiuose ar ant jų nesusidarytų putų. Dėl putų arba oro burbuliukų mėginiuose gali būti įsiurbtas klaidingas mėginio tūris.

Pastaba. Atlikus kraujo paėmimą ir centrifugavimą, plazmą galima laikyti 2–8 °C temperatūroje ne ilgiau nei 7 dienas. Jei reikia laikyti ilgiau, rekomenduojame užšaldyti alikvotines dalis.

Pastaba. Naudojant anksčiau laikytus užšaldytus plazmos mėginius (pvz., laikytus 2–8 °C arba užšaldytus –20 arba –70 °C/–80 °C temperatūroje), prieš pradėdant tyrimą, juos reikia palikti sušilti iki kambario temperatūros (15–25 °C).

B) plazmos paruošimas iš kraujo, naudojant pirminiame mėgintuvėlyje „QIASymphony SP“ instrumente

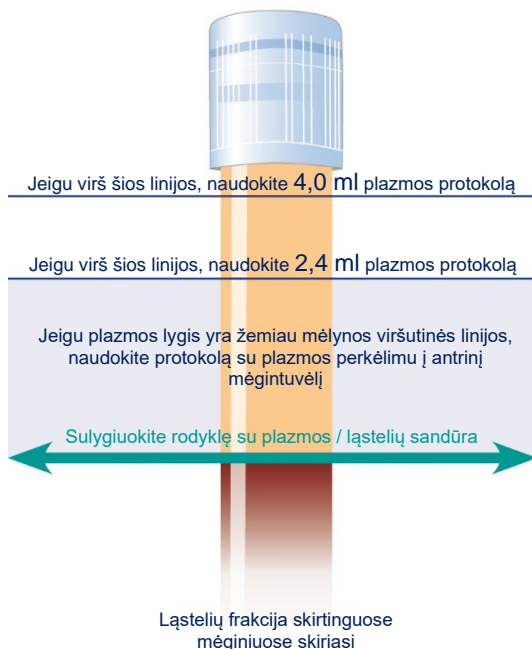
1. Centrifuguokite mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) kambario temperatūroje (15–25 °C) 15 minučių $3\ 000 \times g$, naudodami subalansuotą kintamojo kampo centrifugos rotorių. Jei pageidaujama naudoti stabdymą, rekomenduojama taikyti vidutinio lygio stabdymą ir jis turi būti patvirtintas konkrečiai darbo eigai.

Pastaba. Siekdami užtikrinti geriausius rezultatus, prieš centrifuguodami šaldytuve laikytus mėginius, leiskite mėgintuvėliams sušilti iki kambario temperatūros.

2. Išėmę iš centrifugos rotoriaus, nustatykite plazmos tūrį kiekviename mėgintuvėlyje naudodami įrankį „PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool“, pateiktą rinkinyje (1 pav.). Išėmus mėgintuvėlį iš centrifugos, tamsiai mėlyna įrankio rodyklė sulygiuojama ties plazmos / ląstelių sandūra. Mėlynos linijos rodo, ar plazmos lygis pakankamas norint taikyti 2,4 arba 4,0 ml pirminio mėgintuvėlio naudojimo protokolą. Norint naudoti 2,4 ml protokolą, plazmos stulpelio aukštis turi būti mažiausiai 2,3 cm, o norint naudoti 4,0 ml protokolą – mažiausiai 3,4 cm aukšči.



Nustatykite optimalų mėgintuvėlių „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD) apdoravimo tiesiogiai „QIASymphony SP“ instrumente protokolą



1 pav. Plazmos tūrio nustatymas naudojant protokolo pasirinkimo įrankį „PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool“ (tik iliustravimo tikslais; nespausdinkite, nes faktinis dydis skiriasi – neskirta naudoti su mėginiais).

Pastaba. Jeigu plazmos ir ląstelių frakcija aiškiai neatsiskyrė arba fazės buvo netyčia sumaišytos išimant iš centrifugos, centrifugavimą reikia pakartoti.

3. Išskirdami ccfDNR tiesiogiai, prieš įdėdami į „QIASymphony SP“ instrumentą, nuimkite „Hemogard“ dangtelį nuo mėgintuvėlių „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD).
4. Atidengtus mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD) su pakankamu plazmos kiekiu įstatykite į mėgintuvėlių laikiklį ir įdėkite mėgintuvėlių laikiklį į „QIASymphony SP“ instrumento mėginių stalčių.

Mėginio tūris

Siekiant užtikrinti, kad įprastos darbo eigos metu instrumentas perkeltų 2,4 ml („PAXcircDNA_2400“ protokolas) ir 4,8 ml mėginio („PAXcircDNA_4800“ protokolas), reikalingas atitinkamai 0,4 ir 0,5 ml neveikos tūris, t. y. reikia įdėti atitinkamai mažiausiai 2,8 ir 5,3 ml mėginio. Jeigu turimas plazmos tūris mažesnis nei 2,8 arba 5,3 ml, integruotasis protokolo režimas „Less Sample“ (mažesnis mėginys) leidžia perkelti mažesnius nei nurodyti plazmos tūrius. Tokiu atveju instrumentas perkelia mažiau mėginio ir perkeltas tūris dokumentuojamas rezultatų faile. Be to, atitinkami mėginiai pažymimi kaip „neaiškūs“ (klaidos kodas 140043, režimas „**Enable Less Sample**“ (įgalinti mažesnį mėginį). Mažiausias plazmos įvesties tūris, kad būtų galima įgalinti režimą „**Less Sample**“ (mažesnis mėginys), yra 1,6 ml („PAXcircDNA 2400“ protokolas) ir 4,1 ml („PAXcircDNA 4800“ protokolas). Mėginiai nebus apdorojami ir bus pažymėti „netinkami“, jeigu bus perkeltas mažesnis mėginio tūris. Pirminio mėgintuvėlio tvarkymo darbo eigos metu tinkamas mėginio tūris užtikrinamas naudojant protokolo pasirinkimo įrankį „PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool“, kuris pateikiamas rinkinyje ir aprašytas skyriuje „B) Plazmos paruošimas iš kraujo, naudojant pirminiame mėgintuvėlyje „QIASymphony SP“ instrumente“ 4 psl.

„Sample“ (mėginių) stalčius

2 lentelė. Mėginių stalčiaus nustatymo informacija*

Mėginio tipas	Žmogaus plazma, gauta iš viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD)
Mėginio įvesties tūris (įsk. neveikos tūrį)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Žr. protokolo pasirinkimo įrankį „PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool“ (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Žr. protokolo pasirinkimo įrankį „PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool“ (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Pirminiai mėginių mėgintuvėliai	„10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)16 x 100 mm“ (BD™, kat. nr. 768165)
Antriniai mėginių mėgintuvėliai	14 ml 17 x 100 mm polistireno apvaliadugniai mėgintuvėliai („Corning®“, kat. nr. 352051)
Įdėklai	Nėra
Kita	Proteinazė K reikalinga 14 ml 17 x 100 mm polistireno apvaliadugniams mėgintuvėliams („Corning“, kat. nr. 352051); naudokite tik 1 ir 2 mėgintuvėlių laikiklio pozicijas (A lizdas)

* Taip pat žr. laboratorinių reikmenų sąrašą skirtuke „Product Resources“ (Produktų ištekliai) www.qiagen.com.
Nėra, netaikoma.

Mėgintuvėliai mėgintuvėlių laikikliui

3 lentelė. Mėgintuvėlių laikiklio nustatymo informacija*

Pavadinimas jutikliniame ekrane	Tiekėjas	Medžiaga	Pavyzdžio kat. nr.	Įdėklas	PAXcirc DNA_2400	PAXcirc DNA_4800	PAXcircDNA_Primary Tube_2400	PAXcircDNA_PrimaryTube_4000
BD nr. 352051 FalconPP 17 x 100	„Coming“†	14 ml Falcon® polystyrene round- bottom tube 17 x 100 mm	352051	Įdėklas nereika- lingas	2,8 ml‡ 1,6 ml‡§ (režimas „Enable Less Sample“ (įgalinti mažesnj mėginij))	5,3 ml‡ 4,1 ml‡§ (režimas „Enable Less Sample mode“ (įgalinti mažesnj mėginij))	Nėra	Nėra
BD nr. 768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm	768165	Įdėklas nereika- lingas	Nėra	Nėra	Žr. protokolo pasirinkimo įrankį „PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool“	

* Taip pat žr. laboratorinių reikmenų sąrašą skirtyje „Product Resources“ (Produktų ištekčiai) www.qiagen.com.

† Anksčiau tiekė BD.

‡ Minimalus mėginio tūris, reikalingas mėginiui protokole (įskaitant neveikos tūrį); galimas krešulio aptikimas.

§ Sumažintas minimalus mėginio tūris naudojant režimą „Enable Less Sample“ (įgalinti mažesnj mėginij). **Režimas „Enable Less Sample“** (įgalinti mažesnj mėginij) buvo sukurtas, kad būtų galima naudoti visą turimą skystį kartu su skysčio lygio aptikimo ir krešulių aptikimo funkcijomis. Veikiant režimui „Enable Less Sample“ (įgalinti mažesnj mėginij), mėginiai pažymimi kaip „neaiškūs“.

Nėra, netaikoma.

„Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčius

A1 ir (arba) A2 vieta	Reagentų kasetė
B1 vieta	Nėra
Antgalių stovėlio laikiklis, 1–17	Vienkartiniai filtrų antgaliai, 200 µl arba 1 500 µl
Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Elementų dėžutės su mėginių paruošimo kasetėmis arba „8-Rod Covers“

Nėra = netaikoma.

„Waste“ (atliekų) stalčius

Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Tuščios elementų dėžutės
Atliekų maišelio laikiklis	Atliekų maišelis
Skystųjų atliekų butelio laikiklis	Tuščias skystųjų atliekų butelis

„Eluate“ (eliuato) stalčius

Tiekėjas	Medžiaga	Pavyzdžio kat. nr.	Kategorija	Pavadinimas jutikliniame ekrane	1 eliuavimo skyrelio adapteris (aušinamas)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Pateikiama su rinkiniu (19588)	Deep Well	QIA#19588* EMTR	Elution Microtube Rack QS
„Eppendorf®“	1.5 ml DNA LoBind® Tube	0030108.051	Tube, 1.5 ml	EP#0030108.051** T1.5 Snap Cap	Snap-Cap Microtube
„Sarstedt®“	1.5 ml Microtube, PP, non-skirted	72607	Tube, 1.5 ml/ Tube, 1.5 ml Adapter V1 (no BC)	SAR#72.607* T1.5 Screw/SAR#72.607** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS
„Sarstedt“	2.0 ml Microtube, PP, non-skirted	72693	Tube 2.0 ml/ Tube_2.0ml AdapterV1 (no BC)	SAR#72.693 *T2.0 Screw	Microtube Screw Cap QS
„Starlab®“	1.5 ml Microtube, graduated conical tube, non-skirted	E1415-2231	Tube, 1.5 ml/ Tube_1.5ml AdapterV1 (no BC)	SL#E1415-2231 *T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS, 24-wells, cat. no. 9020674 (1 aušinamas lizdas)
				SL#E1415-2231 **T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (1 aušinamas lizdas)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1.5/2.0 ml QS (2–4 neaušinami lizdai)

* Žymi laboratorinius reikmenis, kuriuos galima vėsinti naudojant vėsavimo adapterį su brūkšniu kodu (perkeliama ir naudojama „QIASymphony AS“).

** Žymi laboratorinius reikmenis, kuriuos galima vėsinti naudojant vėsavimo adapterį be brūkšninio kodo (neperkeliama ir nenaudojama „QIASymphony AS“).

Reikalingos plastikinės priemonės

Plastiko gaminiai	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Viena partija, 24 mėginiai*	Dvi partijos, 48 mėginiai*	Viena partija, 24 mėginiai*	Dvi partijos, 48 mėginiai*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	24	48	24	48
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	64	128	104	200
Sample prep cartridges§	15	30	18	36
8-Rod Covers¶	3	6	3	6
	Trys partijos, 72 mėginiai*	Ketrios partijos, 96 mėginiai*	Trys partijos, 72 mėginiai*	Ketrios partijos, 96 mėginiai*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	72	96	72	96
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	192	256	296	392
Sample prep cartridges§	45	60	54	72
8-Rod Covers¶	9	12	9	12

* Jei partijoje naudojami mažiau nei 24 mėginiai, sumažėja tyrimui reikalingų vienkartinį filtrų antgalių skaičius. * Jei atliekamas daugiau nei vienas atsargų žvalgymas, reikia papildomų vienkartinį filtrų antgalių.

† Antgalių stovelyje yra 32 filtrų antgaliai.

‡ Reikalingų filtrų antgalių skaičius apima filtrų antgalius, reikalingus vienai reagentų kasetei atliekant 1 reikmenų nuskaitymą.

§ Elementų dėžutėje yra 28 mėginių paruošimo kasetės.

¶ Elementų dėžutėje yra dvylika „8-Rod Covers“.

Pastaba. Pateiktas filtrų antgalių skaičius gali skirtis nuo jutikliniame ekrane rodomų skaičių; tai priklauso nuo parametrų. Rekomenduojame įdėti didžiausią galimą antgalių skaičių.

Eliuavimo tūris

Pasirinktas eliuavimo tūris (µl)*	Pradinis eliuavimo tūris (µl)†
60	75

* Tai yra mažiausias pasiekiamas eliuato tūris paskutiniame eliuavimo mėgintuvėlyje, naudojant QIAGEN EMT stovėlį (kat. nr. 19588) ir 1,5 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlius su užsukamais kamšteliais (kat. nr. 72.607). Atskirais atvejais atskiro mėginio galutinis eliuato tūris gali būti iki 5 µl mažesnis.

† Pradinis eliuavimo buferinio tirpalo tūris yra reikalingas tam, kad faktinis eliuato tūris sutaptu su pasirinktu tūriu.

Proteinazės K paruošimas A lizdo 1 pozicijoje (ir, jei reikia, 2 pozicijoje)

Rinkinyje „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) yra paruoštas naudoti Proteinazės K tirpalas. Proteinazę K galima laikyti kambario temperatūroje (15–25 °C). Norint laikyti ilgą laiką, siūlome laikyti fermento buteliukus su proteinaze K 2–8 °C temperatūroje.

Mėginio numeris	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†

* Kiekvienam mėginiui reikia 110 µl (2 400 µl plazmos) arba 220 µl (4 800/4 000 µl plazmos) ir papildomo 1 100 µl [(n x 110 arba 220 µl) + 1 100 µl] neveikos tūrio.

† Jeigu reikia daugiau nei 11 660 µl, naudokite antrą mėgintuvėlį („Corning“, kat. nr. 352051). Antrajam mėgintuvėliui reikia 1 100 µl papildomo neveikos tūrio.

Pastaba. Mėgintuvėliai su proteinaze K įdedami į mėgintuvėlių laikiklį. Mėgintuvėlių laikiklį su proteinaze K reikia įstatyti į mėginių stalčiaus A lizdo 1 ir 2 pozicijas. Proteinazei K rekomenduojame naudoti 14 ml 17 x 100 mm polistireno apvaliadugnius mėgintuvėlius („Corning“, kat. nr. 352051)

Peržiūros istorija

Data	Keitimai
R1, 2021-04	Pradinis leidimas.
R2, 2021-04	Įprasto formato tekste „(CE 0123)“ pakeista toliau nurodytais IVDR X priedo dizaino reikalavimais

Naujausia informacija apie licencijavimą ir tam tikrų gaminių garantinių įsipareigojimų ribojimą pateikta atitinkamame QIAGEN rinkinio vadove arba naudotojo vadove. QIAGEN rinkinių vadovai arba naudotojo vadovai pasiekiami svetainėje www.qiagen.com arba galite jų paprašyti QIAGEN techninės priežiūros skyriaus ar vietinio platintojo.

Prekių ženklai: QIAGEN®, „Sample to Insight®“, „QIAamp®“, „QIAasymphony®“ („QIAGEN Group“); „PAXgene®“ („PreAnalytiX GmbH“); BD™ („Becton Dickinson and Company“); „Corning®“, „Falcon®“ („Corning, Inc.“); „Eppendorf®“, „LoBind®“ („Eppendorf AG“); „Sarstedt®“ („Sarstedt AG and Co.“); „Starlab®“ („Starlab International GmbH“). Šiame dokumente vartojami registruotieji pavadinimai, prekių ženklai ir kt., net jei jie specialiai nepamėti, vis tiek yra saugomi įstatymų.

2021-04 HB-2866-S01-002 © QIAGEN, 2021. Visos teisės saugomos.

Užsakymas www.qiagen.com/shop | Techninė pagalba support.qiagen.com | Svetainė www.qiagen.com