

2023. gada februāris

QIASymphony® PAXgene® Blood ccfDNA Kit komplekta lietošanas instrukcijas (rokasgrāmata)



192

1. versija



Lietošanai in vitro diagnostikā



768566

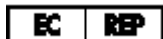


PreAnalytiX GmbH

Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Šveice



1130770LV



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, VĀCIJA

PreAnalytiX Company

PreAnalytiX GmbH

8634 Hombrechtikon

Šveice

www.PreAnalytiX.com

Preču zīmes: 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 vai tā filiāles).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

1130770LV HB-2866-003

© 2023 PreAnalytiX GmbH. Ja vien nav norādīts citādi, PreAnalytiX, PreAnalytiX logotips un visas pārējās preču zīmes ir PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH īpašums.

Ierobežots licences līgums QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplektam

Šī produkta izmantošana apliecina katra QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekta pircēja vai lietotāja piekrišanu tālāk minētajiem nosacījumiem.

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

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

PreAnalytiX izplatītāji

PreAnalytiX produktus ražo un izplata QIAGEN vai BD pēc PreAnalytiX pasūtījuma.

Saturs

Saturs	3
Paredzētā lietošana.....	5
Paredzētais lietotājs.....	5
Apraksts un darbības principi	6
Kopsavilkums un skaidrojums	6
Procedūras principi	7
Komplektā ietvertie materiāli	9
Komplekta saturs	9
Nepieciešamie, bet komplektā neietvertie materiāli	10
Iekārta	10
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi	11
Drošības informācija	11
Piesardzības pasākumi	12
Reaģentu glabāšana un lietošana.....	14
Komplekta komponenti	14
Parauga materiālu ņemšana un sagatavošana.....	16
Procedūra	20
Pārskats. Automatizēta ccfDNA attīrīšana QIASymphony SP instrumentā.....	20
Protokola pārskats	25
Protokols: Automatizēta ccfDNA attīrīšana QIASymphony SP instrumentā	28
Kvalitātes kontrole	32
Ierobežojumi	32

Problēmu novēršanas rokasgrāmata.....	33
Simboli.....	35
Pielikums. ccfDNA kvantitatīvā noteikšana	37
Informācija par pasūtīšanu	38
Dokumenta pārskatīšanas vēsture	40

Paredzētā lietošana

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekts izmantošanai kopā ar QIASymphony SP instrumentu ir paredzēts cirkulējošu bezšūnu DNS (ccfDNA) automatizētai izolēšanai un attīrīšanai no plazmas, kas iegūta no PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņā paņemto cilvēka nesadalītu venozo asiņu parauga.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplektā ir izmantota magnētisko daļiņu tehnoloģija, lai no cilvēka plazmas automātiski izolētu un attīrītu ccfDNA.

Šo QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplektu ir paredzēts lietot *in vitro* diagnostikā, un to var lietot tikai speciālisti, piemēram, laboranti un ārsti, kuriem ir zināšanas par molekulāri bioloģisko metožu izmantošanu.

Paredzētais lietotājs

Šis komplekts ir paredzēts profesionālai lietošanai.

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

Apraksts un darbības principi

Kopsavilkums un skaidrojums

Cirkulējošās bezšūnu DNS (ccfDNA) plazmā parasti īsu fragmentu veidā (<1000 bp). ccfDNA koncentrācija plazmā parasti ir zema (var būt diapazonā no 1 līdz 100 ng/ml), katrai personai būtiski atšķiras. PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņš ar CE atbilstības zīmi kopā ar QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplektu nodrošina asins parauga ņemšanas, uzglabāšanas un transportēšanas darbplūsmu, DNS stabilizēšanu slēgtā stobriņā, kā arī turpmāku ccfDNA izdalīšanu un attīrīšanu no cilvēka plazmas, izmantojot QIAGEN® QIASymphony SP instrumentu.

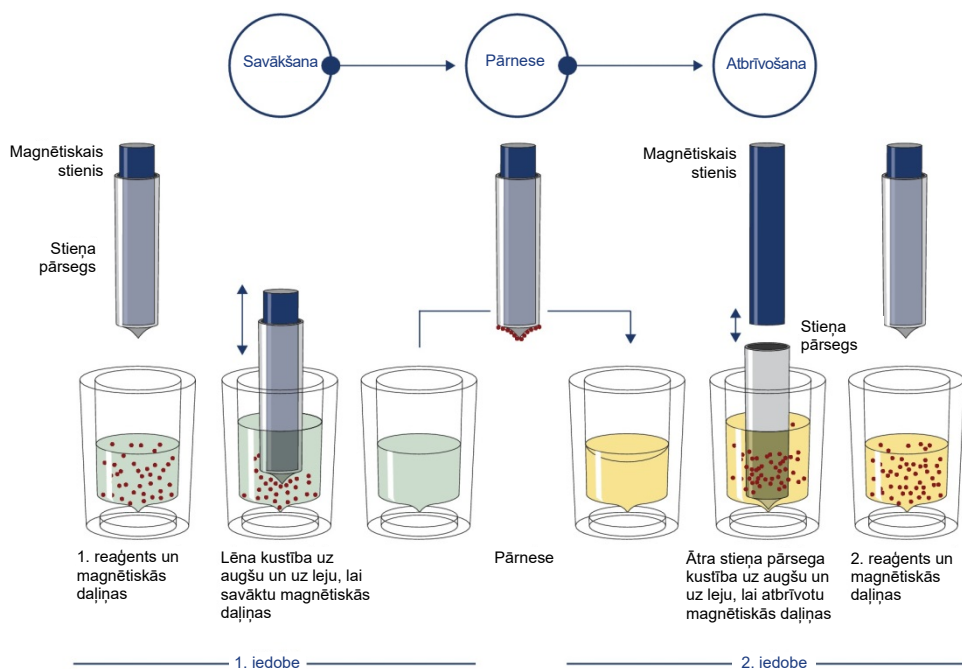
ccfDNA ekstrahēšanai no 2,4 un 4,8 ml plazmas, kas iegūta no PAXgene Blood ccfDNA Tubes stobriņiem, veicot divkārtu centrifugēšanu, ir nodrošināti protokoli izpildei QIASymphony SP instrumentā. Plazma tiek pārnesta un apstrādāta sekundārajā stobriņā, izmantojot QIASymphony SP instrumentu.

Ir pieejami arī primāro stobriņu ar plazmas ievades tilpumu 2,4 un 4 ml apstrādes protokoli QIASymphony SP instrumentā. Šādā gadījumā nav nepieciešams veikt sekundāro centrifugēšanas darbību vai plazmas pārvešanu papildu stobriņā.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekta magnētisko daļiņu tehnoloģija nodrošina augstas kvalitātes ccfDNA, kas nesatur proteīnus, nukleāzes un citus piemaisījumus, attīrīšanu. QIASymphony SP instruments veic visas attīrīšanas procedūras darbības. Vienā izpildē tiek apstrādāti līdz 96 paraugi, kas sadalīti partijās līdz 24 paraugiem. Informāciju par genoma DNS (gDNA) izolēšanu no PAXgene Blood ccfDNA Tubes stobriņos paņemtu asins paraugu kodolsaturošo šūnu frakcijas QIASymphony SP instrumentā skatiet norādījumus, kuri sniegti PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņu lietošanas instrukcijās (www.PreAnalytiX.com).

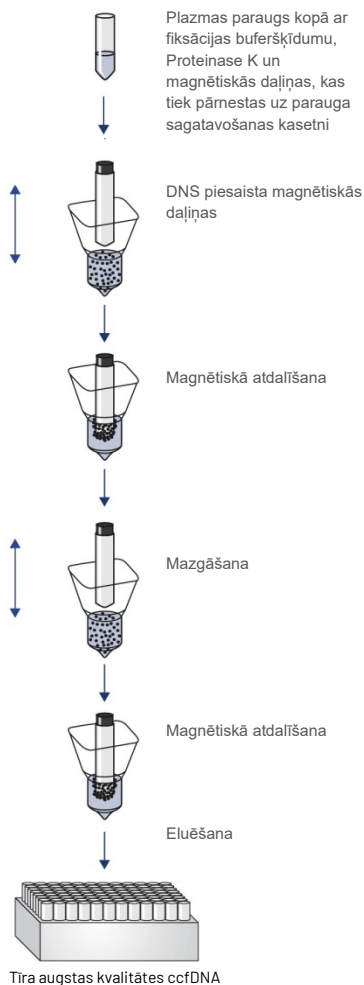
Procedūras principi

Pielietojamā QIASymphony SP instrumenta tehnoloģija apvieno uz anjonu apmaiņu balstītas nukleīnskābju attīrīšanas ātrumu un efektivitāti ar ērtu magnētisko daļiņu apstrādi (1. attēls). Attīrīšanas procedūra ir izstrādāta tā, lai garantētu potenciāli infekciozo paraugu drošu un reproducējamu apstrādi, un tā ietver 3 darbības: saistīšanu, mazgāšanu un eluēšanu (2. attēls). Lietotāji var izvēlēties dažādus parauga ievades tilpumus.



1. attēls. QIASymphony SP instrumenta darbības principa shematiska diagramma. QIASymphony SP instruments apstrādā paraugu, kurš satur magnētiskās daļiņas šādi: ar stieņa pārsegu aizsargātais magnētiskais stienis tiek ievietots iedobē ar paraugu un piesaista magnētiskās daļiņas. Magnētiskā stieņa pārsegs tiek novietots virs citas iedobes, un magnētiskās daļiņas tiek atbrīvotas. Šīs darbības parauga apstrādes laikā atkārto vairākas reizes. QIASymphony SP instruments izmanto magnētisko galvu, kura ietver 24 magnētisko stieņu virkni, un tajā vienlaikus var apstrādāt līdz 24 paraugus.

QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekts



2. attēls. Darbības ccfDNA ekstrahēšanai, izmantojot QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplektu. ccfDNA fragmentus izolē no cilvēka nesadalītu venozo asiņu parauga, kas paņemts PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņā. Pirmās apstrādes darbības laikā Proteinase K noārda plazmas proteīnus, vienlaikus ccfDNA piesaistās magnētisko daļiņu virsmai. Trīs mazgāšanas darbības garantē kontaminantu izvadišanu. Visbeidzot ccfDNA tiek eluēta no magnētiskajām daļiņām, un to var izmantot turpmākajos procesos.

Komplektā ietvertie materiāli

Komplekta saturs

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) Kataloga Nr. Reakciju skaits		(192) 768566 192		
Saišinjums	Identifikācija	Daudzums	Aktīvās sastāvdaļas	Koncentrācija [%]**
RC	Reagent cartridge (Reaģentu kasetne)*†	2	Nejonisks mazgāšanas līdzeklis Anjonu apmaiņas magnētiskā daļiņa NaOH Etanols	≥0,5 – <10 [masas daļa] – ≥0,05 – <0,1 [masas daļa] ≥70 – <90 [tilpuma daļa]
PROTK	Proteinase K (Proteināze K)†	5 × 10 ml	Proteinase K	≥1 – <3 [w/w]
PL	Piercing lid (Caurduršanas vāks)	2	–	–
RSS	Reuse Seal Set (Atkārtoti lietojamo blīvēnšu komplekts)‡	2	–	–
	Elution Microtubes CL, racked (Elution Microtubes CL statīvā)§	2	–	–
	Caps for Elution Microtubes (Eluēšanas mīkstobriņu vāciņi)§	1 × (55 × 8)	–	–
	Lietošanas instrukcijas (rokasgrāmata)	1	–	–
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	–	–

* Kā konservantu satur nātrija azīdu.

† Simbolu un definīciju sarakstu skatīt šeit: 35. lpp.

‡ Komplektā Reuse Seal Set iekļautas 8 atkārtoti lietojamas blīvēntes.

§ Pieejamas arī atsevišķi (skatīt šeit: Informācija par pasūtīšanu).

** Maksimālā koncentrācija vienā iedobē.

Nepieciešamie, bet komplektā neietvertie materiāli

Strādājot ar ķīmiskām vielām un bioloģiskas izcelsmes paraugiem, vienmēr ievērojiet vispārējos piesardzības pasākumus un valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles saskaņā ar konkrētās iestādes prasībām un procedūrām. Lai saņemtu papildinformāciju, lūdzu, iepazīstieties ar attiecīgajām drošības datu lapām (DDL), kas ir pieejamas pie produkta piegādātāja.

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

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, kat. Nr. 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, kat. Nr. 997004)
- Filter-Tips, 200 µl and 1500 µl (QIAGEN, kat. Nr. attiecīgi 990332 un 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, kat. Nr. 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (PreAnalytiX, kat. Nr. 768165)
- Paraugu stobriņi. Lai iegūtu informāciju par primārajiem un sekundārajiem stobriņu formātiem, skatiet laboratorijas piederumu sarakstu, kas ir pieejams produktu lapu sadaļas Product Resource (Produktu resursi) cilnē un sadaļas Resources (Resursi) cilnēs attiecīgi vietnē www.qiagen.com un www.PreAnalytiX.com.
- Lai iegūtu informāciju par saderīgajiem eluēšanas stobriņu formātiem, skatiet laboratorijas piederumu sarakstu, kas ir pieejams produktu lapu sadaļas Product Resource (Produktu resursi) cilnē un sadaļas Resources (Resursi) cilnēs attiecīgi vietnē www.qiagen.com un www.PreAnalytiX.com.

Iekārta*

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

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

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

Lietošanai *in vitro* diagnostikā.

Pirms komplekta lietošanas rūpīgi izlasiet visus norādījumus.

Ņemiet vērā, ka Klientiem Eiropas Savienībā ir jāziņo ražotājam un kompetentajai iestādei Dalībvalstī, kurā lietotājs un/vai pacients ir reģistrēts, par nopietniem incidentiem, kuri ir notikuši saistībā ar ierīci.

Drošības informācija

Strādājot ar ķīmiskām vielām un bioloģiskas izcelsmes paraugiem, vienmēr ievērojiet vispārējos piesardzības pasākumus un valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles saskaņā ar konkrētās iestādes prasībām un procedūrām. Lai iegūtu papildinformāciju, skatiet attiecīgās drošības datu lapas (DDL). Tās ir pieejamas PDF formātā tiešsaistē vietnē www.qiagen.com/safety, kur var meklēt, skatīt un drukāt PreAnalytiX komplektu un komplektu komponentu DDL.

- Visas ķīmiskās vielas un bioloģiskie materiāli ir potenciāli bīstami. Asinis paraugi ir potenciāli infekciozi, un tie jāapstrādā kā bioloģiski bīstami materiāli.
- Likvidējiet bioloģiski bīstamus materiālus un komplektu atkritumus saskaņā ar vietējām drošības procedūrām.

Ar ārkārtas situācijām saistīta informācija

CHEMTREC

ASV un Kanāda 1-800-424-9300

Ārpus ASV un Kanādas +1 703-527-3887

Piesardzības pasākumi

Buferšķīdumi reaģentu kasetnē (RC) satur nātrija azīdu. Ja komplekta buferšķīdumi tiek izšķakstīti, noslaukiet ar piemērotu laboratorijas mazgāšanas līdzekli un ūdeni. Ja izšķakstītais šķidrums satur potenciāli infekciozas vielas, vispirms notīriet skarto vietu ar laboratorijas mazgāšanas līdzekli un ūdeni un pēc tam ar 1% (v/v) nātrija hipohlorītu (hlors).

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

MBS3

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

Proteinase K



Satur: Proteinase K. Bīstami! Izraisa mērenu ādas kairinājumu. Ieelpošanas gadījumā var izraisīt alerģijas vai astmas simptomus vai elpošanas traucējums. Izvairieties ieelpot putekļus/tvaikus/gāzi/dūmus/izgarojumus/smīdzinājumu. Valkājiet aizsargcimodus, aizsargapģērbu, aizsargbrilles, sejas masku. Lietojiet elpceļu aizsardzības līdzekļus. Saskaņojiet gadījumā vai ja ir aizdomas par to: Sazinieties ar slimību profilakses un kontroles centru/ģimenes ārstu. Pārvietot cietušo svaigā gaisā un novietot mierīgā pozīcijā, kurā nav apgrūtināta elpošana.

QSE2



Satur: nātrija hidroksīdu. Bīstami! Izraisa smagus ādas apdegumus un acu traumas. Utilizējiet komponentus/ konteineru, to nododot apstiprinātam atkritumu pārstrādes uzņēmumam. **Ja iekļūst acīs:** uzmanīgi skalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to ir viegli izdarīt. Turpināt skalot. **Ja nokļūst uz ādas (vai matos):** nekavējoties novilkt visu piesārņoto apģērbu. Skalojiet ādu ar ūdeni/dušu. Nekavējoties sazinieties ar slimību profilakses un kontroles centru vai ārstu. Uzglabājiet slēgtā veidā. Valkājiet aizsargcimdus, aizsargapģērbu, aizsargbrilles, sejas masku.

QSW9



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

Reaģentu glabāšana un lietošana

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekts ir jāuzglabā istabas temperatūrā (15–25 °C). Uzglabājot šajā temperatūrā, reaģentu kasetnēs (Reagent Cartridge, RC) esošās magnētiskās daļiņas saglabājas aktīvas.

Piezīme. Uz QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekta kārbas etiķetes ir norādīts komplekta derīguma termiņš. Derīguma termiņš attiecas uz reaģentu kasetni.

Nelietojiet QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplektu, ja ir beidzies tā derīguma termiņš.

Komplekta komponenti

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

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

Atvērtas QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekta RC var uzglabāt istabas temperatūrā (15–25 °C) līdz 4 nedēļām, kas nodrošina efektīvu reaģentu atkārtotu izmantošanu un elastīgāku paraugu apstrādi, ja tās pēc lietošanas ir pareizi hermētiski noslēgtas. Ja RC ir izmantota daļēji, nomainiet magnētiskās daļiņas saturošās iedobes vāku un hermētiski noslēdziet RC ar atkārtoti lietojamām blīvlentēm uzreiz pēc protokola izpildes beigšanas, lai novērstu iztvaikošanu.

Lai novērstu reaģentu iztvaikošanu, RC var būt atvērta maksimāli 15 stundas (iekļaujot izpildes laiku) maksimālajā vides temperatūrā 32 °C. Nepareiza komplekta komponentu uzglabāšana var izraisīt paātrinātu buferšķīdumu novecošanos.

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

Nepakļaujiet RC UV gaismas iedarbībai (piemēram, ja to izmanto dekontaminācijai), jo iedarbība var paātrināt reaģenta kasetņu (RC) un buferšķīdumu novecošanos.

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

Parauga materiālu ņemšana un sagatavošana

Attīrīšanas procedūra ir optimizēta izmantošanai ar plazmu, kas iegūta no PAXgene Blood ccfDNA Tubes stobriņos paņemtajiem asins paraugiem. Informāciju par asins paraugu ņemšanu, rīkošanos ar šiem stobriņiem un plazmas atdalīšanu skatiet PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņa lietošanas instrukcijās, kuras pieejamas produktu lapu sadaļas Product Resource (Produktu resursi) cilnē un sadaļas Resources (Resursi) cilnēs attiecīgi vietnē www.qiagen.com un www.PreAnalytiX.com.

Plazmas sagatavošanu var veikt, izmantojot (A) standarta divkāršās centrifugēšanas protokolu vai (B) apstrādājot primāros stobriņus: vienreizējas centrifugēšanas PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņu tiešā apstrāde tieši QIASymphony SP instrumentā.

A) Plazmas sagatavošana no asinīm standarta protokolu izpildei

1. Centrifugējiet PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņu 15 minūtes istabas temperatūrā (15–25 °C) ar ātrumu 1600–3000 × g (pirmā centrifugēšana), izmantojot līdzsvarotu izvelkamo kausu centrifūgu. Ja ir vēlama bremsēšana, ieteicams izmantot vidēja līmeņa bremsēšanu, un tai jābūt apstiprinātai jūsu konkrētajai darbplūsmai.

Piezīme. Lai nodrošinātu paraugu, kas pirms centrifugēšanas glabāti ledusskapī, labāko veiktspēju, pirms apstrādes vēlreiz sajauciet paraugu, apvēršot trīs reizes, un nogaidiet, līdz stobriņi sasniedz istabas temperatūru.

2. Pipete 15 ml centrifūgas stobriņā ar konisku apakšu (nav iekļauta komplektā) un ievērojiet piesardzību, lai nesabojātu kodolsaturošu šūnu frakciju.
3. Centrifugējiet 15 ml stobriņu ar konisko dibenu 10 minūtes istabas temperatūrā (15–25 °C) ar ātrumu 1600–3000 × g (otrā centrifugēšana), izmantojot līdzsvarotu centrifūgu.

Piezīme. Nepārsniedziet sekundāro stobriņu ražotāja maksimālo ieteicamo centrifugēšanas ātrumu.

4. Pipetējiet nepieciešamo plazmas tilpumu (skatīt šeit: "Parauga tilpums". sadaļa 20. lpp.) 14 ml, 17 × 100 mm polistirola apaļgala stobriņā, pārliedzinoties, ka netiek aizskartas atlikušās asins šūnas granulas, ja tāda ir.
5. Pārvietojiet apaļgala stobriņu un plazmas paraugu stobriņu turētājā un ievietojiet to QIASymphony SP instrumenta paraugu ievietošanas atvilktnē.

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

Piezīme. Pipetēšanas laikā novērsiet putu veidošanos plazmas parauga virsmā vai uz tās. Ja paraugos ir putas vai gaisa burbuļi, var tikt pipetēts nepareizs parauga tilpums.

Piezīme. Kad plazma ir pārnesta sekundārajā stobriņā, ccfDNA ir stabila 3 dienas 15–25 °C temperatūrā vai 7 dienas 2–8 °C temperatūrā. Ilgākai uzglabāšanai ieteicams sasaldēt alikvotās daļas –20 °C vai –80 °C temperatūrā.

Piezīme. Ja tiek izmantoti iepriekš uzglabāti plazmas paraugi (piemēram, uzglabāti 2–8 °C temperatūrā vai sasaldēti –20 °C vai –80 °C temperatūrā), pirms izpildes palaišanas nogaidiet, līdz tie sasniedz istabas temperatūru (15–25 °C) (informāciju par sasaldētiem paraugiem skatīt sadaļā "C) PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņos apstrādāto plazmas paraugu sasaldēšana un atkausēšana").

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

1. Centrifugējiet stobriņu PAXgene Blood ccfDNA Tube 15 min istabas temperatūrā (15-25°C) ar ātrumu $3\ 000 \times g$, izmantojot līdzsvarotu svārstīgo kausu centrifūgu. Ja ir vēlama bremsēšana, ieteicams izmantot vidēja līmeņa bremsēšanu un tai jābūt apstiprinātai jūsu konkrētajai darbplūsmai.

Piezīme. Lai nodrošinātu paraugu, kas pirms centrifugēšanas glabāti ledusskapī, labāko veikspēju, pirms apstrādes vēlreiz sajauciet paraugu, apvēršot trīs reizes, un nogaidiet, līdz stobriņi sasniedz istabas temperatūru.

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

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

Piezīme. Pirms stobriņa ievietošanas instrumentā pārbaudiet, vai ir notikusi skaidra atdalīšana.

3. Pirms PAXgene Blood ccfDNA Tubes stobriņu ievietošanas QIASymphony SP instrumentā tiešai ccfDNA ekstrakcijai noņemiet no tiem Hemogard Closure Cap vāciņu.

Piezīme. Lai novērstu paraugu izšļakstīšanās un krusteniskās kontaminācijas starp stobriņiem un tās iedarbību uz asinīm, stobriņu vāciņi jānoņem un ar atvērtajiem stobriņiem jārikojas, ievērojot īpašu piesardzību.

4. Ievietojiet PAXgene Blood ccfDNA Tubes stobriņus ar pietiekamu plazmas daudzumu bez vāciņiem turētājā un stobriņu turētāju ievietojiet QIASymphony SP instrumenta paraugu ievietošanas atvilktnē.

C) PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņos apstrādāto plazmas paraugu sasaldēšana un atkausēšana

1. Lai plazmu sasaldētu, pārnesiet to piemērotos stobriņos (piemēram, krioflakonos), kas ievietoti attiecīgā statīvā.
2. Sasaldējiet un uzglabājiet plazmu -20°C temperatūrā. Ja plazmas paraugi tiek uzglabāti zemākā par -20°C temperatūrā, vispirms sasaldējiet tos -20°C temperatūrā vismaz 24 st. un pēc tam pārnesiet tos -80°C temperatūrā.

3. Atkausējiet plazmu istabas temperatūrā ($15-25^{\circ}\text{C}$).

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

4. Ja plazmā veidojas krioprecipitāti, pēc atkausēšanas maisiet stobriņu 30 s un izmantojiet paraugu QIASymphony SP instrumentā ccfDNA izolēšanas procedūrai bez papildu apstrādes.

Piezīme. Plazmu nav ieteicams centrifugēt, lai atdalītu krioprecipitātus, jo tie var saturēt ccfDNA.

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

Procedūra

Pārskats. Automatizēta ccfDNA attīrīšana QIASymphony SP instrumentā

QIASymphony SP instrumentā automatizētā paraugu sagatavošana notiek vienkārši un ērti. Paraugi, reaģenti, palīgmateriāli un eluāti atrodas atsevišķi dažādās atvilktnēs. Pirms izpildes vienkārši ievietojiet paraugus, reaģentus, kas piegādāti īpašās kasetnēs, un statīvos ievietotus palīgmateriālus attiecīgajā atvilktnē. Pēc apstrādes palaidiet protokola izpildi un izņemiet attīrīto ccfDNA no atvilktnes "Eluate" (Eluāts). Lietošanas instrukcijas skatiet instrumenta komplektācijā iekļautajās lietošanas rokasgrāmatās.

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

Parauga tilpums

Lai nodrošinātu, ka regulārajā darbplūsmā ar instrumentu tiek pārnesti 2,4 ml (protokols PAXcircDNA_2400) un 4,8 ml parauga (protokols PAXcircDNA_4800), ir nepieciešams neizmantojamais tilpums, attiecīgi 0,4 un 0,5 ml, un līdz ar to jānodrošina vismaz 2,8 un 5,3 ml parauga ievades tilpuma. Ja pieejamais plazmas tilpums ir mazāks par 2,8 vai 5,3 ml, režīms **Less Sample** (Mazāks parauga tilpums), integrēta protokola funkcija, automātiski ļauj pārnest mazāku plazmas tilpumu, kas ir mazāks par norādīto. Šādā gadījumā instruments pārnes mazāku parauga tilpumu. Pipetētā plazmas tilpuma atšķirība tiek reģistrēta rezultātu failā. Turklāt attiecīgie paraugi tiek atzīmēti kā **neskaidri** (kļūdas kods 140043, režīms **Enable Less Sample** (Iespējot mazāku parauga tilpumu)). Lai iespējotu režīmu **Less Sample** (Mazāks parauga tilpums), jāizmanto minimālais plazmas ievades tilpums 1,6 un 4,1 ml. Ja tiek izmantots mazāks paraugu tilpums, paraugi netiks apstrādāti un tiks atzīmēti kā **nederīgi**. Primārā stobriņa apstrādes darbplūsmai tiek nodrošināts atbilstošs parauga tilpums, izmantojot komplektā iekļauto PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (aprakstīts šeit: "Parauga materiāla sagatavošana" 24. lpp.).

Reaģentu kasetņu (RC) ievietošana atvilktnē “Reagents and Consumables” (Reaģenti un palīgmateriāli)

Inovatīvā reaģentu kasetne (RC) ietver reaģentus ccfDNA attīrīšanai (3. attēls). Katra RC satur noteiktu reaģentu, piemēram, magnētiskās daļiņas, saistīšanas, skalošanas vai eluēšanas buferšķīdumu. Daļēji izlietotas reaģentu kasetnes (RC) var aizvērt izmantojot blīvļenti, lai vēlāk tās varētu izmantot atkārtoti, tādējādi izvairoties no atkritumu veidošanās pārpalikušu reaģentu dēļ attīrīšanas procedūras beigās.



3. attēls. QIASymphony reaģentu kasetne (Reagent Cartridge, RC). RC satur visus protokola izpildei nepieciešamos reaģentus.

Pirms procedūras sākšanas obligāti pārbaudiet, vai magnētiskās daļiņas ir līdz galam resuspendētas. Pirms pirmās lietošanas noņemiet no reaģentu kasetnes korpusa magnētisko daļiņu iedobi, enerģiski kratiet to vismaz 3 min. un ievietojiet to atpakaļ RC kasetnes korpusā.

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

Ievietojiet RC tās turētājā. Pirms RC izmantošanas pirmo reizi, uzlieciet RC augšpusē caurduršanas vāku (3. attēls).

Piezīme. Caurduršanas vāks ir ass. Uzliekot to RC, ievērojiet piesardzību.

Caurduršanas vāks ir obligāti jāuzliek RC pareizā virzienā.

Kad magnētisko daļiņu iedobes vāks ir noņemts, RC tiek ievietota atvilktnē "Reagents and Consumables" (Reaģenti un palīgmateriāli).

Dalēji izlietotās RC var uzglabāt, līdz tās atkal ir nepieciešamas (skatīt šeit: "Reaģentu glabāšana un lietošana" 14. lpp.).

Piezīme. Jāpievieno Proteinase K (skatīt šeit: "Pirms darba sākšanas veicamās darbības" 26).

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

Plastmasas izstrādājumu ievietošana atvilktnē "Reagents and Consumables" (Reaģenti un palīgmateriāli)

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

Piezīme. Pirms ierīces bloku ievietošanas atvilktnē "Reagents and Consumables" (Reaģenti un palīgmateriāli) pārlicinieties, vai tiem ir noņemti vāki.

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

Uzgaļu statīva ligzdās uz QIASymphony SP instrumenta darba galda var ievietot jebkura tipa uzgaļu statīvus. Krājumu skenēšanas laikā QIASymphony SP instruments identificē ievietoto uzgaļu tipu.

Piezīme. Pirms cita protokola izpildes neuzpildiet vēlreiz paraugu sagatavošanas kasetņu vai 8-Rod Covers uzgaļu statīvus vai ierīces blokus. QIASymphony SP instrumentā var izmantot daļēji izlietotus uzgaļu statīvus un ierīces blokus.

Informāciju par plastmasas piederumu pasūtīšanu skatiet šeit: 38. lpp.

Atvilktnes “Waste” (Atkritumi) ievietošana

Paraugu sagatavošanas kasetnes un 8-Rod Covers, ko izmanto izpildes laikā, tiek pārkārtoti atvilktnes “Waste” (Atkritumi) tukšajos ierīces blokos. Pārbaudiet, vai atvilktnē “Waste” (Atkritumi) ir pietiekami daudz tukšu ierīces bloku plastmasas atkritumiem, kas rodas protokola izpildes laikā.

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

Atvilktnes “Waste” (Atkritumi) priekšpusē jābūt piestiprinātam maisam izlietotajiem filtru uzgaļiem.

Piezīme. Sistēma nepārbauda uzgaļu savākšanas maisa esamību. Pirms sākt protokola izpildi, pārliecinieties, vai uzgaļu savākšanas maiss ir pareizi piestiprināts. Plašāku informāciju skatiet instrumenta komplektācijā iekļautajās lietotāja rokasgrāmatās. Iztukšojiet uzgaļu maisu pēc tam, kad ir apstrādāti maksimāli 96 paraugi, lai nepieļautu uzgaļu sastrēgumu.

Atkritumu konteinerā tiek savākti šķidrie atkritumi, kas radušies attīrīšanas procedūras laikā. Atvilktni "Waste" (Atkritumi) var aizvērt tikai tad, kad atkritumu konteiners atrodas savā vietā. Utilizējiet šķidros atkritumus saskaņā ar vietējiem drošības un vides noteikumiem. Uzpildīto atkritumu pudeli nedrīkst apstrādāt autoklāvā. Iztukšojiet atkritumu pudeli pēc tam, kad ir apstrādāti maksimāli 96 paraugi.

Atvilktnes "Eluate" (Eluāts) ievietošana

Ievietojiet nepieciešamo eluēšanas statīvu atvilktnē "Eluate" (Eluāts). Tā kā eluātu ilgstoša glabāšana atvilktnē "Eluate" (Eluāti) var radīt to iztvaikošanu, obligāti jāizmanto dzesēšanas pozīcija. Izmantojiet "Elution slot 1" (Eluāta 1. atvere) ar atbilstošo dzesēšanas adapteri.

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

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

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

Krājumu skenēšana

Pirms izpildes palaišanas instruments pārbauda, vai rindā esošajai(-ām) partijai(-ām) atbilstošajās atvilktnēs ir ievietots pietiekami daudz palīgmateriālu.

Parauga materiāla sagatavošana

Skatīt "Parauga materiālu ņemšana un sagatavošana" 16. lpp.

ccfDNA uzglabāšana

Pēc paraugu sagatavošanas ccfDNA eluātus var uzglabāt -20 vai -80°C temperatūrā. Sasaldētus eluātus drīkst atsaldēt maksimāli trīs reizes. Aktuālāko informāciju par ccfDNA stabilitāti eluātos skatiet produktu lapā vietnē www.qiagen.com vai www.PreAnalytiX.com.

Protokola pārskats

1. tabula. Protokola pārskats

Paraugs	PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņa apstrāde	Parauga ievades tilpums (tostarp tukšais tilpums) (ml)	ccfDNA ekstrahēšanai izmantotais parauga tilpums (ml)	Eluāta tilpums (µl)	QIASymphony SP instrumenta protokols
No PAXgene Blood ccfDNA Tubes stobriņos paņemta cilvēka nesadalītu venozo asiņu parauga iegūta plazma	Centrifugēšana 2x, plazmas pārņemšana sekundārajā stobriņā	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	Centrifugēšana 1x, tieša apstrāde QIASymphony SP instrumentā	Saskaņā ar atlasēs rīku	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Svarīga informācija pirms darba sākšanas

- Strādājot ar ķīmiskām vielām un bioloģiskas izcelsmes paraugiem, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Sīkāku informāciju skatiet attiecīgajās drošības datu lapās (DDL).
- Obligāti iepazīstieties ar QIASymphony SP instrumenta darbības principiem. Lietošanas instrukcijas skatiet instrumenta komplektācijā iekļautajās lietošanas rokasgrāmatās.

Piezīme. Nepieciešamā programmatūras konfigurācija, kas paredzēta izmantošanai ar IVD ir **Default Profile 1** (Noklusējuma profils Nr. 1).

- Pirms procedūras sākšanas izlasiet sadaļu "Procedūras principi".
- Obligāti iepazīstieties ar protokolu lapu un laboratorijas piederumu sarakstu (pieejams produktu lapu sadaļas Product Resource (Produktu resursi) cilnē un sadaļas Resources (Resursi) cilnēs attiecīgi vietnē www.qiagen.com un www.PreAnalytiX.com).
- RC nav ieteicams enerģiski kratīt, jo pretējā gadījumā var veidoties putas, kas var radīt noteikšanas problēmas šķidrums līmenī.

- Asins paraugs jāpaņem PAXgene Blood ccfDNA Tubes stobriņos (CE-IVD; PreAnalytiX, kat. Nr. 768165). Norādījumus par asins paraugu ņemšanu un apstrādi, kā arī par plazmas apstrādi skatiet lietošanas instrukcijās, kuras pieejamas cilnē **Product Resource** (Produktu resursi) un cilnē Resources (Resursi) attiecīgi vietnē www.qiagen.com vai www.PreAnalytiX.com.

Pirms darba sākšanas veicamās darbības

- Pirms procedūras sākšanas obligāti pārbaudiet, vai magnētiskās daļiņas ir līdz galam resuspendētas. Pirms izmantošanas pirmo reizi enerģiski kratiet iedobi, kas satur magnētiskās daļiņas vismaz 3 min.
- Pārbaudiet, vai caurduršanas vāks ir novietots uz RC un vai magnētisko daļiņu tvertnes vāks ir noņemts, vai, ja tiek izmantota daļēji izlietota RC, pārbaudiet, vai atkārtoti lietojamās blīvļentes ir noņemtas.
- Proteinase K šķīdums nav iekļauts RC, un tas ir jānodrošina lietotājam (paraugu atvilktnes A atveres 1. un/vai 2. pozīcija). Pārbaudiet, vai ir pieejams pareizs Proteinase K šķīduma tilpums.

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

Parauga numurs	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400* (µl)	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* (µl)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11660†
96	11660†	23320†

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

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

Piezīme. Stobriņi, kas satur Proteinase K šķīdumu, tiek ievietoti stobriņu turētājā. Stobriņu turētājs, kas satur stobriņus ar Proteinase K, jāievieto atvilktnes "Sample" (Paraugi) A atveres 1. un 2. pozīcijā. Ieteicams Proteinase K šķīdumam izmantot 14 ml, 17×100 mm polistirola apaļgala stobriņus (Corning, kat. Nr. 352051).

- Ja paraugi ir kodēti ar svītrkodu, novietojiet paraugus stobriņu turētājā tā, lai svītrkodi ir vērsti pret svītrkodu lasītāju QIASymphony SP instrumenta kreisajā pusē.
- Informāciju par parauga stobriņiem un minimālo parauga tilpumu, kas ir saderīgs ar protokoliem skatiet attiecīgajā laboratorijas piederumu sarakstā, kas ir pieejams produktu lapu sadaļas Product Resource (Produktu resursi) cilnē un sadaļas Resources (Resursi) cilnēs attiecīgi vietnē www.qiagen.com un www.PreAnalytiX.com.

Protokols: Automatizēta ccfDNA attīrīšana QIASymphony SP instrumentā

Detalizēta informācija par visiem protokoliem, tostarp par tilpuma vērtībām un stobriņiem, ir sniegta protokolu lapā un laboratorijas piederumu sarakstā, kas ir pieejams produktu lapu sadaļas Product Resource (Produktu resursi) cilnē un sadaļas Resources (Resursi) cilnēs attiecīgi vietnē www.qiagen.com un www.PreAnalytiX.com. Informāciju parauga materiāla sagatavošanu (no PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņā paņemta cilvēka nesadalītu venozo asiņu parauga iegūta plazma) skatiet šīs rokasgrāmatas sadaļā “Parauga materiālu ņemšana un sagatavošana” un “Parauga materiāla sagatavošana”, kā arī stobriņu lietošanas instrukcijas, kuras ir pieejamas produktu lapas cilnē **Product Resources** (Produktu resursi) un cilnē Resources (Resursi) attiecīgi vietnē www.qiagen.com vai www.PreAnalytiX.com.

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

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

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

Izmantojot 96 iedobju plāksni, pārliedzieties, vai plāksne ir novietota pareizā virzienā, jo nepareizs novietojums var izraisīt paraugu sajaukšanos turpmākajā analīzē.

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

5. Pārbaudiet, vai atvilktnē "Waste" (Atkritumi) ir pareizi sagatavota un veiciet atvilktnes "Waste" (Atkritumi) krājumu skenēšanu, iekļaujot uzgaļu tekni, uzgaļu novietošanas sākuma pozīcijā stacija, tukšu šķidro atkritumu konteineru un tukšus ierīces blokus. Ja nepieciešams, nomainiet uzgaļu savākšanas maisu.
6. Ievietojiet vajadzīgo(-ās) reaģentu kasetni(-nes) un palīgmateriālus atvilktnē "Reagents and Consumables" (Reaģenti un palīgmateriāli).
7. Veiciet krājumu atvilktnē "Reagents and Consumables" (Reaģenti un palīgmateriāli) skenēšanu.
8. Ievietojiet paraugus attiecīgajā paraugu turētājā un ievietojiet tos atvilktnē "Sample" (Paraugi).

Piezīme. Papildus regulārajai apstrādei, kas ietver plazmas pārvešanu attiecīgajā sekundārajā stobriņā (14 ml Falcon® polistirola apaļgala stobriņš 17 × 100 mm), kas ievietots attiecīgajā parauga turētājā, PAXgene Blood ccfDNA Tube primāro stobriņu apstrādes darbplūsmā nodrošina ccfDNA ekstrahēšanu tieši no PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņa (10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube, 16 × 100 mm). Norādījumus par rīkošanos ar primāro stobriņu apstrādi skatiet protokolu lapu, laboratorijas piederumu sarakstu un stobriņa lietošanas instrukcijas, kuras pieejamas cilnē Product Resource (Produkta resursi) un cilnē Resources (Resursi) attiecīgi vietnē **www.qiagen.com** vai **www.PreAnalytiX.com**.

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

Ievadiet šādus datus:

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

Kad informācija par partiju ir ievadīta, statuss no LOADED (Ievietots) mainās uz QUEUED (Ievietots rindā). Tiklīdz viena partija ir ievietota rindā, kļūst redzama poga Run (Palaist).

10. Ievietojiet Proteinase K attiecīgajā paraugu nesējā 1. un 2. pozīcijā un ievietojiet nodalījuma "Sample" (Paraugš) slotā A.
11. Definējiet Proteinase K, nospiežot pogu **IC**.
12. Nospiediet pogu Run (Palaist), lai sāktu izdalīšanas procedūru. Visi apstrādes posmi ir pilnībā automatizēti. Protokola izpildes beigās partijas statuss no RUNNING (Izpildē) mainās uz COMPLETED (Pabeigts).
13. Izņemiet eluēšanas statīvu, kas satur attīrītās ccfDNA no atvilktnes "Eluate" (Eluāts). Izmantojot the QIASymphony SP instrumenta programmatūru, apstipriniet eluēšanas statīva izņemšanu.
14. ccfDNA var izmantot vai var uzglabāt 6 mēnešus -20°C vai -80°C temperatūrā. QIAGEN iesaka izņemt eluāta plāksni no atvilktnes "Eluate" (Eluāts) uzreiz pēc izpildes beigām. Atkarībā no temperatūras un mitruma līmeņa uz eluēšanas plāksnēm, kuras nav izņemtas no QIASymphony SP instrumenta, pēc izpildes pabeigšanas var veidoties kondensāts vai var rasties to iztvaikošana.

Piezīme. Izpildēs, kuras tiek veiktas pa nakti, var izmantot QIASymphony SP instrumenta dzesēšanas funkciju.

Parasti magnētiskās daļiņas netiek pārnestas eluēšanas šķīdumos. Ja pārnese nenotiek, eluēšanas šķīdumos esošās magnētiskās daļiņas neietekmē vairumu turpmāko procesu.

Ja magnētiskās daļiņas ir jāatdala pirms turpmāko procesu veikšanas, stobriņi vai plāksnes, kas satur eluēšanas šķīdumus, vispirms ir jāievieto piemērotā magnētā un eluēšanas šķīdumi jāpārnes tīrā stobriņā (skatīt "Pielikums. ccfDNA kvantitatīvā noteikšana"). Rezultātu faili tiek ģenerēti katrai eluēšanas platei.

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

Piezīme. Sīkāku informāciju par daļēji izmantoto reaģentu kasetņu (RC), uzglabāšanu skatiet šeit: “Reaģentu glabāšana un lietošana”.

16. Likvidējiet izlietotos paraugu stobriņus un atkritumus atbilstoši vietējiem drošības noteikumiem. Drošības informāciju skatīt šeit: “Brīdinājumi un piesardzības pasākumi”.

17. Veiciet QIASymphony SP instrumenta tīrīšanu.

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

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

Kvalitātes kontrole

Atbilstoši ISO prasībām sertificētajai QIAGEN kvalitātes pārvaldības sistēmai visas QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekta partijas tiek pārbaudītas, salīdzinot ar iepriekš noteiktiem parametriem, lai nodrošinātu nemainīgu produkta kvalitāti.

Ierobežojumi

Sistēmas veikspēja ir noteikta veikspējas noteikšanas pētījumos, attīrot ccfDNA no plazmas, kas iegūta no PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņā paņemta cilvēka venozajām nesadalītu asiņu parauga.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekta veikspējas raksturojums ir noteikts ar 18S ribosomas un DYS14 Y hromosomas ccfDNA fragmentiem plazmā.

Lietotāja pienākums ir pārbaudīt sistēmas veikspēju attiecībā uz visām viņa laboratorijā izmantotajām procedūrām, kas nav ietvertas QIAGEN un PreAnalytiX veikspējas novērtēšanas pētījumos.

Lai samazinātu negatīvas ietekmes uz diagnostikas rezultātiem risku, ir jāizmanto turpmākajiem procesiem atbilstošas kontroles. Visi iegūtie diagnostikas rezultāti jāinterpretē kopā ar citiem klīniskiem vai laboratoriskiem konstatējumiem.

Problēmu novēršanas rokasgrāmata


Šī problēmu novēršanas rokasgrāmata var atvieglot iespējamo problēmu novēršanu. Kontaktinformāciju un bieži uzdoto jautājumu sarakstu skatiet attiecīgā produkta lapā vietnē www.PreAnalytiX.com vai www.qiagen.com.

Komentāri un ieteikumi	
Vispārīgs apraksts	
a) Skārienekrānā ir parādīts kļūdas ziņojums	Ja protokola izpildes laikā tiek parādīts kļūdas ziņojums, skatiet instrumenta komplektācijā iekļautās lietotāja rokasgrāmatas.
b) Eluāta tilpuma pārbaude pēc naktī veiktajām izpildēm	Lai optimizētu caurlaidspēju, QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekts atbalsta paraugu apstrādi naktī, nodrošinot eluātu dzesēšanu QIASymphony SP instrumentā. Ilgstošu dzesēšanas periodu laikā eluātu tilpums var mainīties atkarībā no temperatūras un mitruma līmeņa laboratorijā. Piemēram, ka izvēlētais tilpums ir 60 µl, temperatūra 15–25 °C un mitruma 30–60%, pēc 12 stundu uzglabāšanas instrumentā tilpums var būt diapazonā 50–85 µl.
Krioprecipitāti pēc plazmas paraugu atkausēšanas	
a) Krioprecipitātu forma plazmā	Lai novērstu krioprecipitātu veidošanos, plazmu var atkausēt 30 min. 30 °C temperatūrā nevis istabas temperatūrā. Neatkausējiet zemākā temperatūrā (piemēram, 4 °C). Pēc atkausēšanas maisiet stobriņu 30 sekundes.
b) Zems no plazmas iegūtais ccfDNA daudzums pēc krioprecipitātu atdalīšanas	Plazmu nedrīkst centrifugēt, lai atdalītu krioprecipitātus, jo tie var saturēt ccfDNA.
No PAXgene Blood ccfDNA Tubes stobriņiem iegūts nepietiekams plazmas tilpums	
a) PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņā paņemts mazāk nekā 10 ml asiņu	Pārbaudiet, vai PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņā ir paņemts 10 ml asiņu. Skatiet PAXgene Blood ccfDNA Tube stobriņa lietošanas instrukcijas.
b) Augsta šūnu frakcija	Ja cilvēka nesadalītās asinīs augsts šūnu frakcijas (hematokrīta) līmenis (piemēram, vairāk par 51% vīriešiem vai 47% sievietēm), var tikt iegūts samazināts plazmas tilpums.
c) Zema plazmas tilpuma ieguve pēc centrifugēšanas	Ilgāki asins paraugu uzglabāšanas un transportēšanas periodi vai dažādi centrifugēšanas apstākļi, nekā norādīts, var ietekmēt iegūto plazmas tilpumu.

Komentāri un ieteikumi	
Nogulsnes QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komplekta atvērtās reaģentu kasetnes (reagent cartridge, RC) iedobē	
a) Buferšķiduma iztvaikošana	Pārmērīga iztvaikošana var izraisīt sāls koncentrācijas palielināšanos buferšķīdumos. Likvidējiet RC. Ja RC netiek izmantota attīrīšanas procedūrā, daļēji izlietotas RC iedobes ir obligāti jānoslēdz ar atkārtoti lietojamām blīvlentēm.
b) RC uzglabāšana	Glabājot RC temperatūrā, kas zemāka par 15 °C, var veidoties nogulsnes.
Nepietiekams ccfDNA iegūtais daudzums	
a) Magnētiskās daļiņas netika pilnībā resuspendētas	Pirms procedūras sākšanas pārbaudiet, vai magnētiskās daļiņas ir līdz galam resuspendētas. Pirms lietošanas maisiet vismaz 3 min. Nepilnīga resuspendēšana var izraisīt pipetēšanas kļūdas.
b) Pipete gala nosprostošanās nešķīstoša materiāla dēļ	Pirms QIASymphony SP instrumenta attīrīšanas procedūras sākšanas no parauga netika noņemts nešķīstošais materiāls.
c) Parauga materiāls satur zemas koncentrācijas ccfDNA	Ja plazmas paraugos ir ļoti zems ccfDNA daudzums, atkarībā no izmantotās kvantitatīvās noteikšanas metodes ccfDNA koncentrācijas noteikšana var būt apgrūtināta. ccfDNA koncentrācijas eluēšanas šķīdumos pārbaudei ieteicams izmantot jutīgu qPCR.
d) RC nepilnīga hermētiska noslēgšana	Apkārtējā gaisa apmaiņa var izraisīt buferšķīdumu stabilitātes samazināšanos, kas, savukārt, var samazināt tādas ccfDNA ekstrahēšanas efektivitāti, kurā izmanto daļēji izmantotu RC. Ja RC netiek izmantota attīrīšanas procedūrā, daļēji izlietotas RC iedobes ir obligāti rūpīgi jānoslēdz ar atkārtoti lietojamām blīvlentēm.
Zema ccfDNA veikspēja turpmākās procedūrās	
a) Koncentrēts eluāts ar vakuumcentrifugēšanu	Eluāta koncentrācijas iegūšanai neizmantojiet vakuumcentrifugēšanu (piemēram, SpeedVac® vai līdzīgā instrumentā). Augsta temperatūra un sāļu koncentrācija var ietekmēt eluāta kvalitāti, un tas, savukārt, var ietekmēt turpmākos procesus.
b) Slikta pārnese	Parasti magnētiskās daļiņas netiek pārnestas eluēšanas šķīdumos. Ja pārnese nenotiek, eluēšanas šķīdumos esošās magnētiskās daļiņas neietekmē vairumu turpmāko procesu. Ja konkrētām pakārtotajām analizēm ir nepieciešama ļoti liela eluātu daļa, eluātus var atdalīt centrifugējot un pārnest tīrā stobriņā.
Neveikta/nepilnīga parauga pārnese	
a) Standarta protokolu izpildei ir ievietots nepareizs parauga tilpums	Ja tiek ievietots mazāks parauga tilpums, nekā norādīts, pastāv neskaidras parauga atzīmēšanas ar karodziņu vai neveiktas parauga pārnese paaugstināts risks (nederīga atzīmēšana ar karodziņu). Ievietojiet pareizu parauga tilpumu, kā aprakstīts attiecīgajā protokolu lapā un laboratorijas piederumu sarakstā.
b) Burbuļi un/vai putas parauga stobriņā	Burbuļi vai putas paraugā un/vai paraugu ievades stobriņā var radīt nepareiza šķīduma līmeņa noteikšanu un pēc tam nepilnīgu parauga pārnese. Izvadiet burbuļus no parauga stobriņa.

Simboli

Lietošanas instrukcijās vai uz iepakojuma un marķējuma var būt tālāk norādītie simboli. Papildu simboli ir izskaidroti šeit: Komplekta saturs (9. lpp.).

Simbols	Simbola definīcija
 <N>	Satur reaģentus, kuru daudzums ir pietiekams <N> testu veikšanai Norāda IVD testu kopējo skaitu, kuru var veikt ar IVD.
	Izlietot līdz
IVD	In vitro diagnostikas medicīniskā ierīce
CE	CE atbilstības zīme. Šis produkts atbilst Eiropas Regulai 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskajām ierīcēm.
REF	Kataloga numurs
LOT	Partijas numurs
MAT	Materiāla numurs (t.i., komponenta marķējums)
COMP	Komponenti (t.i., iekļauto komponentu saraksts)
CONT	Saturs (iekļautie komponenti)
NUM	Skaitis (piemēram, flakoni, pudeles)
GTIN	Globālais tirdzniecības identifikācijas numurs
Rn	R attiecas uz lietošanas instrukciju (rokasgrāmatas) versiju, n norāda versijas numuru



Temperatūras ierobežojums



Ražotājs



Skatīt lietošanas instrukcijas



Uzmanību!

PROTK

Proteinase K

WELL

Iedobes numurs (t.i., RC iedobe)

REAG | **CART**

Reaģentu kasetne

Sodium azide

Nātrija azīds

EC | **REP**

Pilnvarotais pārstāvis Eiropā saskaņā ar Regulu (ES) 2017/746

Pielikums. ccfDNA kvantitatīvā noteikšana

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

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

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

Informācija par pasūtīšanu

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Iekļauj 2 RC, Proteinase K stobriņus un piederumus	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)(100)	100 stobriņi: 16 × 100 mm, 1,5 ml piedevas, 10 ml asins pieplūduma apjoms	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	QIASymphony parauga sagatavošanas modulis, 1 gada garantija daļām un darbam	9001297
Saistītie QIAGEN produkti		
Proteinase K (10 mL)	1 × 10 ml pudele	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	RC turētājs lietošanai QIASymphony SP instrumentā	997008
Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym	Dzesēšanas adapteris 2 ml stobriņiem ar skrūvējamu vāku. Lietošanai QIASymphony SP instrumenta atvilktnē "Eluate" (Eluāts)	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Dzesēšanas adapteris EMT statīviem. Lietošanai QIASymphony SP instrumenta atvilktnē "Eluate" (Eluāts)	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Dzesēšanas adapters 1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock stobriņiem. Lietošanai QIASymphony SP instrumenta atvilktnē "Eluate" (Eluāts)	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8 iedobju paraugu sagatavošanas kasetnes lietošanai QIASymphony SP instrumentā	997002

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
8-Rod Covers (144)	8-Rod Covers lietošanai QIASymphony SP instrumentā	997004
Filter-Tips, 200 µL (1024)	Vienreizlietojamie filtru uzgaļi, statīvos; (8 × 128). Lietošanai QIACube® un QIASymphony SP/AS instrumentos	990332
Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024)	Vienreizlietojamie filtru uzgaļi, statīvos; (8 × 128). Lietošanai QIASymphony SP/AS instrumentā	997024
Tip Disposal Bags (15)	Uzgaļu atkritumu maisi lietošanai QIASymphony SP instrumentā	9013395
12-Tube Magnet	Magnēts magnētisko daļiņu atdalīšanai 12 × 1,5 ml vai 2 ml stobriņos	36912
96-Well Magnet Type A	Magnēts magnētisko daļiņu atdalīšanai 96 iedobju plates iedobēs, 2× 96-Well Microplates FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Atkārtoti lietojamo blīvlentņu komplekti daļēji izlietotu QIASymphony reaģentu kasetņu (RC) noslēgšanai	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Nesterili polipropilēna stobriņi (maksimālais tilpums 0,85 ml, glabāšanas tilpums mazāks nekā 0,7 ml, eluēšanas tilpums 0,4 ml); 2304 gab. statīvos – 96, ieskaitot uzgaļu strēmelītes	19588
Caps for Elution Microtubes (50 × 8)	Eluēšanas mirkostobriņu vāciņi (50 × 8)	19591
14 mL Falcon Tube	Polistirola apaļgala stobriņš 17 × 100 mm, ko izmanto kā paraugu turētāju QIASymphony SP instrumentā	Corning, 352051

Dokumenta pārskatīšanas vēsture

Versija	Apraksts
R1, 2021. gada maijs	Sākotnējais izdevums
R2, 2022. gada maijs	Dažos gadījumos noņemts "(CE-IVD)". Atjaunināta tabula "Komplekta saturs". Iekļauta vietne www.PreAnalytiX.com , kur ir pieejama informācija par attiecīgajiem resursiem. Sadalā "Drošības informācija" kā "asins parauga materiāli" ir norādīti "parauga materiāli". Sadalā "Drošības informācija" teksts "Likvidējiet parauga un analīzes atkritumus" nomainīts ar tekstu "Likvidējiet bioloģiski bīstamus materiālus un komplektu atkritumus". Atjaunināta sadaļa "A) Plazmas sagatavošana no asinīm standarta protokolu izpildei" un "B) Plazmas sagatavošana no asinīm primāro stobriņu apstrādei QIA Symphony SP instrumentā".
R3, 2023. gada februāris	PreAnalytiX GmbH adreses "Feldbachstrasse" nomaina ar "Garstligweg 8". Atjaunināta sadaļa "Piesardzības pasākumi". Sadalā "Drošības informācija" pievienota ar ārkārtas situācijām saistīta informācija. Labots Proteinase K (100 ml) kataloga numurs sadaļā "Informācija par pasūtīšanu". Izkārtojuma un rediģēšanas izmaiņas.

Piezīmes

Piezīmes



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

Sīkāku informāciju skatiet šeit: www.PreAnalytiX.com

HB-2866-003 02/2023

 **PreAnalytiX**

A QIAGEN / BD Company