

2021 m. gegužė

# Rinkinio „QIASymphony<sup>®</sup> PAXgene<sup>®</sup> Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) naudojimo instrukcijos (vadovas)



192

1 versija



Skirta in vitro diagnostikai



768566



„PreAnalytiX GmbH“, Feldbachstrasse, CH-8634  
Hombrechtikon, Šveicarija



1123518LT



A QIAGEN / BD Company

Prekių ženklai: „PAXgene<sup>®</sup>“, „PreAnalytiX<sup>®</sup>“ („PreAnalytiX GmbH“); QIAGEN<sup>®</sup>, „QIAcube<sup>®</sup>“, „QIASymphony<sup>®</sup>“ („QIAGEN Group“); „Corning<sup>®</sup>“, „Falcon<sup>®</sup>“ („Corning, Inc.“); „Eppendorf<sup>®</sup>“ („Eppendorf AG“); „SpeedVac<sup>®</sup>“ („Thermo Fisher Scientific“ arba antrinės įmonės). Šiame dokumente naudojami registruotieji pavadinimai, prekių ženklai ir kt., net jeigu jie specialiai nepažymėti, yra saugomi įstatymų.

#### **Ribotoji licencinė sutartis dėl rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“**

Naudodamas šį gaminį, pirkėjas arba naudotojas sutinka su toliau aprašytais sąlygomis.

1. Gaminį galima naudoti tik vadovaujantis protokolais, pateiktais su šiuo gaminiu, šiuo vadovu ir tik su rinkinyje esančiais komponentais. Bendrovė „PreAnalytiX<sup>®</sup>“ nesuteikia jokios intelektinės nuosavybės licencijos naudoti ar integruoti šio rinkinio komponentus kartu su jame nesančiais komponentais, išskyrus, jeigu tai numatyta su šiuo gaminiu pateikiamuose protokoluose, šiame vadove ir papildomuose protokoluose, skelbiamuose interneto svetainėse [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ir [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).
2. Jeigu aiškiai nenurodyta licencijose, bendrovė „PreAnalytiX“ nesuteikia garantijos, kad šis rinkinys ir (arba) jo naudojimas nepažeis trečiųjų šalių teisių.
3. Rinkiniui ir jo komponentams suteikta licencija naudoti vieną kartą; pakartotinai naudoti, atnaujinti ar perparduoti negalima.
4. „PreAnalytiX“ aiškiai atsisako bet kokių kitų išreikštų ar numanomų licencijų, išskyrus aiškiai nurodytas licencijas.
5. Rinkinio pirkėjas ir naudotojas sutinka nesiimti ir neleisti niekam kitam imtis veiksmų, kurie galėtų paskatinti arba palengvinti anksčiau nurodytus draudžiamus veiksmus. Bendrovė „PreAnalytiX“, pateikusi ieškinį dėl šios ribotos licencinės sutarties vykdymo arba su šiuo rinkiniu ir (arba) jo komponentais susijusių intelektinės nuosavybės teisių, gali priversti vykdyti šios ribotos licencinės sutarties draudimus bet kuriame teisme ir atgauti visas tyrimo ir teismo išlaidas, įskaitant išlaidas advokatams.

Atnaujintos licencijos sąlygos skelbiamos interneto svetainėse [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ir [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

HB-2666-001 1123518 © „PreAnalytiX GmbH“, 2021. Visos teisės saugomos.

# Turinys

Numatytoji paskirtis .....	5
Numatytieji naudotojai .....	5
Aprašymas ir veikimo principas .....	6
<b>Santrauka ir paaiškinimas .....</b>	<b>6</b>
Procedūros principai .....	7
Pateikiamos medžiagos .....	9
<b>Rinkinio turinys .....</b>	<b>9</b>
Būtinės, bet nepateikiamos priemonės .....	11
<b>Įranga .....</b>	<b>11</b>
Įspėjimai ir atsargumo priemonės .....	12
<b>Saugos informacija .....</b>	<b>12</b>
<b>Atsargumo priemonės .....</b>	<b>13</b>
Reagentų laikymas ir naudojimas .....	15
<b>Rinkinio komponentai .....</b>	<b>15</b>
Mėginių paėmimas ir paruošimas .....	17
Procedūra .....	21
<b>Apžvalga: ccfDNR automatinis gryninimas prietaisu „QIASymphony SP“ .....</b>	<b>21</b>
<b>Protokolo apžvalga .....</b>	<b>26</b>
<b>Protokolas: ccfDNR automatinis gryninimas prietaisu „QIASymphony SP“ .....</b>	<b>29</b>
Kokybės kontrolė .....	32
Apribojimai .....	32
Trikčių šalinimo vadovas .....	33
Simboliai .....	35

Priedas: ccfDNA kiekybinis įvertinimas.....	37
Užsakymo informacija .....	38
Dokumento peržiūrų istorija.....	40

## Numatytoji paskirtis

Rinkinys „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD), naudojamas su prietaisu „QIASymphony SP“, 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).

Rinkinyje „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) naudojama magnetinių dalelių technologija, skirta ccfDNR iš žmogaus plazmos automatiškai išskirti ir išgryninti.

Rinkinys „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) skirtas in vitro diagnostikai; jį gali naudoti specialistai, pavyzdžiui, technikai ir gydytojai, išmokyti taikyti molekulinės biologijos metodus.

## Numatytieji naudotojai

Šis rinkinys skirtas naudoti specialistams.

Šį gaminį gali naudoti tik darbuotojai, susipažinę su molekulinės biologijos metodais ir konkrečiai išmokyti juos taikyti.

# Aprašymas ir veikimo principas

## Santrauka ir paaiškinimas

Cirkuliuojanti neląstelinė DNR (ccfDNA) plazmoje aptinkama kaip trumpi fragmentai (<1000 bp). Įprastai ccfDNR koncentracija plazmoje yra maža (gali svyruoti nuo 1 iki 100 ng/ml) ir labai priklauso nuo kiekvieno žmogaus. CE pažymėtas mėgintuvėlis „PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) kartu su rinkiniu „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) yra standartizuotos darbo eigos priemonės kraujui paimti, laikyti ir gabenti, DNR uždarame mėgintuvėlyje stabilizuoti, paskui ccfDNR iš žmogaus plazmos išskirti ir išgryninti, naudojant prietaisą „QIAGEN® QIASymphony SP“.

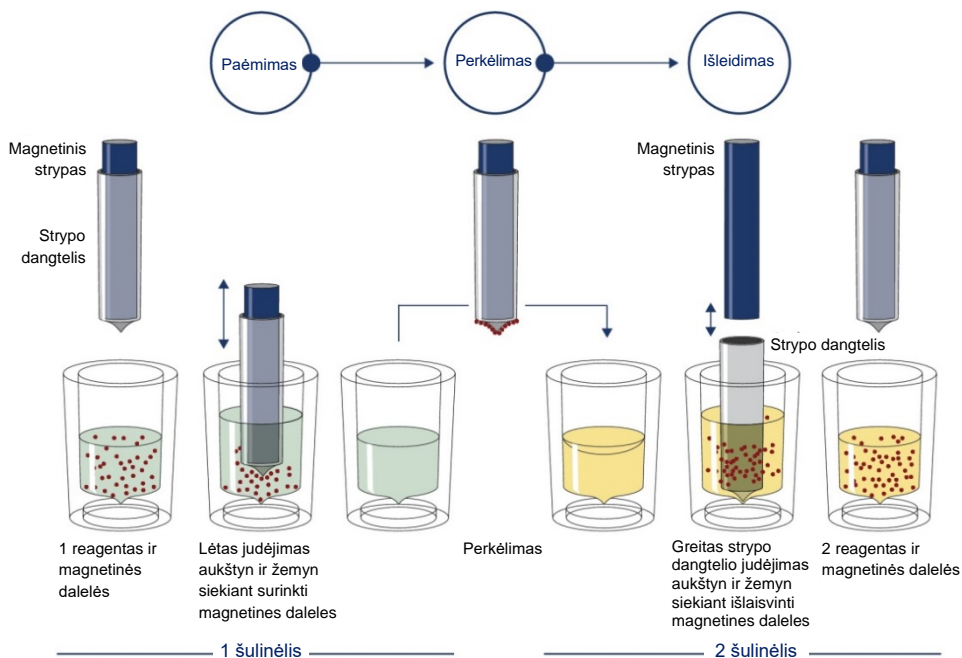
Prietaiso „QIASymphony SP“ protokolai pateikiami ccfDNR išskirti iš 2,4 ml ir 4,8 ml plazmos, gaunamos iš mėgintuvėlių „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) dvigubai centrifuguojant. Plazma perkeliama ir apdorojama antriniame mėgintuvėlyje prietaisu „QIASymphony SP“.

Arba pirminių mėgintuvėlių tvarkymo protokolai naudojant prietaisą „QIASymphony SP“ pateikiami įvedamam 2,4 ml ir 4 ml plazmos tūriui. Šiuo atveju nereikia centrifuguoti antrą kartą arba perkelti plazmos į antrinį mėgintuvėlį.

Rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ magnetinių dalelių technologija suteikia galimybę išgryninti kokybišką ccfDNR, kurioje nėra baltymų, nukleazių ir kitų priemaišų. Prietaisu „QIASymphony SP“ atliekami visi išgryninimo procedūros veiksmi. Vieno ciklo metu galima apdoroti iki 96 mėginių, suskirstytų partijomis po 24. Kaip išskirti genominę DNR (gDNR) iš branduolėtos kraujo, paimto į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) prietaisu „QIASymphony SP“, ląstelių frakcijos, aprašyta mėgintuvėlio „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) naudojimo instrukcijose ([www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com)).

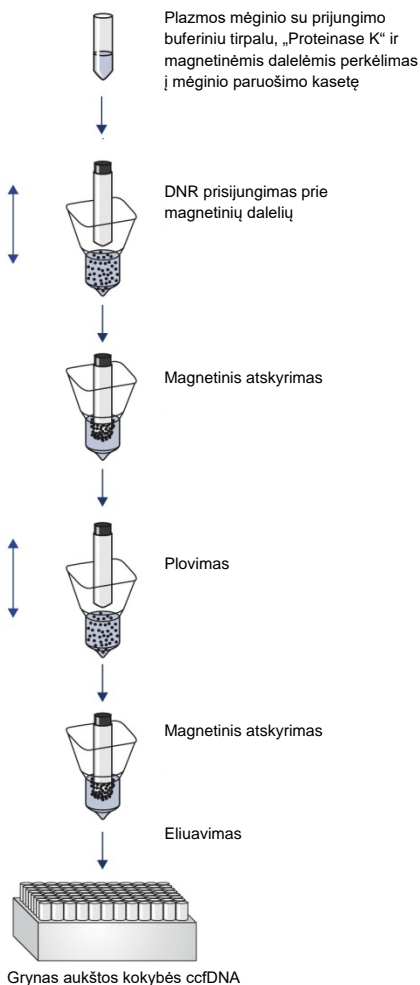
# Procedūros principai

Prietaiso „QIASymphony SP“ technologijoje derinamas anijonų mainų pagrindu atliekamo nukleorūgščių gryninimo greitis, efektyvumas ir patogus magnetinių dalelių naudojimas (1 pav.). Gryninimo procedūra sukurta taip, kad užtikrintų saugų ir atkuriamą potencialiai užkrečiamų mėginių naudojimą; ji apima 3 etapus: prijungimą, plovimą ir eliuavimą (2 pav.). Naudotojai gali pasirinkti skirtingą įvedamų mėginių tūrį.



**1 pav. Prietaiso „QIASymphony SP“ veikimo principo schema.** Mėginį, kuriame yra magnetinių dalelių, prietaisas „QIASymphony SP“ apdoroja taip: dangteliu apsaugotas magnetinis strypas įleidžiamas į šulinėlį, kuriame yra mėginio, ir pritraukia magnetines daleles. Magnetinio strypo dangtelis nustatomas virš kito šulinėlio, ir magnetinės dalelės paleidžiamos. Apdorojant mėginius šie veiksmai kartojami kelis kartus. Prietaisas „QIASymphony SP“ naudoja magnetinę galvutę su 24 magnetinių strypų rinkiniu, taigi vienu metu galima apdoroti iki 24 mėginių.

## Rinkinys „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“



**2 pav. ccfDNA išskyrimo etapai naudojant rinkinį „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD).** ccfDNA fragmentai išskiriami iš plazmos, gautos iš žmogaus viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD). Apdorojimo etape plazmos baltymus suskaido „Proteinase K“, tuo tarpu ccfDNR prisijungia prie magnetinių dalelių paviršiaus. Trimis plovimo etapais užtikrinama, kad būtų pašalintos priemaišos. Galiausiai iš magnetinių dalelių eliuojama ccfDNR, kurią galima naudoti tolesniems tyrimams.



# Pateikiamos medžiagos

## Rinkinio turinys

Rinkinys „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD)				
Katalogo nr.		(192) 768566		
Reakcijų skaičius		192		
Santrumpa	Identifikatorius	Kiekis	Veikliosios medžiagos	Koncentracija [%]**
RC	„Reagent cartridge“ (reagentų kasetė)**†	2	Nejoninis ploviklis Anijonų mainų magnetinės dalelės NaOH Etanolis	≥0,5–<10 [w/w] Netaikoma ≥0,05–<0,1 [w/w] ≥70–<90 [v/v]
PROTK	„Proteinase K“ (proteinazė K)†	5 x 10 ml	„Proteinase K“	≥1 – <3 % [w/w]
PL	Piercing lid (Pradūrimo dangtelis)	2	—	Netaikoma
RSS	„Reuse Seal Set“ (daugkartinis sandarinimo rinkinys)‡	2	—	Netaikoma
	„Elution Microtubes CL“ stovelyje#	2	—	Netaikoma
	Caps for Elution Microtubes (Eliuavimo mikromėgintuvėlių dangteliai)#	1 x (55 x 8)	—	Netaikoma
	Naudojimo instrukcijos (vadovas)	1	—	Netaikoma
	„PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool“ (kraujo ccfDNR gryninimo protokolo parinkimo įrankis „PAXgene“)	1	—	Netaikoma

\* Sudėtyje yra konservanto natrio azido.

† Simbolių ir apibrėžčių sąrašas pateikiamas 35 psl.

‡ Rinkinį „Reuse Seal Set“ sudaro 8 sandarinimo pakartotinai naudojant juostelės.

# Galima įsigyti atskirai, žr. Užsakymo informacija.

\*\*Maksimali koncentracija viename šulinėlyje.

# Būtinios, bet nepateikiamos priemonės

Dirbdami su cheminėmis medžiagomis ir biologiniais mėginiais, visada paisykite visuotinių atsargumo priemonių ir, vadovaudamiesi savo įstaigos tvarka ir procedūromis, dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, vienkartinės pirštines ir apsauginius akinius. Daugiau informacijos rasite atitinkamuose saugos duomenų lapuose (SDL), juos galite gauti iš gaminio tiekėjo.

Įsitikinkite, kad prietaisai patikrinti ir sukalibruoti pagal gamintojo rekomendacijas.

- „Sample Prep Cartridges, 8-well“ (QIAGEN, kat. nr. 997002)
- „8-Rod Covers“ (QIAGEN, kat. nr. 997004)
- „Filter-Tips, 200 µl and 1500 µl“ (QIAGEN, kat. nr. atitinkamai 990332 ir 997024)
- „Tip disposal bags“ (QIAGEN, kat. nr. 9013395)
- „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD) („PreAnalytiX“, kat. nr. 768165)
- Mėgintuvėliai. Suderinamus pirminių ir antrinių mėgintuvėlių formatus rasite laboratorijų reikmenų sąrašė, pateikiamame interneto svetainės **www.qiagen.com** gaminio puslapio kortelėje „Product Resources“ (gaminų ištekčiai).
- Suderinamus eliuavimo mėgintuvėlių formatus rasite laboratorijų reikmenų sąrašė, pateikiamame interneto svetainės **www.qiagen.com** gaminio puslapio kortelėje „Product Resources“ (gaminų ištekčiai).

## Įranga\*

- Pipetė (5 ml)
- Prietaisas „QIASymphony SP“ (QIAGEN, kat. nr. 9001297)

\* Prieš naudodami įsitikinkite, kad visi prietaisai buvo patikrinti ir sukalibruoti pagal gamintojo rekomendacijas.

# Įspėjimai ir atsargumo priemonės

Skirta in vitro diagnostikai.

Prieš naudodami rinkinį, atidžiai perskaitykite visas instrukcijas.

Klientai Europos Sąjungoje privalo apie rimtus incidentus, susijusius su šiuo prietaisu, pranešti gamintojui ir kompetentingajai šalies narės, kurioje yra naudotojas ir (arba) pacientas, institucijai.

## Saugos informacija

Dirbdami su cheminėmis medžiagomis ir biologiniais mėginiais, visada paisykite visuotinių atsargumo priemonių ir, vadovaudamiesi savo įstaigos tvarka ir procedūromis, dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, vienkartinę pirštines ir apsauginius akinius. Daugiau informacijos rasite atitinkamuose saugos duomenų lapuose (SDL). Jie pateikiami PDF formatu internete **[www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)** – čia galite rasti, peržiūrėti ir išspausdinti kiekvieno „PreAnalytiX“ rinkinio ir jo komponentų saugos duomenų lapus (SDL).

- Visos cheminės ir biologinės medžiagos yra potencialiai pavojingos. Mėginiai yra potencialiai užkrečiami ir turi būti naudojami kaip biologiškai pavojingos medžiagos.
- Mėginių ir tyrimų atliekas išmeskite laikydamiesi vietinių saugos procedūrų.

## Atsargumo priemonės

Reagentų kasetėje esančių buferinių tirpalų sudėtyje yra natrio azido. Išlieję rinkinyje esančių buferinių tirpalų, išvalykite tinkamu laboratoriniu plovikliu ir vandeniu. Jeigu išlietame skystyje yra potencialiai užkrečiamų medžiagų, paveiktą vietą iš pradžių nuvalykite laboratoriniu plovikliu ir vandeniu, o paskui 1 proc. (v/v) natrio hipochloritu (balikliu).

Rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ komponentams taikomi toliau nurodyti pavojingumo ir atsargumo teiginiai.

### **MBS3**

Sudėtyje yra natrio azido. Įspėjimas! Gali būti kenksminga prarijus. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

### **„Proteinase K“**



Sudėtyje yra „Proteinase K“. Pavojus! Nestipriai dirgina odą. Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsunkinti kvėpavimą. Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerosolio. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones. Naudoti kvėpavimo takų apsaugos priemones. Esant sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: skambinti į Apsinuodijimų kontrolės ir informacijos biurą arba kreiptis į gydytoją. Išnešti nukentėjusį į gryną orą; jam būtina ramybė ir padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti.

## QSE2



Sudėtyje yra natrio hidroksido. Pavojus! Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. Turinį / talpyklą perduoti patvirtintai atliekų utilizavimo įmonei. **Patekus į akis:** atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. **Patekus ant odos (arba plaukų):** nedelsiant nuvilkti / pašalinti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu / čiurkšle. Nedelsiant skambinti į Apsinuodijimų kontrolės ir informacijos biurą arba kreiptis į gydytoją. Laikyti užrakintą. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

## QSW9



Sudėtyje yra etanolio. Pavojus! Labai degus skystis ir garai. Sukelia smarkų akių dirginimą. Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / žiežirbų / atviros liepsnos / karštų paviršių. Nerūkyti. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

# Reagentų laikymas ir naudojimas

Rinkinį „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) reikia laikyti stačią kambario temperatūroje (15–25 °C). Laikant šioje temperatūroje, reagentų kasetėse esančios magnetinės dalelės lieka aktyvios.

**Pastaba.** Rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) galiojimo terminas nurodytas etiketėje ant jo dėžutės. Galiojimo terminas taikomas reagentų kasetei.

Nenaudokite rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) pasibaigus jo galiojimo terminui.

## Rinkinio komponentai

Rinkinyje „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) yra paruošto naudoti „Proteinase K“ tirpalo, kurį galima laikyti kambario temperatūroje (15–25 °C).

Reagentų kasečių nelaikykite žemesnėje nei 15 °C temperatūroje.

Atidarytas rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) reagentų kasetes galima laikyti kambario temperatūroje (15–25 °C) iki 4 savaičių, o tai užtikrina ekonomiškumą naudojant reagentus pakartotinai ir lankstumą apdorojant mėginius. Išnaudoję ne visą reagentų kasetę, vėl uždėkite lovelio su magnetinėmis dalelėmis dangtelį ir užsandarinkite reagentų kasetę pateiktomis sandarinimo pakartotinai naudojant juostelėmis iš karto po protokolo vykdymo pabaigos, kad išvengtumėte garavimo.

Kad reagentai negaruotų, reagentų kasetę galima laikyti atidarytą ne ilgiau kaip 15 valandų (įskaitant ciklų trukmę) ir ne aukštesnėje kaip 32 °C aplinkos temperatūroje. Netinkamai laikant rinkinio komponentus, gali greičiau pasenti buferiniai tirpalai.

Tiriant nedidelio mėginių skaičiaus partijas (<24) ne tik pailgės laikas, kai reagentų kasetė yra atidaryta, bet ir bus reikalingas didesnis buferinių tirpalų tūris – dėl to gali sumažėti bendras paruoštinių mėginių skaičius naudojant vieną kasetę.

Saugokite reagentų kasetes nuo UV spindulių (pvz., naudojamų dezinfekuojant), nes jų poveikis gali paspartinti reagentų kasečių ir buferinių tirpalų senėjimą.

Reikia atkreipti dėmesį į galiojimo terminus, išspausdintus ant dėžutės ir visų komponentų etikečių. Komponentų, kurių galiojimo terminas baigėsi arba kurie buvo laikomi netinkamai, nenaudokite.



# Mėginių paėmimas ir paruošimas

Išgryninimo procedūra optimizuota naudoti su plazma, gauta iš kraujo, paimto į mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD). Informacijos, kaip imti kraują, tvarkyti šiuos mėgintuvėlius ir paruošti plazmą, rasite „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) naudojimo instrukcijose, pateiktose gaminio puslapio kortelėje „Product Resource“ (gaminio ištekčiai) svetainėje [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ir gaminio puslapio kortelėje „Resources“ (ištekčiai) svetainėje [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

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

## 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 (pirmas centrifugavimas) ir 10 minučių 1 600–3 000 × g (antras centrifugavimas), 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 kambario temperatūroje (15–25 °C) 15 minučių 1 600–3 000 × g (pirmas centrifugavimas) ir 10 minučių 1 600–3 000 × g (antras centrifugavimas), naudodami subalansuotą centrifugą.

**Pastaba.** Neviršykite antrinio mėgintuvėlio gamintojo didžiausio rekomenduojamo centrifugavimo greičio.

4. Pipete perkelkite reikiamą plazmos tūrį (žr. skyrių „Mėginio tūris“ 21 psl.) į 14 ml, 17 x 100 mm polistireno mėgintuvėlį apvaliu dugnu, nesujudindami, jei yra, likusių kraujo laštelių granulių.
5. Mėgintuvėlį apvaliu dugnu su plazmos mėginiu perkelkite į mėgintuvėlių laikiklį ir įdėkite mėgintuvėlių laikiklį į prietaiso „QIASymphony SP“ mėginių stalčių.

**Pastaba.** Norėdami gauti didžiausią ccfDNR išeią, 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.** Paėmus kraują ir atlikus centrifugavimą, „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (IVD) stabilizuoja ccfDNR (ccfDNR profili) plazmoje 2–8 °C temperatūroje iki 7 dienų iki plazmos apdoravimo. 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 pradėdami tyrimą, juos reikia palikti sušilti iki kambario temperatūros (15–25 °C).

## **B) Plazmos paruošimas iš kraujo, naudojant pirminiame mėgintuvėlyje „QIASymphony SP“ prietaise**

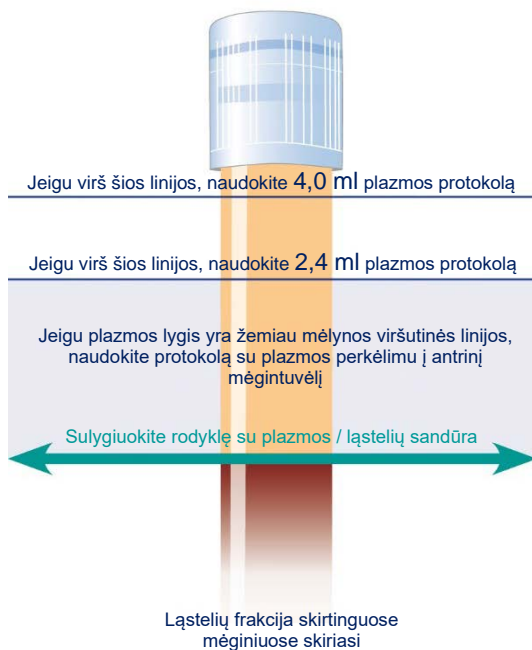
1. Centrifuguokite mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) kambario temperatūroje (15–25 °C) 15 minučių 3 000 x g, naudodami subalansuotą kintamojo kampo centrifugos rotorių. Jei pageidaujama naudoti stabdymą, rekomenduojama taikyti vidutinio lygio stabdymą ir jis turi būti patvirtintas konkrečiai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



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



**3 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.** Jeiigu plazmos ir ląstelių frakcija aiškiai neatsiskyrė arba fazės buvo netyčia sumaišytos išimant iš centrifugos, centrifugavimą reikia pakartoti.

3. Išskirdami ccfDNR tiesiogiai, prieš įdėdami į prietaisą „QIASymphony SP“, nuimkite „Hemogard“ dangtelį nuo mėgintuvėlių „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD).

**Pastaba.** Mėgintuvėlių dangtelius reikia nuimti ir atidarytus mėgintuvėlius tvarkyti atsargiai, siekiant sumažinti mėginio išpylimo, mėgintuvėlių kryžminės taršos ir poveikio kraujui riziką.

4. Atidengtus mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD) su pakankamu plazmos kiekiu įstatykite į mėgintuvėlių laikiklį ir įdėkite mėgintuvėlių laikiklį į prietaiso „QIASymphony SP“ mėginių stalčių.

### **C) Plazmos mėginių, apdorotų mėgintuvėlyje „PAXgene Blood ccfDNA Tube“, užšaldymas ir atšildymas**

1. Norėdami užšaldyti, perkelkite plazmą į tinkamus mėgintuvėlius (pavyzdžiui, kriomėgintuvėlius), sudėtus į tinkamą stovėlį.
2. Plazmą užšaldykite ir laikykite  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Norėdami laikyti žemesnėje nei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, pirmiausia šaldykite plazmos mėginius  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje bent 24 val., tada perkelkite į  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  arba  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūrą.
3. Plazmą atitirpinkite kambario temperatūroje ( $15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

**Pastaba.** Neatitirpinkite žemoje temperatūroje (pavyzdžiui,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

4. Jei plazmoje susidaro krioprecipitatus, atitirpintą mėgintuvėlį maišykite sukuriniu maišytuvu 30 sek. ir naudokite mėginį ccfDNR išskyrimo procedūrai prietaise „QIASymphony SP“ be tolesnio apdorojimo atlikti.

**Pastaba.** Norint pašalinti krioprecipitatus, nerekomenduojama plazmos centrifuguoti, nes juose gali būti ccfDNR.

**Pastaba.** Siekiant išvengti krioprecipitatus susidarymo, plazmą galima atitirpinti  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje 30 min., o ne kambario temperatūroje.

# Procedūra

## Apžvalga: ccfDNR automatinis gryninimas prietaisu „QIASymphony SP“

Prietaisas „QIASymphony SP“ užtikrina paprastą ir patogų automatinį mėginių paruošimą. Mėginiai, reagentai, eksploatacinės medžiagos ir eliuatai atskirai laikomi skirtinguose stalčiuose. Prieš apdorojant tereikia į reikiamus stalčius įdėti mėginius, į specialias kasetes sudėtus reagentus ir į stovėlį sudėtas eksploatacines medžiagas. Paleiskite protokolą, o kai apdorojimas baigsis, išimkite ccfDNR iš stalčiaus „Eluate“ (eliuatas). Darbo instrukcijas rasite su prietaisu pateiktuose naudotojo vadovuose.

**Pastaba.** Pasirinktinė techninė priežiūra nėra būtina, kad prietaisas veiktų, bet primygtinai rekomenduojama ją atlikti ir taip sumažinti užkrėtimo pavojų.

### Mėginio tūris

Siekiant užtikrinti, kad įprastos darbo eigos metu prietaisas 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, režimas „**Less Sample**“ (mažesnis mėginys), integruotoji protokolo funkcija, leidžia automatiškai perkelti mažesnius nei nurodyti plazmos tūrius. Tokiu atveju prietaisas perkelia mažiau mėginio ir perkeltas tūris dokumentuojamas rezultatų faile. Be to, atitinkami mėginiai pažymimi kaip „**neaiškūs**“ (klaidos kodas 140043, režimas „**Enable Less Sample**“ (įgalinti mažesni mėginiai). Mažiausias plazmos įvesties tūris, kad būtų galima įgalinti režimą „**Less Sample**“ (mažesnis mėginys), yra 1,6 ml ir 4,1 ml. Mėginiai nebus apdorojami ir bus pažymėti kaip „**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“, pateikiamą rinkinyje (aprašytą skyriuje „Mėginio medžiagos paruošimas“ 25 psl.).

Reagentų kasetės įdėjimas į stalčių „Reagents and Consumable“ (reagentai ir eksploatacinės medžiagos)

ccfDNR gryninimo reagentai pateikiami inovatyvioje reagentų kasetėje (žr. 4 pav.). Kiekviename reagentų kasetės lovelyje yra tam tikro reagento, pavyzdžiui, magnetinių dalelių, rišamojo buferinio tirpalo, plovimo buferinio tirpalo arba eliuavimo buferinio tirpalo. Iš dalies panaudotas reagentų kasetes galima uždaryti naudojant sandarinimo pakartotinai naudojant juosteles ir naudoti vėliau, taip išvengiama atliekų susidarymo dėl reagentų likučių gryninimo procedūros pabaigoje.



4 pav. „QIASymphony“ reagentų kasetė. Reagentų kasetėje yra visi protokolui vykdyti reikalingi reagentai.

Prieš pradėdami procedūrą įsitikinkite, kad magnetinės dalelės visiškai pakartotinai suspenduotos. Prieš naudodami pirmą kartą, išimkite magnetinių dalelių lovelį iš reagentų kasetės rėmelio, smarkiai purtykite jį bent 3 minutes ir vėl įdėkite į reagentų kasetės rėmelį.

**Pastaba.** Magnetinės dalelės gali pakeisti spalvą. Tai neturi įtakos veikimui.

Įdėkite reagentų kasetę į reagentų kasetės laikiklį. Prieš pirmą kartą naudodami reagentų kasetę, padėkite pradūrimo dangtelį ant reagentų kasetės viršaus (4 pav.).

**Pastaba.** Pradūrimo dangtelis yra aštrus. Dėdami jį ant reagentų kasetės būkite atsargūs. Įsitikinkite, kad pradūrimo dangtelį ant reagentų kasetės padėjote tinkamai atsukę.

Kai nuimamas magnetinių dalelių lovelio dangtelis, reagentų kasetę įdedama į stalčių „Reagents and Consumables“ (reagentai ir eksploatacinės medžiagos).

Iš dalies panaudotas reagentų kasetes galima laikyti, kol vėl reikės (žr. „Reagentų laikymas ir naudojimas“ 15 psl.).

**Pastaba.** Turi būti pridėta „Proteinase K“ (žr. „Ką atlikti prieš pradėdant“ 27 psl.).

**Pastaba.** Įsitikinkite, kad reagentų kasetės, magnetinių dalelių loveliai ir „Proteinase K“ buteliukai nėra sumaišyti tarp skirtingų rinkinio partijų.

Plastikinių reikmenų įdėjimas į stalčių „Reagents and Consumables“ (reagentai ir eksploatacinės medžiagos)

Mėginių paruošimo kasetės, „8-Rod Covers“ (sudėti į dėžutes) ir vienkartiniai filtrų-antgaliai (200 µl antgaliai mėlynuose stoveliuose, 1 500 µl antgaliai pilkuose stoveliuose) dedami į stalčių „Reagents and Consumables“ (reagentai ir eksploatacinės medžiagos).

**Pastaba.** Prieš dėdami dėžutes į stalčių „Reagents and Consumables“ (reagentai ir eksploatacinės medžiagos), įsitikinkite, kad dėžučių dangteliai nuimti.

**Pastaba.** Antgaliuose yra filtrai, padedantys išvengti kryžminio užkrėtimo.

Į antgalių stovelių angas prietaiso „QIASymphony SP“ darbo stale galima dėti abiejų tipų stovelius. Prietaisas „QIASymphony SP“ nustatys įdėtų antgalių tipą nuskaitydamas atsargas.

**Pastaba.** Mėginių paruošimo kasečių arba „8-Rod Covers“ stovelius ar dėžutes pildykite tik pradėdami kitą protokolo vykdymą. Prietaise „QIASymphony SP“ galima naudoti iš dalies panaudotus antgalių stovelius ir dėžutes.

Plastikinių reikmenų užsakymo informaciją rasite 38 psl.

### Stalčiaus „Waste“ (atliekos) pildymas

Apdorojant naudojamos mėginių paruošimo kasetės ir „8-Rod Covers“ iš naujo sudedami į tuščias dėžutes stalčiuje „Waste“ (atliekos). Įsitikinkite, kad stalčiuje „Waste“ (atliekos) pakanka tuščių dėžučių plastikinėms atliekoms, susidarančioms vykdant protokolą.

**Pastaba.** Prieš dėdami elementų dėžutes į stalčių „Waste“ (atliekos) įsitikinkite, kad nuimti dėžučių dangteliai. Jei išnaudotoms mėginių paruošimo kasetėms ir „8-Rod Covers“ rinkti naudojate 8 strypų dangtelių dėžutes, išimkite dėžutės tarpiklį.

Filtrų antgaliams naudojamą maišelį reikia pritvirtinti priekinėje stalčiaus „Waste“ (atliekos) pusėje.

**Pastaba.** Sistema netikrina, ar antgalių išmetimo maišelis pritvirtintas. Būtinai tinkamai pritvirtinkite antgalių išmetimo maišelį prieš pradėdami vykdyti protokolą. Daugiau informacijos rasite su prietaisu pateiktuose naudotojo vadovuose. Kad išvengtumėte antgalių sangrūdų, ištuštinkite antgalių maišelį apdorojant ne daugiau kaip 96 mėginius.

Atliekų talpykloje surenkamos skystos atliekos, susidarančios per gryninimo procedūrą. Stalčių „Waste“ (atliekos) galima uždaryti tik įdėjus atliekų talpyklą į jos vietą. Skystas atliekas utilizuokite vadovaudamiesi vietinėmis saugos ir aplinkos apsaugos taisyklėmis. Neapdorokite užpildyto atliekų buteliuko autoklave. Išpilkite atliekų buteliuką apdorojant ne daugiau kaip 96 mėginius.



## Stalčiaus „Eluate“ (eliuatas) pildymas

Įdėkite reikiamą eliuavimo stovėlį į stalčių „Eluate“ (eliuatas). Ilgai stalčiuje „Eluate“ (eliuatas) laikomi eliuatai gali išgaruoti arba kondensuotis, todėl reikia naudoti aušinimo padėtį. Su atitinkamu aušinimo adapteriu naudokite tik 1 eliuavimo angą.

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 reikalingas tam, kad faktinis eliuato tūris sutaptų su pasirinktu tūriu.

## Atsargų nuskaitymas

Prieš pradėdamas procedūrą prietaisas tikrina, ar į atitinkamus stalčius įdėta tiek eksploatacinių medžiagų, kiek reikia suplanuotai (-oms) partijai (-oms).

## Mėginio medžiagos paruošimas

Žr. „Mėginių paėmimas ir paruošimas“, 17 psl.

## ccfDNR laikymas

Paruošus mėginį, ccfDNR eliuatus galima laikyti –20 arba –80 °C temperatūroje. Užšaldytų eliuatų negalima atitirpinti daugiau nei tris kartus. Naujausią informaciją apie ccfDNR stabilumą eliuatuose rasite gaminio puslapyje svetainėje [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) arba [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

# Protokolo apžvalga

1 lentelė. Protokolo apžvalga

Mėginys	Mėgintuvėlio „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) apdorojimas	Mėginio įvesties tūris (įsk. neveikos tūrį) (ml)	ccfDNR išskirti naudojamas mėginio tūris (ml)	Eliuavimo tūris (µl)	Prietaiso „QIASymphony SP“ protokolas
Plazma, gauta iš žmogaus viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD)	Centrifuguojama 2 kartus, plazma perkeliama į antrinį mėgintuvėlį	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	Centrifuguojama 1 kartą, tiesiogiai apdorojama prietaise „QIASymphony SP“	Pagal pasirinkimo įrankį	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

## Svarbi informacija prieš pradėdant

- Dirbdami su cheminėmis medžiagomis ir biologiniais mėginiais, būtinai dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, mūvėkite vienkartinę pirštines ir užsidėkite apsauginius akinius. Daugiau informacijos rasite atitinkamuose saugos duomenų lapuose (SDL).
- Įsitikinkite, kad žinote, kaip naudoti prietaisą „QIASymphony SP“. Darbo instrukcijas rasite su prietaisu pateiktuose naudotojo vadovuose.
- Prieš pradėdami procedūrą perskaitykite skyrių „Procedūros principai“.
- Įsitikinkite, kad susipažinote su protokolo lapu ir laboratorijų reikmenų sąrašu (galima rasti interneto svetainėje [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) gaminio puslapio kortelėje „Product Resources“ (gaminių ištekčiai).
- Stenkitės nekratyti reagentų kasetės smarkiai, nes gali susidaryti putų, dėl to gali kilti skysčio lygio aptikimo problemų.

- Kraują reikia surinkti į mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD) („PreAnalytiX“, kat. nr. 768165). Kraujo paėmimo ir tvarkymo ir plazmos apdoravimo instrukcijas rasite naudojimo instrukcijose, pateiktose kortelėse „Product Resources“ (gaminių ištekliai) ir „Resources“ (ištekliai) gaminio puslapyje interneto svetainėje [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) arba [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

### Ką atlikti prieš pradėdant

- Prieš pradėdami procedūrą įsitikinkite, kad magnetinės dalelės visiškai pakartotinai suspenduotos. Prieš naudodami pirmą kartą smarkiai purtykite lovelį su magnetinėmis dalelėmis bent 3 min.
- Įsitikinkite, kad pradūrimo dangtelis yra uždėtas ant reagentų kasetės, o magnetinių dalelių lovelio dangtelis nuimtas, arba, jei naudojate iš dalies panaudotą reagentų kasetę, būtinai nuimkite sandarinimo pakartotinai naudojant juosteles.
- „Proteinase K“ reagentų kasetėje nėra, todėl ja turi pasirūpinti naudotojas (mėginių stalčius, A anga, 1 ir (arba) 2 padėtis). Įsitikinkite, kad yra tinkamas „Proteinase K“ tūris.

Rinkinyje „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) yra paruoštas naudoti „Proteinase K“ tirpalas. „Proteinase K“ galima laikyti kambario temperatūroje (15–25 °C). Norint laikyti ilgą laiką, siūlome laikyti fermento buteliukus su „Proteinase 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 <sup>†</sup>
96	11 660 µl <sup>†</sup>	23 320 µl <sup>†</sup>

\* 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.

<sup>†</sup> 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 „Proteinase K“ įdedami į mėgintuvėlių laikiklį. Mėgintuvėlių laikiklį su „Proteinase K“ reikia įstatyti į stalčiaus „Sample“ (mėginys) A angos 1 ir 2 padėtis. „Proteinase K“ rekomenduojame naudoti 14 ml 17 x 100 mm polistireno mėgintuvėlius apvaliu dugnu („Corning“, kat. nr. 352051).

- Jei mėginiai pažymėti brūkšniniais kodais, atsukite mėginius mėgintuvėlių laikiklyje taip, kad brūkšniniai kodai būtų atsukti į brūkšninių kodų skaitytuvą, esantį kairiojoje prietaiso „QIASymphony SP“ pusėje.
- Daugiau informacijos apie mėginių mėgintuvėlius ir minimalius mėginio tūrius, suderinamus su protokolais, rasite atitinkamame laboratorijų reikmenų sąraše, pateiktame gaminio puslapio kortelėje „Product Resources“ (gaminių ištekliai) svetainėje **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)**.

## Protokolas: ccfDNR automatinis gryninimas prietaisu „QIASymphony SP“

Išsami informacija apie kiekvieną protokolą, įskaitant tūrius ir mėgintuvėlius, pateikta protokolo lape ir laboratorijų reikmenų sąrašė, kurį rasite gaminio puslapio kortelėje „Product Resources“ (gaminų išteklių) svetainėje [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Kaip paruošti mėginio medžiagą (plazmą, gautą iš žmogaus viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD), žr. skyrius „Mėginių paėmimas ir paruošimas“ ir „Mėginio medžiagos paruošimas“ šiame vadove, taip pat mėgintuvėlio naudojimo instrukcijas, pateiktas gaminio puslapio kortelėje „Product Resources“ (gaminų išteklių) svetainėje [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ir gaminio puslapio kortelėje „Resources“ (išteklių) svetainėje [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

1. Uždarykite visus stalčius ir gaubtą.
2. Įjunkite prietaisą „QIASymphony SP“ ir palaukite, kol atsidarys ekranas **Sample Preparation** (mėginio paruošimas) ir baigsis inicijavimo procedūra.
3. Maitinimo jungiklis yra apatiniame kairiajame prietaiso „QIASymphony SP“ kampe.
4. Prisiregistruokite prietaise.

Įdėkite reikiamą eliuavimo stovėlį į stalčių „Eluate“ (eliuatas).

Neįdėkite 96 šulinėlių plokštelės į 4 eliuavimo angą. Reikia naudoti 1 eliuavimo angą su atitinkamu aušinimo adapteriu.

Jei naudojate 96 šulinėlių plokštelę, įsitinkinkite, kad jos orientacija tinkama, nes netinkamai padėję galite supainioti mėginius atlikdami tolesnę analizę.

Jei naudojate „Elution Microtubes CL“ stovėlį, nuimkite dugną sukdami stovėlį, kol dugną bus galima nuimti.

5. Įsitinkinkite, kad stalčius „Waste“ (atliekos) tinkamai paruoštas, ir nuskaitykite stalčiaus „Waste“ (atliekos) atsargas, įskaitant antgalių lataką, antgalių laikymo vietą, tuščią skystųjų atliekų talpyklą ir tuščias elementų dėžutes. Pakeiskite antgalių išmetimo maišelį, jei reikia.

- Įdėkite reikiamą (-as) reagentų kasetę (-es) ir eksploatacines medžiagas į stalčių „Reagents and Consumables“ (reagentai ir eksploatacinės medžiagos).
- Nuskaitykite stalčiaus „Reagents and Consumables“ (reagentai ir eksploatacinės medžiagos) atsargas.
- Įdėkite mėginius į atitinkamą mėginių laikiklį, o tada į stalčių „Sample“ (mėginys).

**Pastaba.** Be įprasto apdoravimo, įskaitant plazmos perkėlimą į atitinkamą mėginio laikiklį (14 ml 17 x 100 mm „Falcon®“ polistireno mėgintuvėlius apvaliu dugnu), „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ pirminio mėgintuvėlio tvarkymo darbo eiga leidžia ccfDNR išskirti tiesiai iš „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ („10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD), 16 x 100 mm). Daugiau informacijos, kaip tvarkyti pirminį mėgintuvėlį, rasite protokolo lape, laboratorijų reikmenų sąrašė ir mėgintuvėlio naudojimo instrukcijose, pateiktose gaminio puslapio kortelėje „Product Resources“ (gaminų ištekliai) svetainėje [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ir gaminio puslapio kortelėje „Resources“ (ištekliai) svetainėje [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com).

- Jutikliniame ekrane įveskite reikiamą informaciją apie kiekvieną apdorotiną mėginių partiją ir „Proteinase K“.

Įveskite toliau nurodytą informaciją.

- Mėginio informacija (atsižvelgiant į stovėlį, naudotą pasirenkant „**BD #352051 FalconPP 17 x 100**“ arba „**BD\_#768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100**“)
- Vykdytinasis protokolas (tyrimo kontrolės rinkinys)
- Eliuavimo tūris ir išvesties vieta

Įvedus informaciją apie partiją, būsena pakinta iš **LOADED** (įdėta) į **QUEUED** (laukia eilėje). Vos tik viena partija įtraukiama į eilę, pasirodo mygtukas „**Run**“ (vykdyti).

- Įdėkite „Proteinase K“ į atitinkamą mėginių laikiklį 1 ir 2 padėtyje, tada įdėkite į stalčiaus „Sample“ (mėginys) A angą.

- Apibrėžkite „Proteinase K“ paspausdami mygtuką **IC**.

- Paspausdami mygtuką „**Run**“ (vykdyti) pradėkite gryninimo procedūrą.

Visi apdoravimo veiksmai atliekami visiškai automatiškai. Protokolo vykdymo pabaigoje partijos būsena pasikeičia iš **RUNNING** (vykdoma) į **COMPLETED** (baigta).

- Išimkite eliuavimo stovėlį su išgryninta ccfDNR iš stalčiaus „Eluate“ (eliuatas). Patvirtinkite eliuavimo stovėlio išėmimą prietaiso „QIASymphony SP“ programiniame įrangoje.

14. ccfDNR paruošta naudoti arba gali būti laikoma –20 °C arba –80 °C temperatūroje iki 6 mėnesių.

QIAGEN rekomenduoja eliuato plokštelę iš stalčiaus „Eluate“ (eliuatas) išimti vos baigus apdorojimą. Atsižvelgiant į temperatūrą ir drėgnumą, palikus eliuavimo plokštelės prietaise „QIASymphony SP“ po apdorojimo pabaigos, gali prasidėti kondensacija arba garavimas.

**Pastaba.** Naudojant prietaiso „QIASymphony SP“ aušinimo funkciją, tyrimus galima vykdyti per naktį.

Paprastai magnetinės dalelės nėra pernešamos į eliuatus. Jei pernešimas įvyksta, magnetinės dalelės eliuatuose neturės įtakos daugeliui tolesnių tyrimų.

Jei magnetines daleles reikia pašalinti prieš atliekant tolesnius tyrimus, mėgintuvėlius ar plokšteles su eliuatais pirmiausia reikia įdėti į tinkamą magnetą ir eliuatus perkelti į švarų mėgintuvėlį (žr. „Priedas: ccfDNA kiekybinis įvertinimas“).

Sukuriami kiekvienos eliuavimo plokštelės rezultatų failai.

15. Jei reagentų kasetė panaudojama tik iš dalies, baigę vykdyti protokolą užsandarinkite ją pateiktomis sandarinimo pakartotinai naudojant juostelėmis, kad būtų išvengta garavimo.

**Pastaba.** Daugiau informacijos apie iš dalies panaudotų reagentų kasečių laikymą rasite „Reagentų laikymas ir naudojimas“.

16. Panaudotus mėgintuvėlius ir atliekas išmeskite vadovaudamiesi vietinėmis saugos taisyklėmis.

Saugos informaciją rasite „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“.

17. Išvalykite prietaisą „QIASymphony SP“.

Laikykitės techninės priežiūros instrukcijų, pateiktų su prietaisu gautose naudotojo vadovuose. Reguliariai valykite antgalių apsaugos įtaisus, kad sumažintumėte kryžminio užkrėtimo pavojų.

18. Uždarykite prietaiso stalčius ir išjunkite prietaisą „QIASymphony SP“.

# Kokybės kontrolė

Vadovaujantis QIAGEN ISO sertifikuota kokybės valdymo sistema, kiekviena „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) partija išbandoma pagal nustatytas specifikacijas, siekiant nuolat išlaikyti gaminių kokybę.

## Apribojimai

Sistemos efektyvumas buvo nustatytas atliekant efektyvumo vertinimo tyrimus, kurių metu buvo gryninama ccfDNR iš plazmos, gautos iš žmogaus viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD).

„QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) efektyvumas buvo nustatytas naudojant 18S ribosomų ir DYS14 Y chromosomų ccfDNR fragmentus plazmoje.

Naudotojas privalo pats patvirtinti sistemos efektyvumą atliekant bet kokias laboratorines procedūras, neprašytas QIAGEN ir „PreAnalytiX“ efektyvumo vertinimo tyrimuose.

Siekiant sumažinti neigiamo poveikio diagnostiniams rezultatams riziką, atliekant tolesnius tyrimus reikia naudoti tinkamas kontrolės priemones. Visi gauti diagnostikos rezultatai turi būti vertinami kartu su kitais klinikiniais ar laboratoriniais rezultatais.



# Trikčių šalinimo vadovas

Šis trikčių šalinimo vadovas gali būti naudingas šalinant atsiradusias triktis. Kontaktinę informaciją ir dažniausiai užduodamų klausimų sąrašą rasite atitinkamo gaminio puslapyje svetainėje [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com) arba [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Pastabos ir pasiūlymai

### Bendrasis naudojimas

- |    |  |  |
|----|--|--|
| a) | Jutikliniame ekrane rodomas klaidos pranešimas | Jei vykdant protokolą rodomas klaidos pranešimas, žr. su prietaisu pateiktus naudotojo vadovus.  |
| b) | Kintantis eliuato tūris po vykdymų per naktį   | Norint optimizuoti našumą, rinkinys „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) palaiko mėginių apdorojimą per naktį aušinant eliuatus prietaise „QIASymphony SP“. Ilgais aušinimo periodais eliuatų tūriai gali pakisti priklausomai nuo laboratorijos temperatūros ir drėgmės. Pavyzdžiui, jei pasirinktas tūris buvo 60 µl esant 15–25 °C temperatūrai ir 30–60 % drėgmei, 12 valandų palaikius prietaise tūris gali svyruoti nuo 50 iki 85 µl. |

### Krioprecipitai po plazmos mėginių atitirpinimo

- |    |  |  |
|----|--|--|
| a) | Krioprecipitų plazmoje forma                             | Siekiant išvengti krioprecipitų susidarymo, plazmą galima atitirpinti 30 °C temperatūroje 30 min., o ne kambario temperatūroje. Neatitirpinkite žemesnėje temperatūroje (pavyzdžiui, 4 °C). Atitirpinę maišykite mėgintuvėlį sukuriniu maišytuvu 30 sekundžių. |
| b) | Maža ccfDNR išeiga iš plazmos pašalinus krioprecipitatus | Norėdami pašalinti krioprecipitatus, necentrifuguokite plazmos, nes juose gali būti ccfDNR.  |

### Nepakankamas plazmos tūris iš mėgintuvėlių „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD)

- |    |   |  |
|----|---|--|
| a) | Į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) paimta mažiau nei 10 ml kraujo | Įsitikinkite, kad į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (CE-IVD) paimta 10 ml kraujo. Žr. „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ naudojimo instrukcijas.                                  |
| b) | Didelė ląstelių frakcija  | Didelis ląstelių frakcijos (hematokritų) lygis žmogaus visame kraujyje (pavyzdžiui, daugiau nei 51 proc. vyrų kraujyje arba 47 proc. moterų kraujyje) gali sumažinti plazmos tūrį. |
| c) | Maža plazmos išeiga po centrifugavimo   | Ilgesnis kraujo laikymas ir transportavimas arba kitos nei nurodytos centrifugavimo sąlygos gali turėti įtakos plazmos išeigai.  |

### Nuosėdos atidarytos reagentų kasetės lovelyje rinkinyje „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD)

- |    |                             |   |
|----|-----------------------------|---|
| a) | Buferinio tirpalo garavimas | Dėl per didelio garavimo buferiniuose tirpaluose gali padidėti druskų koncentracija. Išmeskite reagentų kasetę. Iš dalies panaudotos reagentų kasetės buferinio tirpalo lovelius būtina uždarykite sandarinimo pakartotinai naudojant juostelėmis, kai tirpalas nenaudojamas gryninant. |
| b) | Reagentų kasetės laikymas   | Laikant reagentų kasetę žemesnėje nei 15 °C temperatūroje, gali susidaryti nuosėdų.   |

## Pastabos ir pasiūlymai

### Maža ccfDNR išeiga

- |    |  |   |
|----|--|---|
| a) | Magnetinės dalelės nebuvo iki galo pakartotinai suspenduotos | Prieš pradėdami procedūrą įsitinkinkite, kad magnetinės dalelės visiškai pakartotinai suspenduotos. Prieš naudodami papurtykite bent 3 minutes. Nevisiškai pakartotinai suspendavus, gali įvykti pipetavimo klaidų.   |
| b) | Dėl netirpios medžiagos užsikimšo pipetės antgalis           | Netirpi medžiaga nebuvo pašalinta iš mėginio prieš pradėdant gryninimo procedūrą prietaise „QIASymphony SP“.  |
| c) | Mėginio medžiagoje yra maža ccfDNR koncentracija             | Dėl labai mažų ccfDNR kiekių plazmos mėginiuose ccfDNR koncentracijos matavimas gali būti sudėtingas (priklausomai nuo naudojamo kiekybinio įvertinimo metodo).<br>Norint patikrinti ccfDNR koncentraciją eliuatuose, rekomenduojama naudoti jautrų qPCR.   |
| d) | Ne iki galo pakartotinai užsandarinta reagentų kasetė        | Dėl maišymosi su aplinkos oru gali sumažėti buferinių tirpalų stabilumas, todėl sumažėti ccfDNR išskyrimo naudojant iš dalies panaudotą reagentų kasetę veiksmingumas. Iš dalies panaudotos reagentų kasetės buferinio tirpalo lovelius būtina kruopščiai uždarykite sandarinimo pakartotinai naudojant juostelėmis, kai tirpalas nenaudojamas gryninant. |

### Žemas ccfDNR efektyvumas naudojant tolesniuose tyrimuose

- |    |   |   |
|----|---|---|
| a) | Eliuatas koncentruotas po vakuuminio centrifugavimo | Nekoncentruokite eliuato naudodami vakuuminį centrifugavimą (pvz., prietaisu „SpeedVac <sup>SM</sup> “ ar panašiu). Eliuato kokybė gali pablogėti dėl per aukštos temperatūros ir jame gali atsirasti koncentruotų druskų, todėl gali sumažėti eliuato efektyvumas naudojant tolesniuose tyrimuose. |
| b) | Rutuliuokį pernešimas                               | Paprastai magnetinės dalelės nėra pernešamos į eliuatus. Jei pernešimas įvyksta, magnetinės dalelės eliuatuose neturės įtakos daugeliui tolesnių tyrimų. Jei pakartotiniams tyrimams reikia labai didelių eliuato porcijų, eliuatus galima centrifuguoti ir perkelti į švarų mėgintuvėlį.           |

### Nevisiškas mėginio perkėlimas arba jis neperkeliamas

- |    |   |  |
|----|---|--|
| a) | Remiantis standartiniais protokolais, įdėtas netinkamas mėginio tūris | Jeį įdėtas mažesnis, nei nurodyta, mėginio tūris, padidėja mėginio neaiškiaus pažymėjimo rizika arba mėginys apskritai neperkeliamas (netinkamas pažymėjimas).<br>Įdėkite tinkamą mėginio tūrį, kaip aprašyta atitinkame protokolo lape ir laboratorijų reikmenų sąrašė. |
| b) | Mėginio mėgintuvėlyje yra burbuliukų ir (arba) putų                   | Burbuliukai arba putos mėginyje ir (arba) mėginio įvesties mėgintuvėlyje gali susidaryti dėl netinkamai nustatyto skysčio kiekio ir dėl to įvykusio nevisiško mėginio perdavimo. Iš mėginio mėgintuvėlio pašalinkite burbuliukus.  |

# Simboliai

Naudojimo instrukcijose arba ant pakuotės ir etikečių gali būti pateikti šie simboliai:



<N>

Yra pakankamai reagentų <N> tyrimams atlikti Nurodo bendrą IVD tyrimų, kuriuos galima atlikti su IVD, skaičių.



Tinka naudoti iki



In vitro diagnostikos medicinos prietaisas



CE ženklas. Šis gaminytis atitinka Europos reglamento 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos prietaisų reikalavimus.



Katalogo numeris



Partijos numeris



Medžiagos numeris (t. y. komponento ženklavimas etikete)



Komponentai (t. y. pakuotės medžiagų sąrašas)



Sudėtyje yra (turinys)

**NUM**

Skaičius (t. y. mėgintuvėlių, buteliukų)

**GTIN**

Visuotinis prekės numeris

**Rn**

R yra naudojimo instrukcijų (vadovo) peržiūrėtas leidimas, n yra peržiūrėto leidimo numeris



Temperatūros apribojimai



Gamintojas



Žr. naudojimo instrukcijas



Dėmesio

**PROTK**

„Proteinase K“

**WELL**

Šulinėlio numeris (pavyzdžiui, reagentų kasetės šulinėlio)

**REAG** | **CART**

Reagentų kasetė

Sodium azide

Natrio azidas

## Priedas: ccfDNA kiekybinis įvertinimas

Dėl labai mažų ccfDNA koncentracijų mėginio medžiagoje DNR matavimas spektrometru nerekomenduojamas. Norint nustatyti ccfDNA koncentraciją, reikia naudoti fluorescencija pagrįstą kiekybinį tyrimą arba „real-time PCR“ tyrimą.

Jei magnetines daleles reikia pašalinti, mėgintuvėlį su DNR įdėkite į tinkamą magnetinį separatorių (pavyzdžiui, „QIAGEN 12-Tube Magnet“, kat. nr. 36912) ir naudokite, kol magnetinės dalelės bus atskirtos.

Jei DNR yra mikroplokštelėse, mikroplokšteles įdėkite į tinkamą magnetinį separatorių (pavyzdžiui, „QIAGEN 96-Well Magnet Type A“, kat. nr. 36915) ir naudokite, kol magnetinės dalelės bus atskirtos. Jei tinkamo magnetinio separatoriaus neturite, centrifuguokite mėgintuvėlį su DNR 1 minutę visu greičiu mikrocentrifugoje, kad atskirtumėte visas likusias magnetines daleles.

# Užsakymo informacija

Gaminys	Turinys	Kat. nr.
<b>PreAnalytiX</b>		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Sudaro 2 reagentų kasetės, „Proteinase K“ mėgintuvėliai ir priedai	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 mėgintuvėlių: 16 × 100 mm, 1,5 ml priedų, 10 ml kraujo tūrio	768165
<b>QIAGEN</b>		
QIASymphony SP instrument	„QIASymphony“ mėginių ruošimo modulis, 1 metų garantija dalių ir darbo kokybei	9001297
<b>Susiję QIAGEN produktai</b>		
Proteinase K (10 ml)	1 × 10 ml buteliukas	19133
Reagent Cartridge Holder (2)	Reagentų kasetės laikiklis, skirtas naudoti su prietaisu „QIASymphony SP“	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Aušinimo adapteris, skirtas 2 ml mėgintuvėliams su prisukamu dangteliu. Skirtas naudoti prietaiso „QIASymphony SP“ stalčiuje „Eluate“ (eliuatas)	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	EMT stovelių aušinimo adapteris. Skirtas naudoti prietaiso „QIASymphony SP“ stalčiuje „Eluate“ (eliuatas)	9020730

<b>Gaminys</b>	<b>Turinys</b>	<b>Kat. nr.</b>
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	1,5 ml „Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock“ mėgintuvėlių aušinimo adapteris Skirtas naudoti prietaisu „QIASymphony SP“ stalčiuje „Eluate“ (eliuatas)	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8 šulinėlių mėginio paruošimo kasetės, skirtos naudoti su prietaisu „QIASymphony SP“	997002
8-Rod Covers (144)	8 strypų dangteliai, skirti naudoti su prietaisu „QIASymphony SP“	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Vienkartiniai filtrų antgaliai stovelyje (8 x 128). Skirti naudoti su prietaisu „QIAcube®“ ir „QIASymphony SP/AS“	990332
Filter-Tips, 1500 µl, Qsym SP (1024)	Vienkartiniai filtrų antgaliai stovelyje (8 x 128). Skirti naudoti su prietaisu „QIASymphony SP/AS“	997024
Tip Disposal Bags (15)	Antgalių išmetimo maišeliai, skirti naudoti su prietaisu „QIASymphony SP“	9013395
12-Tube Magnet	Magnetas magnetinėms dalelėms atskirti 12 x 1,5 ml arba 2 ml mėgintuvėliuose	36912
96-Well Magnet Type A	Magnetas magnetinėms dalelėms atskirti 96 šulinėlių plokštelių šulinėliuose, 2 x „96-Well Microplates FB“	36915
Reuse Seal Set (20)	Sandarinimo pakartotinai naudojant rinkiniai, skirti iš dalies panaudotoms „QIASymphony“ reagentų kasetėms	997006

Gaminys	Turinys	Kat. nr.
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Nesterilūs polipropileno mėgintuvėliai (0,85 ml maksimali talpa, mažiau nei 0,7 ml laikymo talpa, 0,4 ml eliuavimo talpa), 2 304 stoveliuose po 96, su dangtelių juostelėmis	19588
Caps for Elution Microtubes (50 x 8)	Eliuavimo mikromėgintuvėlių dangteliai (50 x 8)	19591
14 ml Falcon Tube	17 x 100 mm polistireno mėgintuvėlis apvaliu dugnu, naudojamas kaip prietaiso „QIASymphony SP“ mėginio laikiklis	Corning, 352051

Naujausia informacija apie licencijavimą ir tam tikrų gaminių garantinių įsipareigojimų ribojimą pateikta atitinkamame QIAGEN rinkinio vadove arba naudotojo vadove. QIAGEN rinkinio vadovai arba naudotojo vadovai pateikti svetainėje [www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com) ir [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) arba galite jų paprašyti QIAGEN techninių tarnybų ar vietinio platintojo.

## Dokumento peržiūrų istorija

Peržiūrėtas leidimas	Aprašas
R1, 2021 m. gegužė	Pradinis leidimas



Užsakymas [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Techninė pagalba [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Svetainė [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) arba [PreAnalytiX.com](http://PreAnalytiX.com)