

Февруари 2023 г.

Инструкции за употреба (наръчник) на QIASymphony[®] PAXgene[®] Blood ccfDNA Kit



Версия 1



За инвитро диагностика



768566

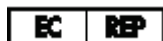


PreAnalytiX GmbH

Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Швейцария



1130770BG



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
ГЕРМАНИЯ

PreAnalytiX Company

PreAnalytiX GmbH

8634 Hombrechtikon

Швейцария

www.PreAnalytiX.com

Търговски марки: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH)
QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, QIASymphony® (QIAGEN Group)
BD™ (Becton Dickinson and Company)
Corning®, Falcon® (Corning, Inc.)
Eppendorf® (Eppendorf AG)
SpeedVac® (Thermo Fisher Scientific или негови подразделения).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

1130770BG HB-2866-003

© 2023 PreAnalytiX GmbH. Освен ако не е посочено друго, PreAnalytiX, логото на PreAnalytiX и всички други търговски марки са собственост на PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

Ограничено лицензно споразумение за QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit

Употребата на този продукт означава, че всеки купувач или потребител на QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit приема следните условия:

1. Този продукт може да се използва единствено в съответствие с протоколите, предоставени с продукта и настоящото ръководство, както и само с компонентите, включени в набора. PreAnalytiX® не предоставя лиценз по никакви права върху своята интелектуална собственост за употребата или включването на приложените компоненти на този набор, които не са включени в този набор, освен както е описано в протоколите, предоставени с продукта, този наръчник и допълнителните протоколи, които могат да се изтеглят от адрес www.qiagen.com и www.PreAnalytiX.com.
2. Освен изрично посочените лицензи, PreAnalytiX не дава гаранция, че този набор и/или неговата употреба не нарушават правата на трети страни.
3. Този консуматив и неговите компоненти се лицензират за еднократна употреба и не могат да се използват повторно, обновяват или препродават.
4. PreAnalytiX изрично отхвърля всички други лицензи, посочени или подразбиращи се, с изключение на изрично заявените.
5. Купувачът и потребителят на набора дават съгласие да не предприемат или позволяват на други лица да предприемат действия, които могат да доведат до или да улеснят някое от действията, забранени по-горе. PreAnalytiX може да прилага забраните в настоящото Ограничено лицензно споразумение във всеки съд и ще възстанови всички свои разходи за разследване и съдебни разноски, включително адвокатските хонорари, при всяко действие за прилагане на настоящото Ограничено лицензно споразумение или упражняване на всяко от своите права върху интелектуална собственост във връзка с набора и/или неговите компоненти.

За актуалните условия на лиценза вижте www.qiagen.com и www.PreAnalytiX.com.

Дистрибутори на PreAnalytiX

Продуктите PreAnalytiX се произвеждат и разпространяват от QIAGEN и BD за PreAnalytiX.

Съдържание

Съдържание	3
Предвидена употреба.....	5
Потребители, за които е предназначен.....	5
Описание и принцип	6
Кратко изложение и обяснение.....	6
Принципи на процедурата	7
Предоставени материали.....	9
Съдържание на набора.....	9
Необходими, но непредоставени материали.....	10
Оборудване.....	11
Предупреждения и предпазни мерки	12
Информация за безопасността.....	12
Предпазни мерки	13
Съхранение и работа с реактиви	15
Компоненти на набора.....	15
Взимане и подготовка на проби.....	17
Процедура	21
Преглед: Автоматизирано пречистване на scfDNA на апарата QIASymphony SP	21
Преглед на протокол.....	28
Протокол: Автоматизирано пречистване на scfDNA на апарата QIASymphony SP	31

Контрол на качеството.....	35
Ограничения.....	35
Ръководство за отстраняване на проблеми.....	36
Символи.....	39
Приложение: Количествено определяне на scfDNA.....	41
Информация за поръчка.....	42
Хронология на редакциите на документа.....	44

Предвидена употреба

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit, за употреба на апарата QIASymphony SP, е предназначен за автоматизирано изолиране и пречистване на безклетъчна ДНК в кръвообращението (circulating cell-free DNA, ccfDNA) от плазма, генерирана от човешка венозна цяла кръв, взета в епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit използва технологията с магнитни частици за автоматично изолиране и пречистване на ccfDNA от човешка плазма.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit е предназначен за *инвитро* диагностика и следва да се използва само от професионални потребители – например лаборанти и лекари, обучени в техниките на молекулярната биология.

Потребители, за които е предназначен

Този набор е предназначен за професионална употреба.

Продуктът може да се използва само от персонал, специално инструктиран и обучен в техниките на молекулярната биология и запознат с тази технология.

Описание и принцип

Кратко изложение и обяснение

Безклетъчната ДНК в кръвообращението (circulating cell-free DNA, ccfDNA) обикновено се намира в плазмата под формата на къси фрагменти (<1000 bp). Концентрацията на ccfDNA в плазмата обикновено е ниска (може да е в диапазон от 1 до 100 ng/mL) и варира значително според индивида. Обозначената с CE епруветка на PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube в комбинация с набора QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit се състои от стандартизирана работна процедура за вземане, съхранение и транспортиране на кръв; стабилизиране на ДНК в затворена епруветка; и последващо изолиране на ccfDNA и пречистване от човешка плазма с помощта на апарата QIAGEN® QIASymphony SP.

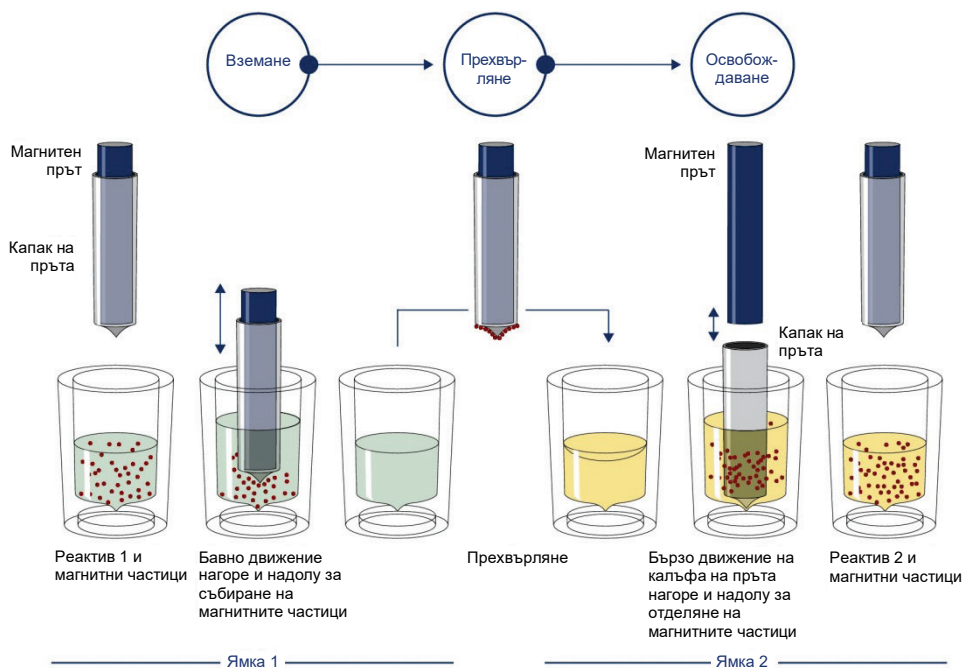
Предоставени са протоколите на апарата QIASymphony SP за извличане на ccfDNA от 2,4 и 4,8 mL плазма, генерирана от епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube чрез двойно центрофугиране. Плазмата се прехвърля и обработва във вторична епруветка върху апарата QIASymphony SP.

Алтернативно протоколите за обработка на първична епруветка на апарата QIASymphony SP са налични за начален обем на плазмата 2,4 и 4 mL. В този случай не е необходима втора стъпка на центрофугиране или прехвърляне на плазма във вторична епруветка.

Технологията с магнитни частици на набора QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit позволява пречистване на висококачествена ccfDNA, в която няма протеини, нуклеази и други примеси. Инструментът QIASymphony SP изпълнява всички стъпки от процедурата за пречистване. На един цикъл се обработват до 96 проби, на партиди от 24. За изолиране на геномна ДНК (genomic DNA, gDNA) от образуваното ядро от клетъчната фракция от кръв, събрана в епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube в апарата QIASymphony SP, вижте инструкциите, дадени в Инструкциите за употреба на PAXgene Blood ccfDNA Tube (www.PreAnalytiX.com).

Принципи на процедурата

Технологията на апарата QIASymphony SP съчетава скоростта и ефективността на пречистването на нуклеинови киселини на базата на анионен обмен с удобството на работата с магнитни частици (Фигура 1). Процедурата за пречистване е разработена, за да осигури безопасна и възпроизводима работа с потенциално инфекциозни проби и включва 3 стъпки: лизиране, свързване, промиване и елуиране (Фигура 2). Потребителите могат да избират различни входни обеми на аликвотната част.



Фигура 1. Схематична диаграма на принципа на апарата QIASymphony SP. Апаратът QIASymphony SP обработва проба, съдържаща магнитни частици, по следния начин: магнитен прът, покрит с калъф, влиза в ямка, съдържаща пробата, и привлича магнитните частици. Калъфът на магнитния прът се поставя над друга ямка и магнитните частици се отделят. Тези стъпки се повтарят няколко пъти по време на обработката на пробите. Инструментът QIASymphony SP използва магнитна глава с 24 магнитни пръта и съответно може да обработва до 24 аликвотни части едновременно.

QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



Фигура 2. Стъпки за екстракцията на ccfDNA с QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit. Фрагменти на ccfDNA се изолират от плазма, генерирана от човешка венозна цяла кръв, взета в епруветка PAXgene Blood ccfDNA Tube. По време на първата стъпка на обработка, плазмените протеини се разтварят от Proteinase K, а ccfDNA се свързва към повърхността на магнитните частици. Три стъпки на промиване гарантират отстраняването на замърсителите. Накрая ccfDNA се елуира от магнитните частици и е готова за употреба в приложенията надолу по веригата.

Предоставени материали

Съдържание на набора

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) Каталожен № Брой реакции		(192) 768566 192		
Съкращение	Идентичност	Количество	Активни съставки	Концентрация [%]**
RC	Reagent cartridge (Касета с реактиви)**†	2	Нейонен детергент Анионобменни магнитни частици NaOH Етанол	≥0,5 – <10 [w/w] — ≥0,05 – <0,1 [w/w] ≥70 – <90 [v/v]
PROTK	Proteinase K (Протеиназа K)†	5 × 10 mL	Proteinase K	≥1 – <3 [тегл./тегл.]
PL	Piercing lid (Пробивен капак)	2	—	—
RSS	Reuse Seal Set (Комплект уплътнения за многократна употреба)‡	2	—	—
	Elution Microtubes CL, gasket (Микроепруветки за елуиране CL, в стелажи)#	2	—	—
	Caps for Elution Microtubes (Капачки за микроепруветки за елуиране)#	1 × (55 × 8)	—	—
	Инструкции за употреба (наръчник)	1	—	—
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	—	—

* Съдържа натриев азид като консервант.

† Вижте страница 39 за списък със символи и дефиниции.

‡ Един Reuse Seal Set съдържа 8 уплътняващи ленти за многократна употреба.

Предлага се също и отделно, вижте Информация за поръчка.

** Максимална концентрация в една ямка.

Необходими, но непредоставени материали

При работа с химикали и биологични проби винаги спазвайте универсалните предпазни мерки и носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и предпазни средства за очите според политиката и процедурите във вашето съоръжение. За повече информация вижте съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheets, SDS), които можете да намерите при доставчика на продукта.

Уверете се, че апаратите са проверени и калибрирани съгласно препоръките на производителя.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, кат. № 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, кат. № 997004)
- Filter-Tips, 200 µL и 1500 µL (QIAGEN, каталожни № съответно 990332 и 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, кат. № 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (PreAnalytiX, кат. № 768165)
- Епруветки за проби. За съвместими формати първични и вторични епруветки вижте списъка с лабораторно оборудване, който можете да откриете в разделите „Product Resources“ (Продуктови ресурси) и „Resources“ (Ресурси) на страниците с продукти, съответно на www.qiagen.com и www.PreAnalytiX.com.
- За съвместими формати епруветки за елуиране вижте списъка с лабораторно оборудване, който можете да откриете в разделите „Product Resources“ (Продуктови ресурси) и „Resources“ (Ресурси) на страниците с продукти, съответно на www.qiagen.com и www.PreAnalytiX.com.

Оборудване*

- Пипета (5 mL)
- Апарат QIASymphony SP (QIAGEN, кат. № 9001297)

* Преди употреба се уверете, че апаратите са проверени и калибрирани съгласно препоръките на производителя.

Предупреждения и предпазни мерки

За инвитро диагностика.

Преди използване на набора внимателно прочетете всички инструкции.

За клиенти в Европейския съюз, имайте предвид, че може да носите задължение да докладвате сериозни инциденти, възникнали във връзка с изделието, на производителя и компетентния орган в страната членка по местожителство на потребителя и/или пациента.

Информация за безопасността

При работа с химикали и биологични проби винаги спазвайте универсалните предпазни мерки и носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и предпазни средства за очите според политиката и процедурите във вашето съоръжение. Повече информация ще намерите в съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheets, SDS). Те са достъпни онлайн в PDF формат на www.qiagen.com/safety, където можете да намерите, прегледате и отпечатате информационния лист за безопасност (Safety Data Sheets, SDS) за всеки набор PreAnalytiX и неговите компоненти.

- Всички химикали и биологични материали са потенциално опасни. Пробите и аликвотните части от кръв са потенциално инфекциозни и трябва да се третират като биологично опасни материали.
- Изхвърляйте отпадъците от биологично опасните материали и набори съгласно местните процедури за безопасност.

Информация за спешни случаи

CHEMTREC

САЩ и Канада 1-800-424-9300

Извън САЩ и Канада +1 703-527-3887

Предпазни мерки

Буферите в касетата за реактиви (Reagent Cartridge, RC) съдържат натриев азид. Ако се разлеят буфери от набора, почистете с подходящ лабораторен почистващ препарат и вода. Ако разлятата течност съдържа потенциално инфекциозни агенти, първо почистете замърсената област с лабораторен почистващ препарат и вода, а след това с 1% (по обем) натриев хипохлорит (белина).

Следните предупреждения за опасност и мерки за безопасност се отнасят за компонентите на QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit.

MBS3

Съдържа: Натриев азид. Предупреждение! Може да бъде вреден при поглъщане. Да се използват предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

Proteinase K



Съдържа: Proteinase K. Опасно! Предизвиква леко дразнене на кожата. При вдишване може да предизвика алергия, симптоми на астма или затруднено дишане. Избягвайте вдишване на прах/дим/газ/мъгла/пари/пръски. Да се използват предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. Носете дихателна защита. При явна или предполагаема експозиция: Обадете се в център по токсикология/на лекар. Изведете пострадалия на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането.

QSE2



Съдържа: Натриев хидроксид. Опасно! Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите. Депонирайте съдържанието/съда в одобрено съоръжение за депониране на отпадъци. **При контакт с очите:** Промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването. **При контакт с кожата (или косата):** Свалете/съблечете незабавно всички замърсени дрехи. Измийте кожата с вода/душ. Незабавно се обадете в център по токсикология/на лекар. Да се съхранява под ключ. Да се използват предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

QSW9



Съдържа: Етанол. Опасно! Силно запалими течност и пари. Предизвиква сериозно дразнене на очите. Да се държи далеч от топлина/искри/открит пламък/горещи повърхности. Пушенето забранено. Да се използват предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

Съхранение и работа с реактиви

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit трябва да се съхранява изправен при стайна температура (15 – 25 °C). Магнитните частици в касетите с реактиви (Reagent Cartridge, RC) остават активни, когато се съхраняват в този температурен диапазон.

Забележка: Етикетът върху кутията на QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit изброява срока на годност на набора. Срокът на годност е за касетата за реактиви.

Наборът QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit не трябва да се използва след изтичане на срока на годност.

Компоненти на набора

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit съдържа готов за употреба разтвор на Proteinase K, който може да се съхранява при стайна температура (15 – 25 °C).

Не съхранявайте RC при температури под 15 °C.

Отворени касети с реактиви (Reagent Cartridge, RC) QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit могат да се съхраняват при стайна температура (15 – 25 °C) в продължение на до 4 седмици, което позволява рентабилна повторна употреба на реактиви и по-гъвкава обработка на проби, ако са правилно затворени след употреба. Ако RC е частично използвана, поставете отново капака на улея с магнитните частици и запечатайте RC с предоставените уплътняващи ленти за многократна употреба незабавно след края на протоколния цикъл, за да предотвратите изпаряване.

За да се предотврати изпарение на реактиви, RC трябва да е отворена максимум 15 часа (включително времето на изпълнение) при максимална околна температура 32 °C. Неправилното съхранение на компонентите на набора може да доведе до ускорено стареене на буферите.

Обработката на партии с малък брой проби (< 24) ще доведе до увеличаване както на времето, в което RC е отворена, така и необходимите обеми от буфера, което може да намали общия възможен брой подготовки на една касета.

Излагането на касетите с реактиви (Reagent Cartridge, RC) на ултравиолетова светлина (например за деконтаминация) трябва да се избягва, защото може да ускори стареенето на RC и буферите.

Трябва да се проверяват датите на изтичане на сроковете на годност и условията на съхранение, отпечатани върху опаковката и етикетите на всички компоненти. Не използвайте неправилно съхранявани компоненти или такива с изтекъл срок на годност.

Взимане и подготовка на проби

Процедурата за пречистване е оптимизирана за употреба с плазма, генерирана от кръв, взета в епруветките PAXgene Blood ccfDNA Tube. За информация относно вземането на кръв, обработката на тези епруветки и подготовката на плазмата, вижте Инструкциите за употреба на PAXgene Blood ccfDNA Tube, които могат да бъдат намерени в разделите „Product Resources“ (Продуктови ресурси) и „Resources“ (Ресурси) на страниците с продукти, съответно на www.qiagen.com и www.PreAnalytiX.com

Подготовката на плазмата може да се извърши: А) със стандартния протокол с двойно центрофугиране или В) с протокола за работа с първични епруветки – директна обработка на еднократно центрофугираните епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube на апарата QIASymphony SP.

А) Подготовка на плазма от кръв за стандартни протоколи

1. Центрофугирайте епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube при стайна температура (15 – 25 °C) в продължение на 15 минути на 1600 – 3000 × g (първо центрофугиране) с балансирана центрофуга с променлив ъгъл. Ако е желателно да се използва спирачка, се препоръчва тя да бъде на средно ниво и това да се валидира за конкретната процедура.

Забележка: За най-добри работни характеристики при аликвотни части, съхранявани в хладилник преди центрофугиране, смесете повторно пробата, като я обърнете три пъти, и оставете епруветките да се темперират до стайна температура преди обработката.

2. Пипетирайте плазмата в 15-mL епруветка с конично дъно за центрофуга (непредоставена), като внимавате да не нарушите целостта на образуваното ядро от клетъчната фракция.

3. Центрофугируйте приготвената 15-mL епруветка с конично дъно при стайна температура (15 – 25 °C) в продължение на 10 минути на 1600 – 3000 × g (второ центрофугиране) с балансирана центрофуга.

Забележка: Не превишавайте препоръчаната от производителя на вторичната епруветка максимална скорост на центрофугиране.

4. Пипетирайте необходимия обем плазма (вижте раздел „Обем на аликвотната част“, страница 21) в 14 mL епруветка 17 × 100 mm от полистирен с обло дъно, като внимавате да не нарушите целостта на остатъчната пелета от кръвни клетки, ако има такава.

5. Прехвърлете епруветката с обло дъно с плазмената проба в носача за епруветки и заредете носача за епруветки във входното отделение за аликвотни части на апарата QIA Symphony SP.

Забележка: За да получите максимално количество scfDNA, обработвайте максималния възможен обем плазма.

Забележка: Предотвратявайте образуване на пяна по повърхността на плазмените проби или в тях по време на пипетиране. Ако върху аликвотните части има пяна или въздушни мехурчета, може да не се пипетира точният необходим обем.

Забележка: След прехвърляне на плазмата във вторична епруветка scfDNA е стабилна в плазмата при 15 – 25 °C в продължение на до 3 дни или при 2 – 8 °C в продължение на до 7 дни. За по-дълго съхранение препоръчваме замразяване на аликвоти при –20 °C или –80 °C.

Забележка: Когато се използват оставени на съхранение плазмени проби (например съхранявани при 2 – 8 °C или замразени при –20 °C или –80 °C), те трябва да се темперират до стайна температура (15 – 25 °C) преди започване на обработката, за замразени аликвотни части, моля, вижте раздел „С) Замразяване и размразяване на плазмени проби, обработени от PAXgene Blood scfDNA Tube“.

В) Подготовка на плазма от кръв за работа с първични епруветки на апарата QIASymphony SP

1. Центрофугирайте епруетката PAXgene Blood ccfDNA Tube при стайна температура (15 – 25 °C) 15 минути при 3000 × g с балансирана центрофуга с променлив ъгъл. Ако е желателно да се използва спирачка, се препоръчва тя да бъде на средно ниво и това да се валидира за конкретната процедура.

Забележка: За най-добри работни характеристики при аликвотни части, съхранявани в хладилник преди центрофугиране, смесете повторно пробата, като я обърнете три пъти, и оставете епруетките да се темперират до стайна температура преди обработката.

2. Извършете количествено определяне на обема плазма във всяка епруетка, след като я извадите от центрофугата, с инструмента за избор PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, предоставен с набора (Фигура 3). След изваждането на епруетката от центрофугата синьозелената стрелка на инструмента се подравнява на границата между плазмата и клетките. Сините линии показват дали нивото на плазмата е достатъчно за протокола за работа с 2,4-mL или 4,0-mL първични епруетки. Колоната с плазма трябва да има височина минимум 2,3 cm за протокола за 2,4 mL и минимум 3,4 cm за протокола за 4,0 mL.

Забележка: Ако не се е получило ясно разделяне на плазмата и клетъчната фракция или фазите неволно са се смесили след изваждането от центрофугата, центрофугирането трябва да се повтори.

Забележка: Преди да поставите епруетката върху апарата, проверете дали има ясно разделяне.

3. Изваждайте капачките Nemogard Closure Cap от епруетките PAXgene Blood ccfDNA Tube, преди да ги поставите на апарата QIASymphony SP за директно извличане на ccfDNA.

Забележка: Свалянето на капака на епруветката и боравенето с отворени епруветки трябва да се извършва внимателно, за да се намали възможният риск от разливане на пробата, кръстосано замърсяване между проби и експозиция на кръв.

4. Поставете отворените епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube, които съдържат достатъчно плазма, в носач за епруветки и заредете носача за епруветки във входното отделение за аликвотни части на апарата QIASymphony SP.

С) Замразяване и размразяване на плазмени проби, обработени от PAXgene Blood ccfDNA Tube

1. За замразяване прехвърлете плазмата в подходящи епруветки (например криофлакони), поставени на подходящ статив.
2. Замразете и съхранявайте плазмата при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. За съхранение под $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, замразете плазмените проби най-напред при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ за поне 24 часа, след което ги прехвърлете на или $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Размразявайте плазмата при стайна температура ($15 - 25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Забележка: Не размразявайте при ниски температури (например $4\text{ }^{\circ}\text{C}$).

4. Ако в плазмата се образуват криоутайки, разбъркайте епруветката за 30 секунди след размразяване и използвайте пробата за процедура за изолиране на ccfDNA на апарата QIASymphony SP без допълнителна обработка.

Забележка: Не се препоръчва центрофугиране на плазмата за отстраняване на криоутайките, тъй като те могат да съдържат ccfDNA.

Забележка: За да се избегне образуване на криоутайки, плазмата може да се размразява при $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ за 30 минути вмести при стайна температура.

Процедура

Преглед: Автоматизирано пречистване на ccfDNA на апарата QIA Symphony SP

Апаратът QIA Symphony SP прави автоматичната подготовка на проби лесна и удобна. Пробите, реактивите, консумативите и елуатите се поставят в различни отделения. Просто зареждате пробите и предоставените реактиви в специални касети и предварително заредените в стативи консумативи в съответното отделение преди обработка. Стартирате протокола и изваждате пречистените ccfDNA от отделението „Eluate“ (Елуат) след обработката. Инструкциите за работа ще намерите в ръководствата за потребителя, доставени с апарата.

Забележка: Незадължителната поддръжка не е необходима за работата на апарата, но силно се препоръчва за намаляване на риска от замърсяване.

Обем на аликвотната част

При обичайната процедура, за да се осигури прехвърляне на 2,4 mL (протокол PAXcircDNA_2400) и 4,8 mL (протокол PAXcircDNA_4800) аликвотна част от апарата, е необходим неизползваем обем съответно 0,4 и 0,5 mL, което означава, че входният обем на аликвотната част трябва да бъде съответно минимум 2,8 и 5,3 mL. Ако наличният обем плазма е по-малък от 2,8 или 5,3 mL, **Less Sample mode** (Режим за по-малка аликвотна част), интегрирана в протокола функция, автоматично позволява прехвърлянето на по-малки обеми плазма от посочените. В този случай апаратът пренася по-малко количество проба. Разликата в обема на пипетираната плазма ще бъде записана във файла с резултатите. Освен това съответните аликвотни части се отбелязват с флаг **неуточнени** (код на

грешка 140043, **Enable Less Sample mode** (Включен режим за по-малка аликвотна част)). Минималните входни обеми плазма за включване на **Less Sample mode** (Режим за по-малка аликвотна част) са 1,6 и 4,1 mL. Аликвотните части няма да се обработят и ще се отбележат с флаг „невалидни“, ако бъде подаден по-малък обем аликвотна част. При процедурата за работа с първични епруветки необходимият обем аликвотна част се осигурява с използването на инструмента за избор PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, предоставен с набора (описан в „Подготовка на материала в пробата“ на страница 26).

Зареждане на RC в чекмеджето „Reagents and Consumables“ (Реактиви и консумативи)

Реактивите за пречистване на ccfDNA се съдържат в новаторска касета с реактиви (Reagent Cartridge, RC) (Фигура 3). Всеки улей на RC съдържа определен реактив – например магнитни частици, свързващ буфер, буфер за промиване или буфер за елуиране. Частично използвани RC могат да се затварят отново с уплътняващи ленти за многократна употреба за по-късно ползване – така се избягва изхвърлянето на отпадъци от остатъчни реактиви в края на процедурата за пречистване.



Фигура 3. Касета с реактиви QIAasympphony (Reagent Cartridge, RC). Касетата с реактиви (Reagent Cartridge, RC) съдържа всички необходими реактиви за протоколния цикъл.

Преди стартиране на процедурата, магнитните частици задължително трябва да бъдат напълно ресуспендирани. Извадете улея за магнитни частици от рамката на RC, разбъркайте го енергично поне 3 минути, след това го поставете отново в рамката на RC преди първата употреба.

Забележка: Магнитните частици могат да променят цвета. Това не оказва влияние върху работните характеристики.

Поставете касетата с реактиви в държача за RC. Преди първата употреба на RC поставете капака за пробиване PL върху RC (Фигура 3).

Забележка: Капакът за пробиване е остър. Внимавайте, когато го поставяте върху RC. Задължително поставяйте капака за пробиване върху RC в правилната ориентация.

След като капакът на улея за магнитни частици се махне, RC се зарежда в чекмеджето „Reagents and Consumables“ (Реактиви и консумативи).

Частично използвани RC могат да се съхраняват, докато потребват отново (вижте „Съхранение и работа с реактиви“ на стр. 15).

Забележка: Трябва да се добави протеиназа К (вижте „Какво трябва да направите, преди да започнете“ на стр. 29).

Забележка: RC, улеите за магнитни частици и шишетата с Proteinase K не трябва да се разменят между различните партиди набори.

Зареждане на пластмасови изделия в отделението „Reagents and Consumables“ (Реактиви и консумативи)

Касети за подготовка на аликвотни части, 8-Rod Covers (и двете са предварително заредени на стативи в модулни кутии) и филтърни връхчета за еднократна употреба (връхчетата за 200 µL са на сини стативи, а връхчетата за 1500 µL са на черни стативи) се зареждат в отделението „Reagents and Consumables“ (Реактиви и консумативи).

Забележка: Капаците на модулните кутии трябва да се свалят, преди модулните кутии да се зареждат в отделението „Reagents and Consumables“ (Реактиви и консумативи).

Забележка: Връхчетата имат филтри за предотвратяване на кръстосано замърсяване.

В гнездата за стативи с връхчета на работната маса на апарата QIASymphony SP може да се поставя всеки от двата вида стативи с връхчета. Апаратът QIASymphony SP ще разпознае вида на заредените връхчета по време на сканирането на материалите.

Забележка: Не зареждайте нови стативи с връхчета, модулни кутии за касети за подготовка на проби или 8-Rod Covers, преди да започне друг протоколен цикъл. Апаратът QIASymphony SP може да работи с частично използвани стативи с връхчета и модулни кутии.

За информация за поръчка на пластмасови изделия вижте страница 42.

Зареждане на чекмеджето „Waste“ (Отпадъци)

Използваните по време на цикъла касети за подготовка на проби и 8-Rod Covers се нареждат отново на стативи в празни модулни кутии в отделението „Waste“ (Отпадъци). Погрижете се в отделението „Waste“ (Отпадъци) да има достатъчно празни модулни кутии за пластмасовите отпадъци от протоколния цикъл.

Забележка: Капаците на модулните кутии трябва да се свалят, преди модулните кутии да се зареждат в отделението „Waste“ (Отпадъци). Ако използвате кутии за 8-Rod Covers за събиране на използваните касети за подготовка на проби и 8-Rod Covers, разделителят на кутиите трябва да се извади.

Торба за използвани филтърни връхчета трябва да се постави отпред на отделението „Waste“ (Отпадъци).

Забележка: Системата не проверява дали торбата за изхвърляне на връхчета е поставена. Торбата за изхвърляне на връхчета трябва да бъде правилно поставена, преди да започне протоколен цикъл. За повече информация вижте ръководствата за потребителя, доставени с апарата. Изпразвайте торбата с връхчета след като бъдат обработени максимум 96 проби, за да предотвратите задръстване.

В съд за отпадъци се събират течните отпадъци от процедурата за пречистване. Отделението „Waste“ (Отпадъци) може да се затваря само ако съдът за отпадъци е поставен. Депонирайте течните отпадъци съгласно местните разпоредби за безопасност и опазване на околната среда. Не стерилизирайте в автоклав съда за отпадъци след употреба. Изпразнете съда за отпадъци след обработката на максимум 96 проби.

Зареждане на отделението „Eluate“ (Елуат)

Заредете необходимия статив за елуиране в отделението „Eluate“ (Елуат). Тъй като продължителното съхранение на елуати в отделението „Eluate“ (Елуат) може да доведе до изпаряване или кондензация, трябва да се използва положението за охлаждане. Използвайте само „Elution slot 1“ (Гнездо за елуиране 1) със съответния адаптер за охлаждане.

Избран обем за елуиране (µL)*	Начален обем за елуиране (µL)†
60	75

* Това е минималният достъпен обем на елуата в епруветката за окончателното елуиране за статива QIAGEN EMT (каталожен № 19588) и 1,5-µL епруветки Sarstedt Screw Cap Tube (каталожен № 72.607). В отделни случаи окончателният обем на елуата за единични аликвотни части може да бъде до 5 µL по-малък.

† Началният обем на буфера за елуиране, необходим, за да бъде действителният обем на елуата същият като избрания.

Сканиране на материалите

Преди да започне цикъл, апаратът проверява дали за партидите на опашката са заредени достатъчно консумативи в съответните отделения.

Подготовка на материала в пробата

Вижте „Взимане и подготовка на проби“ на страница 17.

Съхранение на scfDNA

След приготвянето на алиquotната част елуатите на scfDNA могат да се съхраняват при -20 или -80 °C. Замразените елуати не трябва да се размразяват повече от три пъти. За най-актуалната информация по отношение на стабилността на scfDNA в елуати вижте страницата на продукта на www.qiagen.com или www.PreAnalytiX.com.

Преглед на протокол

Таблица 1. Преглед на протокол

Проба	Обработка на PAXgene Blood ccfDNA Tube	Входен обем на аликвотната част (включващ неизползваемия обем) (mL)	Обем на аликвотната част, използван за извличане на ccfDNA (mL)	Обем за елуиране (µL)	Протокол на апарата QIASymphony SP
Плазма, генерирана от човешка венозна цяла кръв, взета в епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube	2x центрофугиране, прехвърляне на плазма във вторична епруветка	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	1x центрофугиране, директна обработка на апарата QIASymphony SP	Според инструмента за избор	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Важни моменти преди започване

- Когато работите с химикали и биологични проби, винаги носете подходящо лабораторно облекло, ръкавици за еднократна употреба и предпазни средства за очите. За повече информация направете справка със съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheets, SDS).
- Задължително трябва да сте запознати с работата с апарата QIASymphony SP. Инструкциите за работа ще намерите в ръководствата за потребителя, доставени с апарата.
Забележка: Необходимата софтуерна конфигурация за IVD употреба е **Default Profile 1** (Профил по подразбиране 1).
- Преди да започнете процедурата прочетете раздел „Принципи на процедурата“.

- Уверете се, че сте запознати с листа от протокола и списъка с лабораторни материали (който може да се намери в разделите „Product Resources“ (Продуктови ресурси) и „Resources“ (Ресурси) на страниците с продукти, съответно на www.qiagen.com и www.PreAnalytiX.com).
- Не разклащайте силно RC, за да не се образува пяна – това може да създаде проблеми с установяването на нивото на течността.
- Кръвта трябва да се взима в епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; PreAnalytiX, Кат. № 768165). За инструкции за взимане на кръв, боравене и обработка на плазма, вижте Инструкциите за употреба на епруветка, които могат да се намерят в разделите „**Product Resources**“ (Продуктови ресурси) и „Resources“ (Ресурси) на страницата на продукта, съответно на www.qiagen.com или www.PreAnalytiX.com.

Какво трябва да направите, преди да започнете

- Преди стартиране на процедурата, магнитните частици задължително трябва да бъдат напълно ресуспендирани. Разбъркайте енергично улея с магнитните частици за поне 3 минути преди първата употреба.
- Капакът за пробиване трябва да се постави на касетата с реактиви (Reagent Cartridge, RC), а капакът на улея за магнитни частици трябва да се свали или – ако се работи с частично използвана RC – поставените уплътняващи ленти за многократна употреба трябва да се свалят.
- Proteinase K не е включена в RC, но трябва да бъде осигурена от потребителя (чекмедже за проби, гнездо A, позиция 1 и/или 2). Уверете се, че е налице правилният обем Proteinase K.

Наборът QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit съдържа готов за употреба разтвор Proteinase K. Proteinase K може да се съхранява при стайна температура (15 – 25 °C). За продължително съхранение препоръчваме шишетата с ензим Proteinase K да се съхраняват при 2 – 8 °C.

Номер на аликвотната част	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400* (µL)	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* (µL)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11660†
96	11660†	23320†

* За всяка аликвотна част са необходими 110 µL (за 2400 µL плазма) или 220 µL (за 4800/4000 µL плазма) плюс допълнителен неизползваем обем 1100 µL [(n × 110 или 220 µL) + 1100 µL].

† Ако са необходими повече от 11 660 µL, използвайте втора епруветка (Corning, каталожен № 352051). За втората епруветка е необходим допълнителен неизползваем обем 1100 µL.

Забележка: Епруветките с Proteinase K се поставят в носач за епруветки. Носачът за епруветки, съдържащ Proteinase K, трябва да се постави на позиции 1 и 2 в гнездо A на отделението „Sample“ (Аликвотна част). Препоръчваме да се използват 14 mL, 17 × 100 mm polystyrene, round-bottom tube (Corning, каталожен № 352051) за протеиназа K.

- Ако пробите са с баркод, поставете пробите в носача за епруветки с баркодовете обърнати към баркод четеца от лявата страна на апарата QIA Symphony SP.
- За информация за епруветките с аликвотни части и минималните обеми на аликвотната част, които са съвместими с протоколите, вижте съответния списък с лабораторни материали, който може да се намери в разделите „Product Resources“ (Продуктови ресурси) и „Resources“ (Ресурси) на страниците с продукти, съответно на www.qiagen.com и www.PreAnalytiX.com.

Протокол: Автоматизирано пречистване на ccfDNA на апарата QIASymphony SP

Подробна информация за всеки протокол, включително и за обемите и епруветките, е предоставена в листа на протокола и списъка с лабораторни материали, които могат да се намерят в разделите „Product Resources“ (Продуктови ресурси) и „Resources“ (Ресурси) на страниците с продукти, съответно на www.qiagen.com и www.PreAnalytiX.com. За приготвяне на материала на пробата (плазма, генерирана от човешка венозна цяла кръв, взета в епруетка PAXgene Blood ccfDNA Tube, вижте раздели „Взимане и подготовка на проби“ и „Подготовка на материала в пробата“ в този наръчник, както и Инструкциите за употреба на епруетката, които могат да се намерят в разделите „Product Resources“ (Продуктови ресурси) и „Resources“ (Ресурси) на страницата на продукта, съответно на www.qiagen.com или www.PreAnalytiX.com.

1. Затворете всички отделения и капака на апарата.
2. Включете апарата QIASymphony SP и изчакайте, докато се покаже екранът „Sample Preparation“ (Подготовка на аликвотните части) и приключи процедурата за инициализиране.
3. Превключвателят за храненето се намира в долния ляв ъгъл на апарата QIASymphony SP.
4. Влезте в системата на апарата.

Заредете необходимия статив за елуиране в отделението „Eluate“ (Елуат).

Не зареждайте 96-ямкова плака на „Elution slot 4“ (Гнездо за елуиране 4). Трябва да се използва „Elution slot 1“ (Гнездо за елуиране 1) със съответния адаптер за охлаждане.

Когато използвате плака с 96 ямки, задължително я поставяйте правилно, защото при неправилно поставяне пробите могат да се объркат в по-нататъшния анализ.

Когато използвате статив с Elution Microtubes CL, свалете дъното със завъртане на статива, докато дъното падне.

5. Уверете се, че чекмеджето „Waste“ (Отпадъци) е подготвено правилно и изпълнете сканиране на наличностите в чекмеджето „Waste“ (Отпадъци), включително канала за връхчета, станцията за паркиране на накрайници, празния контейнер за течни отпадъци и празните секционни кутии. Сменете торбата за изхвърляне на връхчета, ако е необходимо.
6. Заредете необходимата RC и консумативи в отделението „Reagents and Consumables“ (Реактиви и консумативи).
7. Извършете сканиране на материалите в отделението „Reagents and Consumables“ (Реактиви и консумативи).
8. Поставете пробите в съответния носач за проби и ги заредете в отделението „Sample“ (Аликвотна част).

Забележка: В допълнение към стандартната обработка, която включва прехвърляне на плазма в подходяща вторична епруветка (14 mL полистиренова епруветка с обло дъно на Falcon® 17 × 100 mm), поставена в подходящ носач за аликвотни части, процедурата за работа с първични епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube позволява извличане на ccfDNA директно от PAXgene Blood ccfDNA Tube (10 mL PAXgene Blood ccfDNA Tube, 16 × 100 mm). За повече информация за работата с първични епруветки вижте листа на протокола, списъка с лабораторни материали и Инструкциите за употреба на епруветката, които могат да се намерят в разделите „Product Resources“ (Продуктови ресурси) и „Resources“ (Ресурси) на страницата на продукта съответно на www.qiagen.com или www.PreAnalytiX.com.

9. Въведете на сензорния екран необходимата информация за всяка партида проби и за Proteinase K, която ще се обработва.

Въведете следната информация:

- Информация за алиquotната част (в зависимост от използваните стативи за алиquotни части изберете BD #352051 FalconPP 17 × 100 или BD_#768165 PAXgene scfDNA 16 × 100)
- Протокол за изпълнение („Assay Control Set“ (Набор с контроли за анализа))
- Обем за елуиране и изходна позиция

След като информацията за партидата бъде въведена, състоянието се променя от „LOADED“ (ЗАРЕДЕНА) на „QUEUED“ (НА ОПАШКАТА). Веднага щом има партида на опашката, се появява бутонът „Run“ (Изпълнение).

10. Поставете Proteinase K в съответната алиquotна част на позиция 1 и 2, и ги заредете в гнездо A на чекмеджето „Sample“ (Алиquotна част).
11. Дефинирайте Proteinase K като натиснете бутона **IC**.
12. Натиснете бутона „Run“ (Изпълнение), за да стартирате процедурата за пречистване. Всички стъпки за обработка са напълно автоматизирани. В края на протоколния цикъл състоянието на партидата се променя от „RUNNING“ (ИЗПЪЛНЯВА СЕ) на „COMPLETED“ (ИЗПЪЛНЕНА).
13. Извадете статива за елуиране с пречистената scfDNA от чекмеджето „Eluate“ (Елуат). Потвърдете махането на статива за елуиране с помощта на софтуера на апарата QIASymphony SP.
14. scfDNA е готова за употреба или може да се съхранява при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ или при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ за до 6 месеца. QIAGEN препоръчва плаката с елуата да се извади от отделението „Eluate“ (Елуат) веднага след приключването на цикъла. В зависимост от температурата и влажността може да има кондензация или изпаряване при плаки за елуиране, останали в апарата QIASymphony SP след приключването на цикъла.

Забележка: С помощта на функцията на апарата QIA Symphony SP са възможни изпълнения през нощта.

По принцип магнитните частици не се пренасят в елуатите. Ако все пак настъпи пренасяне, магнитните частици в елуатите няма да засегнат повечето приложения надолу по веригата.

Ако е необходимо премахване на магнитни частици преди извършване на приложения надолу по веригата, епруветките или плаките, които съдържат елуати трябва най-напред да се поставят в подходящ магнит и елуатите да се прехвърлят в чиста епруетка (вж. „Приложение: Количествено определяне на scfDNA“). Файлове с резултати се генерират за всяка плака за елуиране.

15. Ако RC е само частично използвана, я запечатайте с предоставените уплътняващи ленти за многократна употреба след края на протоколния цикъл, за да предотвратите изпаряване.

Забележка: За повече информация относно съхранението на частично използвани RC, вижте „Съхранение и работа с реактиви“.

16. Изхвърляйте използваните епруетки за проби и отпадъци съгласно местните разпоредби за безопасност. Вижте „Предупреждения и предпазни мерки“ за информация за безопасността.

17. Почистете апарата QIA Symphony SP.

Следвайте инструкциите за поддръжка в ръководствата за потребителя, доставени с апарата. Задължително почиствайте редовно предпазителите за връхчета, за да сведете риска от кръстосано замърсяване до минимум.

18. Затворете отделенията на апарата и изключете апарата QIA Symphony SP.

Контрол на качеството

В съответствие със сертифицираната по ISO Система за управление на качеството на QIAGEN всяка производствена партида QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit се тества по предварително определени спецификации, за да се осигури постоянно качество на продуктите.

Ограничения

Работните характеристики на системата са установени в проучвания на работните характеристики при пречистване на ccfDNA от плазма, генерирана от човешка венозна цяла кръв, взета в PAXgene Blood ccfDNA Tube.

Работните характеристики за QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit са установени с 18S рибозомни и DYS14 Y-хромозомни ccfDNA фрагмента в плазма.

Потребителят носи отговорността да потвърди работните характеристики на системата за всички процедури в неговата лаборатория, които не са включени в изследванията на работните характеристики на QIAGEN и PreAnalytiX.

За да се сведе до минимум рискът от отрицателно отражение върху диагностичните резултати, трябва да се използват адекватни контроли за по-нататъшните приложения. Всички получени диагностични резултати трябва да се интерпретират заедно с другите клинични или лабораторни констатации.

Ръководство за отстраняване на проблеми

Това ръководство за отстраняване на проблеми може да бъде полезно за отстраняване на проблеми, които биха могли да възникнат. За информация за контакт и списък с често задавани въпроси посетете страницата на съответния продукт на www.PreAnalytiX.com или www.qiagen.com.

Коментари и предложения	
Обща работа	
a) Съобщение за грешка се появява на сензорния екран	Ако съобщение за грешка се покаже по време на протокол, проверете какво означава в ръководствата за потребителя, доставени с аппарата.
b) Вариращ обем на елуат след цикли през нощта	За оптимизация на производителността наборът QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit поддържа обработка на проби през нощта чрез охлаждане на елуати върху аппарата QIASymphony SP. По време на дълги периоди на охлаждане обемите на елуата могат да се променят в зависимост от температурата и влажността в лабораторията. Ако избраният обем например е 60 µL при 15 – 25 °C и 30 – 60% влажност, обемът може да е в диапазона от 50 – 85 µL след 12-часово съхранение в аппарата.
Криоутайки след размразяване на плазмени проби	
a) В плазмата се образуват криоутайки	За да се избегне образуване на криоутайки, плазмата може да се размразява при 30 °C за 30 минути вмести при стайна температура. Не размразявайте при ниски температури (напр. 4 °C). Разбъркайте епруветката 30 секунди на вортекса след размразяване
b) Нисък добив на ccfDNA от плазма след отстраняване на криоутайки	Не центрофугирайте плазмата за премахване на криоутайки, тъй като те могат да съдържат ccfDNA.
Недостатъчен обем на плазмата от епруветките PAXgene Blood ccfDNA Tube	
a) По-малко от 10 mL кръв, взета в епруветка PAXgene Blood ccfDNA Tube	Уверете се, че 10 mL кръв е взета в епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube. Вижте Инструкциите за употреба на PAXgene Blood ccfDNA Tube.
b) Висока клетъчна фракция	Високото ниво на клетъчна фракция (хематокрит) в човешка цяла кръв (например над 51% за мъже или 47% за жени) може да доведе до намалени обеми на плазмата.

		Коментари и предложения
c)	Нисък добив на плазма след центрофугиране	По-дългото съхранение и транспорт на кръв или различните условия на центрофугиране от посочените могат да повлияят върху добивите плазма.

Утайка в улея на отворена касета за реактив (RC) в QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit

a)	Изпаряване на буфер	Твърде силно изпаряване може да доведе до повишена концентрация на соли в буферите. Изхвърлете RC. Задължително запечатвайте улеите за буфери на частично използвана RC с уплътняващи ленти за многократна употреба, когато не се използва за пречистване.
b)	Съхранение на RC	Съхранение на RC под 15 °C може да доведе до образуване на утайки.

Нисък добив на ccfDNA

a)	Магнитните частици не са напълно ресуспендирани	Преди да започне процедурата, магнитните частици задължително трябва да бъдат напълно ресуспендирани. Разбъркайте в продължение на поне 3 минути преди употреба. Непълното ресуспендиране може да доведе до грешки в пипетирането.
b)	Запушване на връх на пилета с неразтворим материал	Неразтворим материал не е бил отстранен от пробата преди започването на процедура за пречистване с аппарата QIASymphony SP.
c)	Материалът на пробата съдържа ниска концентрация на ccfDNA	Поради много ниски количества на ccfDNA в плазмените проби, измерването на концентрацията на ccfDNA може да е предизвикателство в зависимост от използвания метод за количествено определяне. Препоръчва се използване на чувствителен qPCR за проверка на концентрацията на ccfDNA в елуати.
d)	Непълно повторно запечатване на RC	Обмен с околнен въздух може да доведе до намалена стабилност на буферите, което води до намалена ефективност на извличането на ccfDNA с частично използвана RC. Задължително запечатвайте внимателно улеите за буфери на частично използвана RC с уплътняващи ленти за многократна употреба, когато не се използва за пречистване.

Ниска производителност на ccfDNA в приложения надолу по веригата

a)	Елуатът е концентриран чрез вакуумно центрофугиране	Не концентрирайте елуата чрез вакуумно центрофугиране (напр. в SpeedVac® или подобен инструмент). Това може да доведе до разграждане вследствие на високи температури и концентрирани соли в елуата, което може да попречи на приложенията надолу по веригата.
b)	Пренасяне на зърна	По принцип магнитните частици не се пренасят в елуатите. Ако все пак настъпи пренасяне, магнитните частици в елуатите няма да засегнат повечето приложения надолу по веригата. В случай, че за конкретни анализи надолу по веригата са необходими високи части елуати, те могат да се центрофугират надолу и да се прехвърлят в чиста епруветка.












Коментари и предложения

Липсващ/непълнен трансфер на проба

a)	Неправилен обем проба е зареден за стандартни протоколи	Ако е зареден по-нисък обем проба от посочения, има повишен риск от неясна флагова сигнализация на пробата или от липсващ трансфер на пробата (неправилна флагова сигнализация). Заредете правилния обем проба, както е описано в съответния лист на протокола и списъка с лабораторни материали.
b)	Мехурчета и/или пяна в епруветка с проба	Мехурчетата или пяната в пробата и/или в епруветката за въвеждане на пробата могат да доведат до неправилно откриване на нивото на течността и до последващ непълнен трансфер на пробата. Отстранете мехурчетата от епруветката с проба.

СИМВОЛИ

Следните символи може да фигурират в инструкциите за употреба или на опаковката и етикетите. Допълнителните символи са обяснени в Съдържание на набора (страница 9).

Символ	Описание на символа
 $\Sigma <N>$	Съдържа достатъчно реактиви за $<N>$ теста Указва общия брой IVD тестове, които могат да се изпълнят с IVD.
	Използвайте до
	Медицинско изделие за инвитро диагностика
	CE маркировка. Този продукт отговаря на изискванията на Европейски регламент 2017/746 за медицински изделия за инвитро диагностика.
	Каталожен номер
	Партиден номер
	Номер на материала (т.е., етикет на компонента)
	Компоненти (т. е. списък на това, което е включено)
	Съдържание (съдържанието)
	Брой (т.е. флакони, бутилки)
	Глобален номер на търговска единица
Rn	„R“ означава редакция на Инструкциите (ръководството) за употреба, а „n“ е номерът на редакцията



Температурни ограничения



Производител



Направете справка с инструкциите за употреба



Внимание

PROTK

Proteinase K

WELL

Номер на ямка (т.е. ямка на RC)

REAG | **CART**

Касета с реактиви

Sodium azide

Натриев азид

EC | **REP**

Европейски упълномощен представител в съответствие с Регламент (ЕС) 2017/746

Приложение: Количествено определяне на сcfDNA

Поради много ниските концентрации на сcfDNA в материалите с проби, не се препоръчва измерване на ДНК със спектрофотометър. За определяне на концентрацията на сcfDNA трябва да се използва чувствителен и точен анализ за количествено определяне на базата на флуоресценция или real-time PCR анализ.

Ако трябва да се премахнат магнитни частици поставете епруветката, съдържаща ДНК в подходящ магнитен сепаратор (напр. QIAGEN 12-Tube Magnet, кат. № 36912) до отделянето на магнитните частици.

Ако ДНК е в микрочастици, поставете микроплаката в подходящ магнитен сепаратор (напр. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, кат. № 36915), докато магнитните частици се отделят. Ако няма наличен подходящ магнитен сепаратор, центрофугирайте епруветката, която съдържа ДНК за 1 минута при пълни обороти в микроцентрофуга, за да гранулирате останалите магнитни частици.

Информация за поръчка

Продукт	Съдържание	Кат. №
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Включва 2 RC, епруветки с Proteinase K и принадлежности	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 епруветки: 16 × 100 mm, 1,5 mL добавка, 10 mL обем на изтегляне на кръв	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	Модул за подготовка на проби на QIASymphony, 1-годишна гаранция за части и труд	9001297
Свързани продукти на QIAGEN		
Proteinase K (10 mL)	1 × 10 mL бутилка	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	Държач за RC за употреба с апарата QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym	Адаптер за охлаждане за 2 mL епруветки със завиващи се капачки. За употреба в отделението „Eluate“ (Елуат) на апарата QIASymphony SP	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Адаптер за охлаждане за стативи за EMT. За употреба в отделението „Eluate“ (Елуат) на апарата QIASymphony SP	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Охлаждащ адаптер за епруветки 1,5 mL Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock. За употреба в отделението „Eluate“ (Елуат) на апарата QIASymphony SP	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Касети за подготовка на аликвотни части с 8 ямки за употреба с апарата QIASymphony SP	997002

Продукт	Съдържание	Кат. №
8-Rod Covers (144)	8-прътни калъфи за употреба с апарата QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µL (1024)	Филтърни връхчета за еднократна употреба, на статив; (8 × 128). За употреба с апарат QIAcube® и QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024)	Филтърни връхчета за еднократна употреба, на статив; (8 × 128). За употреба с апарат QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Торби за изхвърляне на връхчета за употреба с апарат QIASymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Магнит за отделяне на магнитни частици в 12 × 1,5 mL или 2 mL епруветки	36912
96-Well Magnet Type A	Магнит за отделяне на магнитни частици в ямки на 96-ямкови плаки, 2 × 96-ямкови микроплаки FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Комплекти уплътнения за многократна употреба за запечатване на частично използвани RC на QIASymphony	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Нестерилни полипропиленови епруветки (0,85 mL максимална вместимост, по-малко от 0,7 mL вместимост за съхранение, 0,4 mL капацитет за елуиране); 2304 в стативи по 96; включва ленти за затваряне	19588
Caps for Elution Microtubes (50 × 8)	Капачки за микроепруветки за елуиране (50 × 8)	19591
14 mL Falcon Tube	Полистиренова епруветка с обло дъно 17 × 100 mm, използвана като носач на аликвотни части за апарата QIASymphony SP	Corning, 352051

Хронология на редакциите на документа

Редакция	Описание
R1, май 2021 г.	Първо издание
R2, май 2022 г.	„(CE-IVD)“ е премахнато в някои случаи. Актуализирана е таблицата със съдържанието на набора. Включена е връзката www.PreAnalytiX.com с информация за това къде могат да бъдат намерени свързани ресурси. Уточнено е, че „пробите“ всъщност са „кръвни проби“ в раздела „Информация за безопасността“. „Изхвърляйте отпадъците от пробите и анализите“ е променено на „Изхвърляйте отпадъците от биологично опасните материали и набори“ в раздела „Информация за безопасността“. Актуализирани раздели „А) Подготовка на плазма от кръв за стандартни протоколи“ и „В) Подготовка на плазма от кръв за работа с първични епруветки на аппарата QIASymphony SP“.
R3, февруари 2023 г.	Адресът на PreAnalytiX GmbH е променен от „Feldbachstrasse“ на „Garstligweg 8“. Актуализация на раздела „Предпазни мерки“ В раздела „Информация за безопасността“ е добавена информация за спешни случаи. В раздела „Информация за безопасността“ е коригиран каталожния номер на Proteinase K (100 mL). Направени са промени в оформлението и редакциите.

Забележки

Забележки



За актуална информация за лицензиране и декларации за освобождаване от отговорност за конкретни изделия вижте съответния наръчник или ръководство за потребителя на набора PreAnalytiX® или QIAGEN®. Ръководствата и наръчниците за потребителя на наборите PreAnalytiX и QIAGEN са достъпни на адрес www.qiagen.com или могат да бъдат заявени от отдела за технически услуги на QIAGEN или местния ви дистрибутор.

Разгледайте повече на www.PreAnalytiX.com

HB-2866-003 02/2023



A QIAGEN / BD Company