

2023. február

QIASymphony® PAXgene® Blood ccfDNA Kit használati útmutató (Kézikönyv)



192

1-es verzió



In vitro diagnosztikai használatra



768566

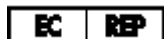


PreAnalytiX GmbH

Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Svájc



1130770HU



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NÉMETORSZÁG

PreAnalytiX Company

PreAnalytiX GmbH

8634 Hombrechtikon

Svájc

www.PreAnalytiX.com

Védjegyek: 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 vagy leányvállalatai).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

1130770HU HB-2866-003

© 2023 PreAnalytiX GmbH. Ha azt másképp nem jelöljük, a PreAnalytiX, a PreAnalytiX logó és minden más védjegy a PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH tulajdonát képezi.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit korlátozott licencszerződés

Ennek a terméknek a használatával a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit minden vásárlója és használója elfogadja az alábbi feltételeket:

1. A terméket kizárólag a hozzá tartozó protokollok és a jelen kézikönyv szerint, valamint a kithoz tartozó komponensekkel együtt szabad használni. A PreAnalytiX® a szellemi tulajdonát képező termékek egyikének esetében sem engedélyezi, hogy a kithoz tartozó komponenseket a termékhez mellékelte protokollokban, a jelen kézikönyvben és a www.qiagen.com és a www.PreAnalytiX.com webhelyen elérhető további protokollokban leírtak kivételével más, nem a kithoz tartozó komponensekbe beépítsék vagy azokkal együtt használják.
2. A kifejezett licenceken kívül a PreAnalytiX nem vállal garanciát arra, hogy a kit és/vagy használata nem sérti harmadik fél jogait.
3. A fogyóeszköz és komponenseinek licence csak egyszeri használatra jogosít; újrafelhasználása, felújítása vagy újraértékesítése tilos.
4. A PreAnalytiX az itt közzétett licenceken kívül kifejezetten kizár minden más konkrét vagy vélelmezett jogot.
5. A kit vásárlója és felhasználója elfogadja, hogy semmilyen olyan lépést nem tesz, és másnak sem engedélyezi semmilyen olyan lépés megtételét, amely a fentiekben előírtak megszegéséhez vezet vagy azt elősegíti. A PreAnalytiX jogosult a jelen korlátozott licencszerződésben foglalt tilalmak bármely bíróságon keresetűli érvényesítésére és a korlátozott licencre vonatkozó jelen szerződés vagy a kittel és/vagy összetevőivel kapcsolatos bármilyen szellemi tulajdonjog érvényesítése céljából indított peres eljárással kapcsolatban felmerülő összes vizsgálati és perköltség követelésére, beleértve az ügyvédi költségeket is.

A legfrissebb licencfeltételekért látogasson el a www.qiagen.com és a www.PreAnalytiX.com webhelyre.

PreAnalytiX forgalmazók

A PreAnalytiX termékek gyártását és forgalmazását a QIAGEN és a BD vállalat végzi a PreAnalytiX részére.

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	3
Alkalmazási terület	5
Felhasználói célcsoport	5
Leírás és működési elv	6
Összefoglalás és magyarázat	6
Az eljárás elve	7
Mellékelt anyagok	9
A kit tartalma	9
Szükséges, de nem biztosított anyagok	10
Eszközök	10
Figyelmeztetések és óvintézkedések	11
Biztonsági információk	11
Óvintézkedések	12
A reagensek tárolása és kezelése	14
A kit komponensei	14
Mintavétel és a minta előkészítése	16
Eljárás	20
Áttekintés: A ccfdNS automatikus tisztítása a QIASymphony SP készülékkel	20
A protokoll áttekintése	26
Protokoll: A ccfdNS automatikus tisztítása a QIASymphony SP készülékkel	29
Minőség-ellenőrzés	33
Korlátozások	33

Hibaelhárítási útmutató.....	34
Szimbólumok	36
Függelék: A ccfdNS kvantifikációja	38
Rendelési információk.....	39
A dokumentum átdolgozási előzményei	41

Alkalmazási terület

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit a QIASymphony SP készülékkel együtt használva a keringő sejtmentes DNS (ccfDNS) automatizált izolálására és tisztítására szolgál PAXgene Blood ccfDNA Tube vérvételi csőbe levett humán vénás teljes vérből nyert plazmából.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit mágnesesrészecske-technológiát alkalmaz a ccfDNS humán plazmából történő automatikus izolálásához és tisztításához.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál olyan szakemberek, például laboratóriumi technikusok és orvosok számára, akik képzésben részesültek a molekuláris biológiában alkalmazott technikák terén.

Felhasználói célcsoport

A kit szakemberek általi használatra készült.

A terméket kizárólag olyan személyek használhatják, akik célzott eligazításban és képzésben részesültek a molekuláris biológiában alkalmazott technikákra vonatkozóan, illetve ismerik ezt a technológiát.

Leírás és működési elv

Összefoglalás és magyarázat

A keringő szabad DNS (ccfDNS) általában rövid fragmentumokként (< 1000 bp) van jelen a plazmában. A ccfDNS koncentrációja a plazmában általában alacsony (1-100 ng/ml), és egyénekenként jelentősen eltérő lehet. A CE-jelöléssel rendelkező PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit termékkel együtt alkalmazva standard munkafolyamatot biztosít a vér levételéhez, tárolásához és szállításához, a DNS zárt csőben való stabilizálásához, majd azt követően a ccfDNS humán plazmából történő, QIAGEN® QIASymphony SP készülékkel végzett izolálásához és tisztításához.

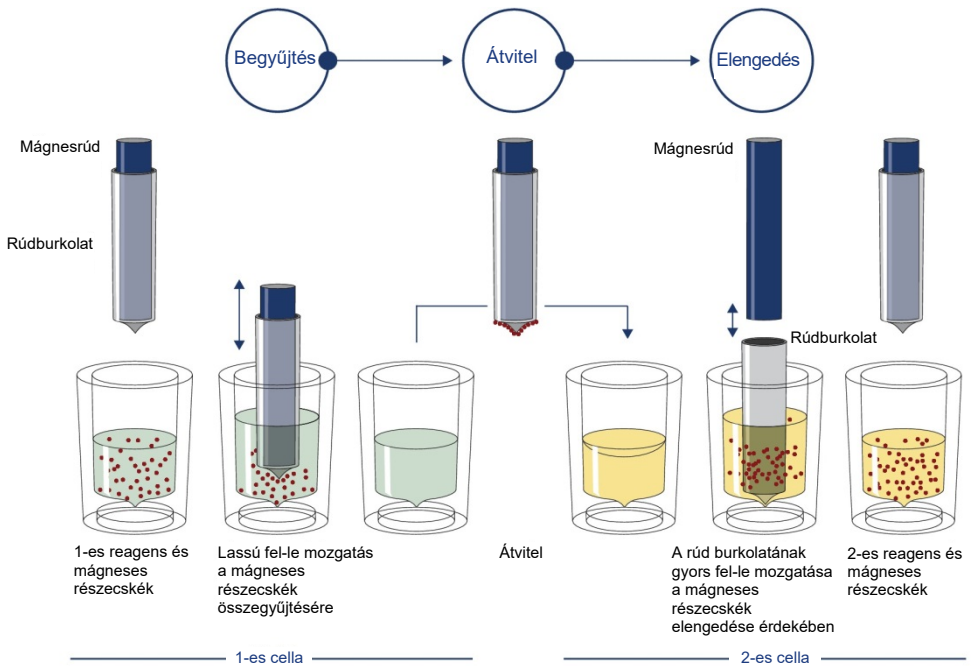
A QIASymphony SP készüléken alkalmazott protokollok a ccfDNS 2,4 és 4,8 ml, PAXgene Blood ccfDNA Tube csövekből dupla centrifugálással nyert plazmából történő extrakciójára szolgálnak. A plazmát a QIASymphony SP készülékben egy másodlagos csőben viszik át és dolgozzák fel.

Alternatívaként elsődleges csőkezelési protokollok is elérhetők a QIASymphony SP készülék esetében, ha a bemeneti térfogat 2,4 és 4 ml plazma. Ebben az esetben nincs szükség második centrifugálási lépésre, illetve a másodlagos csőbe történő plazmaátvitelre.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit mágnesesrészecske-technológia lehetővé teszi a fehérjéktől, nukleázoktól és más szennyezőanyagoktól mentes, jó minőségű ccfDNS tisztítással való kinyerését. A QIASymphony SP készülék végrehajtja a tisztítási eljárás minden lépését. Egyetlen futtatással legfeljebb 96 mintát tud feldolgozni, 24-es kötegekben. Arra vonatkozóan, hogy a QIASymphony SP készülék segítségével hogyan izolálható a PAXgene Blood ccfDNA Tube csövekbe levett vér magvas sejtfракciójából a genomális DNS (gDNS), olvassa el a PAXgene Blood ccfDNA Tube használati útmutatóját (www.PreAnalytiX.com).

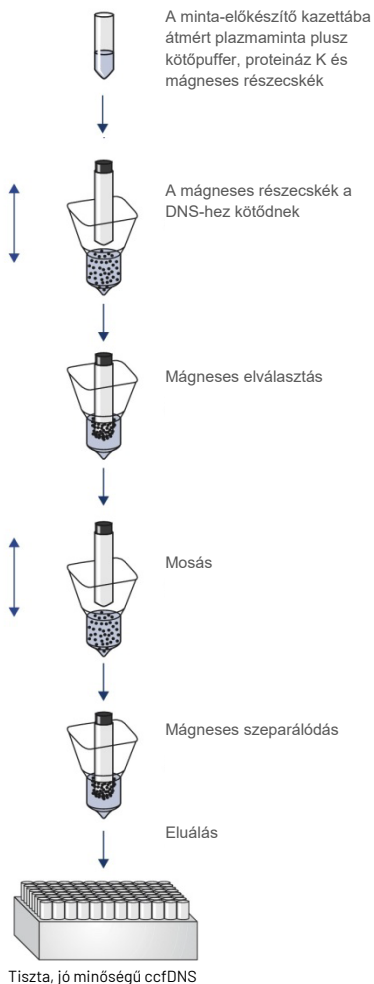
Az eljárás elve

A QIASymphony SP készülék technológiája egyesíti az anioncsere-alapú nukleinsav-tisztítás gyorsaságát és hatékonyságát a mágneses részecskék könnyű kezelhetőségével (1. ábra). A tisztítási eljárást úgy tervezték, hogy biztosítsa a potenciálisan fertőző minták biztonságos és reprodukálható kezelését. A folyamat 3 lépésből áll: kötés, mosás és eluálás (2. ábra). A felhasználók különböző mintabeviteli térfogat közül választhatnak.



1. ábra: A QIASymphony SP készülék alapelveinek szematikus ábrázolása. A QIASymphony SP készülék a mágneses részecskéket tartalmazó mintákat a következőképpen dolgozza fel: egy rúdburkolattal védett mágnesrúd belép a mintát tartalmazó cellába, és vonzza a mágneses részecskéket. A mágnesrúd burkolatát áthelyezik egy másik cella fölé, ahol a mágneses részecskék elszabadulnak. Ezeket a lépéseket többször megismétli a készülék a minta feldolgozása során. A QIASymphony SP készülék egy 24 mágnesrudat tartalmazó mágnesfejlet használ, így egyszerre 24 minta feldolgozását tudja elvégezni.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



2. ábra: A ccfDNS QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit készlettel végzett extrakciójának lépései. A ccfDNS fragmentumokat a PAXgene Blood ccfDNA Tube csövekbe levett humán vénás teljes vérből nyert plazmából izolálják. Az első feldolgozási lépés során megtörténik a plazmafehérjék proteináz K enzimmel való emésztése, valamint a ccfDNS mágneses részecskékhez való kötése. A szennyezőanyagok eltávolítását három mosási lépés biztosítja. Végül megtörténik a ccfDNS mágneses részecskékről való elúciója, így használatra kész termék nyerhető a downstream alkalmazásokhoz.

Mellékelt anyagok

A kit tartalma

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) Katalógusszám Reakciók száma		(192) 768566 192		
Rövidítés	Megnevezés	Mennyiség	Hatóanyagok	Koncentráció [%]**
RC	Reagent cartridge (reagenskazetta)*†	2	Nemionos detergens Anioncserélő mágneses részecske NaOH Etanol	≥ 0,5 - < 10 [w/w] – ≥ 0,05 - < 0,1 [w/w] ≥ 70 - < 90 [v/v]
PROTK	Proteinase K (Proteináz K)‡	5 × 10 ml	Proteináz K	≥ 1 - < 3 [w/w]
PL	Piercing lid (Lyukasztófédél)	2	–	–
RSS	Reuse Seal Set (Újrahasználati zárókészlet)‡	2	–	–
	Elution Microtubes CL, racked (CL elúciós mikroszövek, tartóban)#	2	–	–
	Caps for Elution Microtubes (Elúciós mikroszövekhez való kupakok)#	1 × (55 × 8)	–	–
	Instructions for Use (Handbook)(Használati útmutató - kézikönyv)	1	–	–
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	–	–

* Tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz.

† A szimbólumok listáját és jelentését lásd a 36. oldalon.

‡ A Reuse Seal Set 8 újrahasználati zárócsíkot tartalmaz.

Külön is kapható, lásd: Rendelési információk.

** Maximális cellánkénti koncentráció.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

A vegyi anyagokkal és biológiai mintákkal végzett munka során mindig kövesse az általános óvintézkedéseket, viseljen az intézményében hatályos irányelveknek és eljárásoknak megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információk a megfelelő biztonsági adatlapokon (Safety Data Sheet, SDS) találhatóak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetők be.

Győződjön meg róla, hogy az eszközöket a gyártó ajánlásai szerint ellenőrizték és kalibrálták.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, katalógusszám: 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, katalógusszám: 997004)
- Filter-Tips, 200 µl és 1500 µl (QIAGEN, katalógusszám: 990332 és 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, katalógusszám: 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)(PreAnalytiX, katalógusszám: 768165)
- Mintacsövek. A kompatibilis elsődleges és másodlagos csőtípusokat lásd a Labware (Laboreszköz) listán, amely a www.qiagen.com és a www.PreAnalytiX.com termékoldalainak Product Resources (Termékerőforrások), illetve Resources (Erőforrások) fülén érhető el.
- A kompatibilis elúciós csőtípusokat lásd a Labware (Laboreszköz) listán, amely a www.qiagen.com és a www.PreAnalytiX.com termékoldalainak Product Resource (Termékerőforrás), illetve Resources (Erőforrások) fülén érhető el.

Eszközök*

- Pipetta (5 ml)
- QIASymphony SP készülék (QIAGEN katalógusszám: 9001297)

* Használat előtt ellenőrizze, hogy a műszereket a gyártó ajánlásai szerint ellenőrizték és kalibrálták-e.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

In vitro diagnosztikai használatra.

A kit használata előtt figyelmesen olvassa el az összes utasítást.

Az Európai Unió belüli ügyfelek tartsák szem előtt, hogy az eszközzel összefüggésben fellépő súlyos incidenseket jelenteni kell a gyártó, valamint a felhasználó és/vagy a beteg tartózkodási helye szerinti tagállam illetékes hatósága felé.

Biztonsági információk

A vegyi anyagokkal és biológiai mintákkal végzett munka során mindig kövesse az általános óvintézkedéseket, viseljen az intézményében hatályos irányelveknek és eljárásoknak megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheets, SDS-ek) tartalmazznak. Ezek PDF-formátumban elérhetők online a **www.qiagen.com/safety** címen, ahol megkeresheti, megtekintheti és kinyomtathatja az egyes PreAnalytiX kitekhez és azok komponenseihez tartozó biztonsági adatlapokat (Safety Data Sheet, SDS).

- Minden vegyi és biológiai anyag potenciálisan veszélyes. A vér- és egyéb minták potenciálisan fertőzőek lehetnek, ezért veszélyes biológiai anyagként kezelendők.
- Ártalmatlanítani kell a veszélyes biológiai anyagokat és a kit hulladékait a helyi biztonsági eljárásoknak megfelelően.

Vészhelyzeti információk

CHEMTREC

USA és Kanada: 1-800-424-9300

Az USA-n és Kanadán kívül: +1 703-527-3887

Óvintézkedések

A pufferek és a reagenskazetták nátrium-azidot tartalmaznak. Ha a kit valamely puffere kiömlik, megfelelő laboratóriumi tisztítószer és víz segítségével takarítsa fel a kifolyt anyagot. Ha potenciálisan fertőző anyagot tartalmazó folyadék ömlik ki, az érintett felületet először laboratóriumi tisztítószerrel és vízzel, majd 1%-os (v/v) nátrium-hipoklorittal (hipó) tisztítsa meg.

A következő veszélyességi és biztonsági jelzések vonatkoznak a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit komponenseire.

MBS3

Tartalmazott anyag: Nátrium-azid. Vigyázat! Lenyelve ártalmas lehet. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

Proteinase K



Tartalmazott anyag: Proteinase K. Vigyázat! Enyhén bőrirritáló hatású. Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. Légzésvédelem használata kötelező. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Forduljon toxikológiai központhoz vagy orvoshoz. Az érintett személyt friss levegőre kell vinni és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni.

QSE2



Tartalmazott anyag: Nátrium-hidroxid. Veszély! Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben. **Szembe kerülés esetén:** Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Adott esetben kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. **Ha bőrre (vagy hajra) kerül:** Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal el kell távolítani/le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel/zuhannyal. Azonnal forduljon toxikológiai központhoz vagy orvoshoz. Elzárva tárolandó. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

QSW9



Tartalmazott anyag: Etanol. Veszély! Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz. Súlyos szemirritációt okoz. Hőtől/sziktától/nyílt lángtól/forró felületektől távol tartandó. Tilos a dohányzás. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

A reagensek tárolása és kezelése

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit készletet függőleges pozícióban, szobahőmérsékleten (15–25 °C) kell tárolni. A reagenskazettákban lévő mágneses részecskék ebben a hőmérséklet-tartományban tárolva aktívak maradnak.

Megjegyzés: A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit dobozán lévő címkén található a kit lejáratási ideje. A lejáratási idő a reagenskazettára vonatkozik.

Ne használja a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit terméket a lejáratási időn túl.

A kit komponensei

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit használatra kész, szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolható proteináz K oldatot tartalmaz.

Ne tárolja a reagenskazettákat 15 °C alatti hőmérsékleten.

A már felnyitott és használat után megfelelően visszazárt QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit reagenskazetták szobahőmérsékleten (15–25 °C) legfeljebb 4 hétig tárolhatók, lehetővé téve a reagensek költséghatékony újrafelhasználását, és a minták rugalmasabb feldolgozását. Ha valamelyik reagenskazettát csak részben használta fel, helyezze vissza a mágneses részecskéket tartalmazó tál fedelét, és a párolgás megelőzése céljából a protokoll futtatása után azonnal zárja le a reagenskazettát a kitben található újrahaználati zárócsikkokkal.

A reagens párolgásának megakadályozása érdekében a reagenskazettát legfeljebb 15 órán át (a futtatási időket is beleszámolva), legfeljebb 32 °C környezeti hőmérsékleten szabad nyitva hagyni. A készletkomponensek nem megfelelő tárolása a pufferek szavatosságának idő előtti elvesztését eredményezheti.

Az alacsony mintaszámmal (<24) futtatott kötegek megnövelik mind a reagenskazetta nyitott állapotának időtartamát, mind a szükséges puffertérfogatokat, ami potenciálisan csökkentheti a kazettánként feldolgozható előkészített minták teljes számát.

A reagenskazettákat ne tegye ki UV-fénynek (például dekontaminálás céljából), mivel ez a reagenskazetták és a pufferek szavatosságának idő előtti elvesztését okozhatja.

Vegye figyelembe a dobozon és az egyes komponensek címkéjén feltüntetett lejárati időt és tárolási körülményeket. Ne használjon lejárt szavatosságú vagy helytelenül tárolt összetevőket.

Mintavétel és a minta előkészítése

A tisztítási eljárást a PAXgene Blood ccfDNA Tube csőbe levett vérből nyert plazmára optimalizálták. A vérvétellel, a csövek kezelésével és a plazma előkészítésével kapcsolatos információkért olvassa el a PAXgene Blood ccfDNA Tube használati útmutatóját, amely a www.qiagen.com és a www.PreAnalytiX.com termékoldalainak Product Resource (Termékerőforrások), illetve Resources (Erőforrások) fülén érhető el.

A plazma előkészítése elvégezhető (A) a standard, dupla centrifugálást tartalmazó protokoll használatával, vagy (B) elsődleges csőben való kezeléssel: az egyszer centrifugált PAXgene Blood ccfDNA Tube csövek közvetlen feldolgozása a QIASymphony SP készüléken.

A) Plazma előkészítése vérből standard protokollokhoz

1. Centrifugálja a PAXgene Blood ccfDNA Tube csövet szobahőmérsékleten (15–25 °C-on) 15 percig 1600–3000 × g fordulatszámon (első centrifugálás), kiegyensúlyozott lengőkosaras centrifugával. Ha a fékezés preferált, ajánlott közepes szintű fékezést alkalmazni, és azt is validálni kell a konkrét munkafolyamathoz.

Megjegyzés: A centrifugálás előtt hűtőszekrényben tárolt minták esetében a legjobb teljesítmény érdekében a feldolgozás előtt a mintákat háromszori átforgatással keverje össze, és hagyja, hogy a csövek szoba-hőmérsékletűre melegedjenek.

2. Pipettázza a vérplazmát egy 15 ml-es, kúpos aljú centrifugacsőbe (nem része a kitnek), ügyelve arra, hogy ne kavarja föl a magvas sejtek frakcióját.
3. Centrifugálja a 15 ml-es kúpos aljú centrifugacsövet 10 percig szobahőmérsékleten (15–25 °C-on) 1600–3000 × g fordulatszámon (második centrifugálás), kiegyensúlyozott centrifugában.

Megjegyzés: Ne lépje túl a másodlagos cső gyártója által ajánlott maximális centrifugálási sebességet.

4. Pipettázza a szükséges plazmatérfogatot (lásd a „Mintatérfogat” részt a 20. oldalon) egy 14 ml-es, 17 × 100 mm méretű, lekerekített aljú polisztirol csőbe, ügyelve arra, hogy ne kavarja fel az esetlegesen meglévő reziduális sejt pelletet.
5. Helyezze át a lekerekített aljú, plazmamintát tartalmazó csövet a csőtartóba, és helyezze a csőtartót a QIASymphony SP készülék mintabeviteli fiókjába.

Megjegyzés: A maximális ccfDNS-hozam érdekében dolgozza fel az elérhető maximális plazmatérfogatot.

Megjegyzés: A pipettázás során ügyeljen arra, hogy ne képződön hab a plazmamintákban vagy azok felületén. A mintákon lévő hab vagy levegőbuborékok nem megfelelő mintatérfogat pipettázásához vezethetnek.

Megjegyzés: A plazma másodlagos csőbe való átvitele után a plazmában lévő ccfDNS 15–25 °C-on legfeljebb 3 napig, 2–8 °C-on legfeljebb 7 napig marad stabil. Huzamosabb idejű tároláshoz javasoljuk, hogy fagyasszon le aliquotokat –20 °C-ra vagy –80 °C-ra.

Megjegyzés: Ha előzőleg tárolt (pl. 2–8 °C között hűtött vagy –20 vagy –80 °C hőmérsékleten fagyasztott) plazmamintákat használ, ezeket a futtatás indítása előtt szoba-hőmérsékletűre (15–25 °C) kell melegíteni. A fagyasztott mintákkal kapcsolatban lásd a következő részt: „C) A PAXgene Blood ccfDNA Tube csőből kinyert plazmaminták fagyasztása és kiolvasztása”.

B) Plazma előkészítése vérből a QIAsymphony SP készüléken, elsődleges csőben való kezeléshez

1. Centrifugálja a PAXgene Blood ccfDNA Tube csövet szobahőmérsékleten (15-25 °C-on) 15 percig 3 000 × g mellett, kiegyensúlyozott lengőkosaras centrifugával. Ha a fékezés preferált, ajánlott közepes szintű fékezést alkalmazni, és azt is validálni kell a konkrét munkafolyamathoz.

Megjegyzés: A centrifugálás előtt hűtőszekrényben tárolt minták esetében a legjobb teljesítmény érdekében a feldolgozás előtt a mintákat háromszori átforgatással keverje össze, és hagyja, hogy a csövek szobahőmérsékletűre melegedjenek.

2. Miután eltávolította a csöveket a centrifugakosarából, mérje meg minden egyes csőben a plazma térfogatát a kit részét képező PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool eszközzel (3. ábra). Amikor eltávolítja a csövet a centrifugából, az eszközön lévő kékeszöld nyíl a vérplazma/sejtes frakció érintkezési felületéhez igazodik. A kék vonalak jelzik, hogy a plazmaszint elég-e a 2,4 vagy 4,0 ml-es elsődleges cső kezelési protokolljához. A 2,4 ml-es protokollhoz minimum 2,3 cm magas, a 4,0 ml-es protokollhoz pedig minimum 3,4 cm magas plazmaoszlop szükséges.

Megjegyzés: Amennyiben nem történt meg a vérplazma és a sejtes frakció egyértelmű elválasztása, vagy a centrifugából való eltávolítás során véletlenül összekeveredtek a fázisok, a centrifugálást meg kell ismételni.

Megjegyzés: Mielőtt a készülékbe helyezi a csövet, ellenőrizze, hogy az elválasztás megfelelő-e.

3. Távolítsa el a Hemogard Closure Cap zárókupakot a PAXgene Blood ccfDNA Tubes csövekről, mielőtt behelyezné azokat a QIAsymphony SP készülékbe a közvetlen ccfDNS extrakcióhoz.

Megjegyzés: A cső zárókupájának eltávolítása és a nyitott csövek kezelése körültekintést igényel, a minta kiömlésének, a keresztszennyeződésnek és a vér által okozott expozíció lehetséges kockázatának csökkentése érdekében.

4. Helyezze be az elegendő plazmát tartalmazó, nyitott PAXgene Blood ccfDNA Tubes csöveket a csőtartóba, majd helyezze a csőtartót a QIASymphony SP készülék mintabeviteli fiókjába.

C) A PAXgene Blood ccfDNA Tube csőből kinyert plazmaminták fagyasztása és kiolvasztása

1. A fagyasztáshoz mérje át a plazmát megfelelő állványba helyezett, alkalmas csőbe (pl. kriocső).
2. A plazmát $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, fagyasztva tárolja. A $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti tároláshoz a plazmamintákat először $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on legalább 24 óráig fagyassza, majd azt követően hűtse $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra.
3. Olvassa ki a plazmát szobahőmérsékleten ($15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Megjegyzés: A kiolvasztást ne végezze alacsony hőmérsékleten (pl. $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on).

4. Ha a plazmában krioprecipitátumok alakulnak ki, kiolvasztás után vortex keverővel keverje a csöveket 30 másodpercig, majd további kezelés nélkül használja fel a mintát a QIASymphony SP készüléken végzett ccfDNS-izoláláshoz.

Megjegyzés: A krioprecipitátumok eltávolításához nem javasolt a plazma centrifugálása, mivel ccfDNS-t tartalmazhat.

Megjegyzés: A krioprecipitátumok kialakulásának megakadályozása érdekében a plazmát szobahőmérséklet helyett $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on olvassa ki, 30 percen át.

Eljárás

Áttekintés: A ccfDNS automatikus tisztítása a QIASymphony SP készülékkel

A QIASymphony SP készülék könnyűvé és egyszerűvé teszi az automatizált minta-előkészítést. A minták, a reagensek és fogyóeszközök, valamint az eluátumok külön fiókokba kerülnek. Futtatás előtt egyszerűen helyezze be a mintákat, a speciális kazettákban lévő reagenseket és az előre csomagolt fogyóeszközöket a megfelelő fiókokba. Indítsa el a protokollt, és a feldolgozás után vegye ki a tisztított ccfDNS-t az „Eluate” (Eluátum) fiókból. A kezelési utasításokat a készülék felhasználói kézikönyveiben találja meg.

Megjegyzés: A választható karbantartás nem kötelező a készülék működőképességéhez, azonban a szennyeződések kockázatának csökkentése érdekében erősen javasolt.

Mintatérfogat

Annak biztosítására, hogy a szabályos munkafolyamatban 2,4 ml-es (PAXcircDNA_2400 protokoll), illetve 4,8 ml-es (PAXcircDNA_4800 protokoll) mintatérfogat kerüljön a készülékbe, szükséges további 0,4 illetve 0,5 ml-es holtterefogat is, ami azt jelenti, hogy minimum 2,8 illetve 5,3 ml-es mintabevitelről kell gondoskodnia. Amennyiben csak a nevezett 2,8 vagy 5,3 ml-esnél kisebb plazmatérfogatok állnak rendelkezésre, a protokollba integrált **Less Sample mode** (Kevesebb minta üzemmód) funkció lehetővé teszi, hogy a felsoroltaknál kisebb plazmatérfogatokat helyezzen a készülékbe. Ebben az esetben a készülék kevesebb mintát visz át. A rendszer rögzíti az eredményfájlban a pipettázott plazmatérfogat eltérését. Ezenkívül a kérdéses minták **nem egyértelmű** jelölést kapnak (140043-as hibakód, **Enable Less Sample mode** [Kevesebb minta üzemmód engedélyezése]). A minimális plazmabeviteli térfogat, amellyel engedélyezhető a **Less Sample mode**

(Kevesebb minta üzemmód): 1,6 ml, illetve 4,1 ml. Ha ennél kisebb a biztosított mintatérfogat, a minták nem kerülnek feldolgozásra, hanem **érvénytelen** jelölést kapnak. Az elsődleges csőben való kezelés munkafolyamatához szükséges megfelelő mintatérfogatot a kit részét képező PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool eszköz használata garantálja; a leírását lásd a „A mintaanyag előkészítése” részben, a 25. oldalon.

A reagenskazetták behelyezése a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiókba

A ccfDNS tisztításához való reagenseket egy innovatív reagenskazetta tartalmazza (3. ábra). A reagenskazetta minden tála egy bizonyos reagenst tartalmaz, mint például mágneses részecskéket, kötőpuffert vagy eluáló puffert. A részben felhasznált reagenskazettákat későbbi felhasználás céljából vissza lehet zárni az újrahasználati zárócsikkal, és így nem képződik hulladék a tisztítási eljárás végén megmaradt reagensekből.



3. ábra: QIAAsymphony reagenskazetta (Reagent Cartridge, RC). A reagenskazetta tartalmaz minden olyan reagenst, ami a protokoll futtatásához szükséges.

Az eljárás elindítása előtt győződjön meg arról, hogy minden mágneses részecske tökéletesen újraszuspendálódott. Az első használat előtt vegye ki a mágneses részecskéket tartalmazó tálát a reagenskazetta keretéből, és alaposan, legalább 3 percen keresztül keverje vortex keverővel, majd helyezze vissza a reagenskazetta keretébe.

Megjegyzés: A mágneses részecskék színe eltérő lehet. Ez nincsen hatással a teljesítményre.

Helyezze a reagenskazettát a reagenskazetta-tartóba. A reagenskazetta első használat előtt helyezze fel a lyukasztófedelet a reagenskazetta tetejére (3. ábra).

Megjegyzés: A lyukasztófedél széle éles. Legyen óvatos, miközben felhelyezi a reagenskazetta tetejére. Ügyeljen arra is, hogy a lyukasztófedelet a megfelelő irányban helyezze fel a reagenskazetta tetejére.

Miután eltávolította a mágnesesrészecske-tál borítását, a reagenskazettát ezt követően behelyezheti a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiókba.

A részben felhasznált reagenskazetták a következő használatig tárolhatók; lásd „A reagensek tárolása és kezelése”, 14. oldal.

Megjegyzés: A mintához Proteinase K enzimet kell adni (lásd: „Teendők az eljárás megkezdése előtt”, 27. oldal).

Megjegyzés: Győződjön meg arról, hogy nem cserélte fel egymással a reagenskazetták, mágnesesrészecske-tálak és proteináz K különböző kitételekhez tartozó tartályait.

Műanyag eszközök behelyezése a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiókba

A minta-előkészítő kazetták, 8-Rod Covers burkolatok (mindkettő egységdobozokban előre csomagolva) és egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek (200 µl-es hegyek kék állványokban, 1500 µl-es hegyek fekete állványokban) a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiókba kerülnek.

Megjegyzés: Mielőtt az egységdobozokat behelyezné a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiókba, ellenőrizze, hogy eltávolította-e azok fedelét.

Megjegyzés: A pipettahegyek szűrőkkel vannak ellátva a keresztszennyeződés megakadályozása végett.

A QIASymphony SP készülék munkaasztalának hegytartó állványokhoz szolgáló nyílásaiba bármilyen típusú hegytartó állvány behelyezhető. A QIASymphony SP készülék a leltárellenőrzés művelete alatt fogja beazonosítani a betöltött pipettahegyek típusát.

Megjegyzés: Az újabb protokoll futtatása előtt ne töltsse fel a hegytartó állványokat, a minta-előkészítő kazetták egységdobozait, illetve az 8-Rod Cover burkolatokat. A QIASymphony SP készülék a részben felhasznált hegytartó állványokat és egységdobozokat is fel tudja használni.

A műanyag eszközök megrendeléséről szóló információkat lásd a 39. oldalon.

A „Waste” (Hulladék) fiók betöltése

A futtatások során felhasznált minta-előkészítő kazetták és 8-Rod Cover burkolatok a „Waste” (Hulladék) fiókban lévő üres egységdobozokba kerülnek át. Gondoskodjon róla, hogy a „Waste” (Hulladék) fiókban legyen elegendő üres egységdoboz a protokoll futtatása közben képződött műanyag hulladék részére.

Megjegyzés: Mielőtt az egységdobozokat behelyezné a „Waste” (Hulladék) fiókba, győződjön meg róla, hogy eltávolította-e azok fedelét. Amennyiben a 8-as rúdvédőburkolatok dobozait használja a felhasznált minta-előkészítő kazetták és a 8-as rúdvédő burkolatok összegyűjtésére, ellenőrizze, hogy eltávolította-e a doboz távtartóját.

A „Waste” (Hulladék) fiók elülső oldalához rögzíteni kell egy tasakot a szűrővel ellátott használt hegyek részére.

Megjegyzés: A rendszer nem ellenőrzi a hegygyűjtő hulladéktasak jelenlétét.

A protokoll futtatásának elindítása előtt ellenőrizze, hogy a hegygyűjtő hulladéktasak megfelelően van-e rögzítve. További információkért olvassa el a készülék felhasználói kézikönyveit. A hegyek elakadásának megelőzése végett legfeljebb 96 minta feldolgozása után ürítse ki a tasakot.

A tisztítási eljárás alatt keletkező folyékony hulladékot hulladéktartály gyűjti össze. A „Waste” (Hulladék) fiókot csak akkor lehet bezárni, ha a hulladéktartály be lett helyezve. A folyékony hulladékot a helyi biztonsági és környezetvédelmi előírások betartása mellett kell ártalmatlanítani. A megtelt hulladékgyűjtő palackot ne autoklávozza. A hulladékgyűjtő palackot legfeljebb 96 minta feldolgozása után ürítse ki.

Az „Eluate” (Eluátum) fiók betöltése

A kívánt elúciós állványt helyezze be az „Eluate” (Eluátum) fiókba. Az „Eluate” (Eluátum) fiókban hosszú időn át tárolt eluátumok elpárologhatnak vagy kondenzálódhatnak, ezért a hűtő pozíciót kell használni. Az „Elution slot 1” (1-es elúciós nyílás) területet csak a megfelelő hűtőadapterrel használja.

Kiválasztott elúciós térfogat (µl)*	Kezdeti elúciós térfogat (µl) [†]
60	75

* Ez a QIAGEN EMT rack (katalógusszám: 19588) és 1,5 ml-es Sarstedt screw cap tubes (katalógusszám: 72.607) termékekhez használt végleges elúciós csőben minimálisan hozzáférhető eluátumtérfogat. Némely esetben az egyes mintákhoz tartozó eluátum végső térfogata akár 5 µl-rel kevesebb is lehet.

[†] Az a kezdeti elúciós puffertérfogat, amely ahhoz szükséges, hogy az eluátum tényleges térfogata megegyezzen a kiválasztott térfogattal.

Leltárellenőrzés

A futtatás megkezdése előtt a készülék ellenőrzi, hogy a várakozási sorban álló köteg(ek)hez szükséges fogyóeszközökből elegendő mennyiség lett-e betöltve a megfelelő fiókokba.

A mintaanyag előkészítése

Lásd „Mintavétel és a minta előkészítése”, 16. oldal.

A ccfDNS tárolása

Minta-előkészítés után a ccfDNS eluátumok -20 vagy -80 °C hőmérsékleten tárolhatók. A lefagyasztott eluátumokat legfeljebb három alkalommal szabad kiolvasztani. A ccfDNS eluátumokban való stabilitásával kapcsolatos legfrissebb információkért tekintse meg a www.qiagen.com vagy a www.PreAnalytiX.com termékoldalt.

A protokoll áttekintése

1. táblázat: A protokoll áttekintése

Minta	A PAXgene Blood ccfDNA Tube feldolgozása	Bevitt mintatérfogat (a holttérfogatot is beleértve) (ml)	A ccfDNS kinyeréshez használt mintatérfogat (ml)	Elúciós térfogat (μl)	A QIASymphony SP készülék protokollja
PAXgene Blood ccfDNA Tube csövekbe levett humán vénás teljes vérből nyert plazma	Centrifugálás 2x, plazmaátvitel másodlagos csőbe	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	Centrifugálás 1-szer, közvetlen feldolgozás a QIASymphony SP készülékben	A „selection tool” mérőeszköz szerint	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Az eljárás megkezdése előtt figyelembe veendő fontos szempontok

- A vegyszerekkel és biológiai mintákkal végzett munka során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkért olvassa el a megfelelő biztonsági adatlapokat (Safety Data Sheet, SDS).
- Győződjön meg róla, hogy tisztában van a QIASymphony SP készülék üzemeltetésének módjával. A kezelési utasításokat a készülék felhasználói kézikönyveiben találja meg.

Megjegyzés: Szükséges szoftverkonfiguráció az IVD felhasználáshoz: **Default Profile 1** (1. alapértelmezett profil).

- Az eljárás megkezdése előtt olvassa el a „Az eljárás elve” részt.
- Győződjön meg arról, hogy ismeri a Protocol (Protokoll) lap és Labware (Laboreszköz) lista tartalmát (a www.qiagen.com és a www.PreAnalytiX.com termékdoldalainak Product Resources (Termékerőforrások), illetve Resources (Erőforrások) fülén található).
- Kerülje el a reagenskazetta erőteljes rázását, különben hab képződhet, ami folyadékszint-érzékelési problémához vezethet.

- A vért PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; PreAnalytiX, katalógusszám: 768165) csövekbe kell gyűjteni. A vér levételével és kezelésével, valamint a plazma feldolgozásával kapcsolatos információkért olvassa el a csőhöz tartozó használati útmutatót, amely a www.qiagen.com és a www.PreAnalytiX.com termékoldalainak **Product Resources** (Termékerőforrások), illetve Resources (Erőforrások) fülén található.

Teendők az eljárás megkezdése előtt

- Az eljárás elindítása előtt győződjön meg arról, hogy minden mágneses részecske tökéletesen újrászuszpendálódott. Az első használat előtt alaposan keverje fel a mágneses részecskéket tartalmazó tálat vortex keverővel, legalább 3 percen keresztül.
- Ügyeljen arra, hogy a lyukasztófedél rá legyen helyezve a reagenskazettára, és hogy a mágneses részecskéket tartalmazó tál fedele le legyen véve, illetve ha már részben felhasznált reagenskazettát használ, gondoskodjon az újrahazsnálati zárócsíkok eltávolításáról.
- A proteináz K nem része a reagenskazettának, azt a felhasználónak kell biztosítani (mintafiók, A nyílás, 1. és/vagy 2. pozíció). Győződjön meg arról, hogy a helyes proteináz K térfogatot alkalmazza.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit használatra kész proteináz K oldatot tartalmaz. A proteináz K szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolható. A huzamosabb ideig történő tároláshoz azt javasoljuk, hogy tartsa a proteináz K enzimes fiolákat hűtve, 2–8 °C között.

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

* Mintánként 110 µl térfogatra (2400 µl plazma esetén) vagy 220 µl térfogatra (4800/4000 µl plazma esetén) van szükség, valamint további 1100 µl holttérfogatra [(n × 110 vagy 220 µl) + 1100 µl].

† Ha több mint 11 660 µl térfogatra van szükség, használjon egy második csövet (Corning, katalógusszám: 352051). A második csőnél további 1100 µl holttérfogatra van szükség.

Megjegyzés: A proteináz K-t tartalmazó csöveket csőtartóba kell helyezni.

A proteináz K-t tartalmazó csőtartót a „Sample” (Minta) fiók „A” nyílásába, az 1-es és 2-es pozícióba kell helyezni. A 14 ml-es, 17 × 100 mm-es, kerek aljú polisztirol csövek (Corning, katalógusszám: 352051) használatát javasoljuk a Proteinase K enzimhez.

- Ha a minták vonalkóddal vannak ellátva, úgy helyezze be a mintákat a csőtartóba, hogy a vonalkód a QIASymphony SP készülék bal oldalán elhelyezkedő vonalkódozóló felé nézzen.
- A protokollal kompatibilis mintacsövekkel és minimális mintatérfogatokkal kapcsolatos információkat illetően tekintse meg a megfelelő Labware (Laboreszköz) listát, amely a www.qiagen.com és a www.PreAnalytiX.com termékoldalainak Product Resources (Termékerőforrások), illetve Resources (Erőforrások) fülén érhető el.

Protokoll: A ccfDNS automatikus tisztítása a QIASymphony SP készülékkel

Az egyes protokollokkal, többek közt a térfogatokkal és a csövekkel kapcsolatos részletes információk a **www.qiagen.com** és a **www.PreAnalytiX.com** termékoldal Product Resources (Termékerőforrások), illetve Resources (Erőforrások) fülén érhető el. A mintaanyag (PAXgene Blood ccfDNA Tube csőbe levett humán vénás teljes vérből nyert plazma) előkészítését illetően olvassa el a „Mintavétel és a minta előkészítése” és „A mintaanyag előkészítése” részeket a jelen kézikönyvben, valamint a csövekre vonatkozó használati útmutatót, amely a **www.qiagen.com** vagy a **www.PreAnalytiX.com** termékoldalainak **Product Resources** (Termékerőforrások), illetve Resources (Erőforrások) fülén található.

1. Zárja be az összes fiókot és a készülék fedelét.
2. Kapcsolja BE a QIASymphony SP készüléket, és várjon, amíg megjelenik a Sample Preparation (Minta-előkészítés) képernyő, és befejeződik az inicializálási eljárás.
3. A főkapcsoló a QIASymphony SP készülék bal alsó sarkánál található.
4. Jelentkezzen be a készüléken.

A kívánt elúciós állványt helyezze be az „Eluate” (Eluátum) fiókba.

Ne helyezzen 96 cellás lemezt az „Elution slot 4” (4-es elúciós) nyílásba. Az „Elution slot 1” (1-es elúciós nyílás) nyílást kell használnia, a megfelelő hűtőadapterrel.

Ha 96 cellás lemezt használ, ügyeljen arra, hogy a lemez a megfelelő irányban legyen, mivel a rossz behelyezés a minták felcserélődését eredményezi a downstream elemzésben.

Az Elution Microtubes CL állvány használatakor vegye le az alját úgy, hogy addig forgatja az állványt, amíg le nem jön az alja.

5. Ellenőrizze, hogy a „Waste” (Hulladék) fiók megfelelően van-e előkészítve, és hajtson végre leltárellenőrzést a „Waste” (Hulladék) fiókon, a hegyledobót, hegytároló állomást, az üres folyékonyhulladék-tartályt és az üres egységdobozokat is beleértve. Szükség esetén cserélje ki a hegygyújtó hulladék tasakot.

6. Töltse fel a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiókot a szükséges reagenskazettával/reagenskazettákkal és fogyóeszközökkel.
7. Végezze el a „Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiók leltárellenőrzését.
8. Tegye be a mintákat a megfelelő mintatartókba, és helyezze be a mintatartókat a „Sample” (Minta) fiókba.

Megjegyzés: Az általános feldolgozás mellett, beleértve a plazma megfelelő mintahordozóba helyezett megfelelő másodlagos csőbe (14 ml-es Falcon® kerek aljú polisztirol cső, 17 × 100 mm) történő átvitelét, a PAXgene Blood ccfDNA Tube elsődleges csőben való kezelés munkafolyamata lehetővé teszi a ccfDNS extrakcióját közvetlenül a PAXgene Blood ccfDNA Tube (10 ml-es PAXgene Blood ccfDNA Tube, 16 × 100 mm) csőből. Az elsődleges cső kezelésével kapcsolatos információkért olvassa el a Protocol (Protokoll) lapot, a Labware (Laboreszköz) listát és a csövekre vonatkozó használati útmutatót a www.qiagen.com vagy www.PreAnalytiX.com termékoldal Product Resources (Termékerőforrások), illetve Resources (Erőforrások) fülén.

9. Az érintőképernyő használatával adja meg a szükséges adatokat a feldolgozandó minták mindegyik kötegéhez és a proteináz K enzimhez.

Adja meg a következő információkat:

- Mintainformáció (a választott mintatartó állványoktól függően válassza a BD #352051 FalconPP 17 × 100 vagy a BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100 lehetőséget)
- Futtatandó protokoll (assay kontrollkészlete)
- Elúciós térfogat és kimeneti pozíció

Miután megadta a kötegre vonatkozó információkat, az állapotjelző „LOADED” (Betöltve) kijelzésről átvált a „QUEUED” (Sorba állítva) kijelzésre. Amint egy köteg sorba állítása megtörtént, megjelenik a Run (Futtatás) gomb.

10. Tegye be a Proteinase K enzimet a megfelelő mintatartóba, az 1. és a 2. pozícióba, és helyezze be ezeket a „Sample” (Minta) fiók A rekeszébe.

11. Az **IC** gomb lenyomásával határozza meg a Proteinase K enzimet.
12. A tisztítási eljárás elindításához nyomja meg a Run (Futtatás) gombot.
A feldolgozás minden lépése teljesen automatizált. A protokoll futtatásának végén a köteg állapotjelzője a RUNNING (Futtatás) kijelzésről COMPLETE (Teljesítve) kijelzésre vált át.
13. Vegye ki a tisztított ccfDNS-t tartalmazó elúciós állványt az „Eluate” (Eluátum) fiókból. Erősítse meg az elúciós állvány eltávolítását a QIASymphony SP készülék szoftverével.
14. A kapott ccfDNS használatra kész, vagy $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on vagy $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolható, legfeljebb 6 hónapig. A QIAGEN javasolja, hogy a futtatás befejeződését követően haladéktalanul vegye ki az eluátumlemezt az „Eluate” (Eluátum) fiókból. Ha az eluátumlemez a QIASymphony SP készülékben marad a futtatás befejeződését követően is, akkor a hőmérséklettől és a páratartalomtól függően kondenzáció vagy párolgás fordulhat elő.

Megjegyzés: A QIASymphony SP készülék hűtőfunkciója akár egész éjszakán át is használható.

A mágneses részecskék általában nem kerülnek bele az eluátumokba. Ha mégis átszennyezés fordulna elő, az eluátumokban lévő mágneses részecskék nem zavarják a legtöbb downstream alkalmazást.

Ha el kell távolítani a mágneses részecskéket downstream alkalmazások elvégzése előtt, úgy az eluátumokat tartalmazó tesztcsöveket vagy lemezeket először egy megfelelő mágnesbe kell helyezni, majd az eluátumokat át kell vinni egy tiszta tesztcsöbe (lásd „Függelék: A ccfDNS kvantifikációja”). Minden elúciós lemezről eredményfájlok készülnek.

15. Ha valamelyik reagenskazetta csak részben használódott fel, zárja le a kitben található újrahasználati zárócsíkokkal.

Megjegyzés: A csak részben felhasznált reagenskazetták tárolásáról szóló további információkat lásd: „A reagensek tárolása és kezelése”.

16. A használt mintacsöveket és a hulladékokat a helyi biztonsági előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani. A biztonsági információkat lásd: „Figyelmeztetések és óvintézkedések”.
17. A QIASymphony SP készülék tisztítása.
Kövesse a készülék felhasználói kézikönyveiben található karbantartási utasításokat. Ne felejtse el a hegyvédőket rendszeresen tisztítani, hogy minimálisra csökkentse a keresztzennyeződés kockázatát.
18. Zárja be a készülék fiókjait, és kapcsolja ki a QIASymphony SP készüléket.

Minőség-ellenőrzés

A QIAGEN ISO-minősített minőségirányítási rendszerének megfelelően a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit minden egyes gyártási tételét ellenőrzik, hogy az megfelel-e az előírt paramétereknek, ezzel biztosítva a termék állandó és kifogástalan minőségét.

Korlátozások

A rendszer teljesítményét olyan teljesítményértékelő vizsgálatok alapján állapították meg, amelyek során PAXgene Blood ccfDNA Tube csőbe levett humán vénás teljes vérből nyert plazmából tisztítottak ccfDNS-t.

A QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit teljesítményjellemzőit plazmában lévő 18S riboszomális és DYS14 Y-kromoszomális ccfDNS fragmentumok felhasználásával határozták meg.

A felhasználó felelőssége, hogy ellenőrizze a rendszer teljesítményét a laboratóriumában alkalmazott bármely olyan eljárásra, amely nem része a QIAGEN és a PreAnalytiX teljesítménykiértékelő vizsgálatoknak.

A diagnosztikai eredményeket negatívan befolyásoló hatások kockázatának minimalizálása érdekében a további alkalmazásokhoz megfelelő kontrollokat kell használni. A kapott diagnosztikai eredményeket mindig az egyéb klinikai vagy laboratóriumi leletekkel összefüggésben kell értelmezni.

Hibaelhárítási útmutató












Ez a hibaelhárítási útmutató bármely felmerülő hiba esetén segíthet a megoldásban. A kapcsolatfelvételi adatokat és a gyakran ismételt kérdések listáját a www.PreAnalytiX.com vagy a www.qiagen.com megfelelő termékoldalán érheti el.

Megjegyzések és javaslatok	
Általános kezelés	
a) Az érintőképernyőn kijelzett hibaüzenet	Ha a protokoll közben hibaüzenet jelenik meg, olvassa el a készülék felhasználói kézikönyveit.
b) Változó eluátum-térfogat az egész éjszakai futtatásokat követően	A teljesítmény optimalizálása érdekében a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit az eluátumok QIASymphony SP készüléken való hűtése által támogatja a minták éjszakai feldolgozását. A hosszú hűtési időszakok alatt az eluátumok térfogata a laboratórium hőmérsékletétől és páratartalmától függően változhat. Például, ha a választott térfogat 60 µl 15–25 °C hőmérsékleten és 30–60%-os páratartalom mellett, a térfogat 50–85 µl közötti lehet a készülékben történő 12 órás tárolás után.
Krioprecipitátumok a plazmaminták kiolvasztását követően	
a) Krioprecipitátumok kialakulása a plazmában	A krioprecipitátumok kialakulásának megakadályozása érdekében a plazma kiolvasztása szobahőmérséklet helyett 30 °C-on, 30 percen át történhet. A kiolvasztást ne végezze alacsonyabb (pl. 4 °C) hőmérsékleten. A kiolvasztást követően vortex keverővel keverje a csövet 30 másodpercig.
b) A plazmából nyert alacsony ccfDNS hozam a krioprecipitátumok eltávolítását követően	A krioprecipitátumok eltávolításához ne centrifugálja a plazmát, mivel ccfDNS-t tartalmazhat.
Nem elégséges térfogatú plazma a PAXgene Blood ccfDNA Tube csövekből	
a) Kevesebb mint 10 ml levett vér a PAXgene Blood ccfDNA Tube mintacsőben	Ellenőrizze, hogy a PAXgene Blood ccfDNA Tube mintacsőbe levett vér eléri-e a 10 ml-t. Lásd a PAXgene Blood ccfDNA Tube használati útmutatóját.
b) Nagy arányú sejtfrakció	Ha a humán teljes vérben nagy a sejtfrakció (hematokrit) aránya, (pl. férfiaknál 51% vagy nőknél 47%), az csökkentheti a plazma térfogatát.
c) Túl kevés plazmatermék a centrifugálás után	A vér hosszabb idejű tárolása és szállítása, illetve az előírttól eltérő centrifugálási körülmények hatással lehetnek a plazmatermék mennyiségére.

Megjegyzések és javaslatok	
Precipitátum a QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit nyitott reagenskazettájának tájában	
a) Puffer elpárolgása	A túlzott mértékű párolgás növelheti a pufferek sókoncentrációját. Selejtezze le a reagenskazettákat. Ügyeljen arra, hogy a részben felhasznált reagenskazetták puffertálcáit alaposan lezárja az újrahasználati zárócsikkal, amikor nincs használatban a tisztításhoz.
b) A reagenskazetta tárolása	Ha a reagenskazettát 15 °C alatti hőmérsékleten tárolja, az precipitátum képződéséhez vezethet.
Alacsony ccfDNS-hozam	
a) A mágneses részecskék nem voltak tökéletesen újrászuszpendálva	Az eljárás elindítása előtt győződjön meg arról, hogy minden mágneses részecske ismét tökéletesen felszuszpendálódott. Használat előtt keverje vortex keverővel legalább 3 percig. A nem teljes újrászuszpendálás pipettázási hibákat eredményezhet.
b) A pipettahegy oldhatatlan anyag miatt eltömődött	Az oldhatatlan anyagok nem lettek eltávolítva a mintából a QIASymphony SP készülék tisztítási eljárás megkezdése előtt.
c) A mintaanyag alacsony koncentrációban tartalmaz ccfDNS-t	Mivel a plazmamintában a ccfDNS nagyon alacsony mennyiségben van jelen, a ccfDNS koncentrációjának mérése kihívást jelenthet a kvantifikációs módszertől függően. Az eluátumok ccfDNS-koncentrációjának ellenőrzésére érzékeny qPCR ajánlott.
d) A reagenskazetta nem teljes újrázárása	A részben felhasznált reagenskazetta esetében a környező levegővel történő érintkezés a pufferek csökkent stabilitásához vezethet, ami csökkenti a ccfDNS extrakciójának hatékonyságát. Ügyeljen arra, hogy a részben felhasznált reagenskazetták puffertálcáit lezárja az újrahasználati zárócsikkal, amikor nincs használatban a tisztításhoz.
A ccfDNS kis teljesítménye a downstream alkalmazásoknál	
a) Vákuumcentrifugálással koncentrált eluátum	Ne koncentrálja az eluátumot vákuumcentrifugálással (pl. SpeedVac® vagy hasonló készülék segítségével). Ez a magas hőmérsékletek miatti bomlást, illetve az eluátumban található sók koncentrárlódását idézheti elő, ami zavarhatja a downstream alkalmazásokat.
b) Csepp-átszennyezés	A mágneses részecskék általában nem kerülnek bele az eluátumokba. Ha mégis átszennyezés fordulna elő, az eluátumokban lévő mágneses részecskék nem zavarják a legtöbb downstream alkalmazást. Ha az adott downstream assay-k nagyon nagy mennyiségű eluátumot igényelnek, az eluátumok centrifugálhatóak és átmérhetőek egy tiszta csőbe.
Nincs/hiányos a mintaátvitel	
a) Nem megfelelő mintatérfigot mértek ki a szabványos protokollok során	Ha a megadottnál kisebb térfogatú mintát mér ki, azzal nő a kockázata annak, hogy a minta unclear (nem egyértelmű) vagy invalid (érvénytelen, ekkor nem történik mintaátvitel) jelölést kapjon. Mérje ki a megfelelő mintatérfigot, a vonatkozó Protocol (protokoll) lapnak és Labware (laboreszköz) listának megfelelően.
b) Buborékok és/vagy hab a mintacsőben	A mintában és/vagy a mintabeviteli csőben található buborékok vagy hab a folyadékszint hibás érzékelését eredményezheti, ezáltal pedig hiányos mintaátvitelhez vezethet. Távolítsa el a buborékokat a mintacsőből.

Szimbólumok

A használati útmutatóban, a csomagoláson és a címkéken a következő szimbólumok szerepelhetnek: A további szimbólumok ismertetése a következő részben található: A kit tartalma (9. oldal).

Szimbólum	Szimbólum definíciója
 <N>	<N> teszthez elegendő reagenst tartalmaz Jelzi az IVD-vel elvégezhető összes IVD teszt számát.
	Lejárati dátum
	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	CE-jelölés. Ez a termék megfelel az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökre vonatkozó 2017/746 számú európai rendelet követelményeinek.
	Katalógusszám
	Tételszám
	Anyagszám (azaz az összetevők címkéje)
	Összetevők (azaz a tartalom listája)
	Tartalmazott anyag (tartalom)
	Szám (azaz üvegek, palackok)
	Globális kereskedelmi áruazonosító szám (Global Trade Item Number, GTIN)
Rn	Az R a használati útmutató (Kézikönyv) módosítását, az n pedig a módosítás számát jelöli



Hőmérsékleti határértékek



Gyártó



Lásd a használati útmutatót



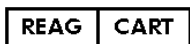
Figyelem!



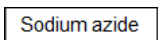
Proteináz K



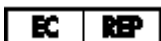
Cellaszám (azaz a reagenszetta cellái)



Reagenszetta



Nátrium-azid



Hivatalos európai képviselő, az Európai Parlament és a Tanács (EU) 2017/746 rendeletének megfelelően

Függelék: A ccfDNS kvantifikációja

A mintaanyagokban található ccfDNS nagyon alacsony koncentrációja miatt nem ajánlott a DNS spektrofotométerrel való mérése. A ccfDNS koncentrációjának meghatározásához érzékeny és pontos, fluoreszcencián alapuló kvantitatív assay vagy real-time PCR assay alkalmazandó.

Ha a mágneses részecskéket el kell távolítani, helyezze a DNS-t tartalmazó tesztcsövet egy megfelelő mágneses szeparálóba (pl. QIAGEN 12-Tube Magnet, katalógusszám: 36912), amíg a mágneses részecskék nem szeparálódnak.

Ha a DNS-t mikrotiter lemezbe gyűjtötte, helyezze a mikrotiter lemezt egy megfelelő mágneses szeparálóba (pl. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, katalógusszám: 36915), amíg a mágneses részecskék nem szeparálódnak. Ha nem áll rendelkezésére megfelelő mágneses szeparáló, centrifugálja a DNS-t tartalmazó tesztcsövet 1percen át teljes sebességgel egy mikrocentrifugában, hogy az összes maradék mágneses részecske pelletet képezzen.

Rendelési információk

Termék	Tartalomjegyzék	Katalógusszám
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Tartalom: 2 reagenskazetta, proteínáz K csövek és tartozékok	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)(100)	100 cső: 16 × 100 mm, 1,5 ml adalékanyag, 10 ml levehető vérmennyiség	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	QIASymphony minta-előkészítő modul, 1 éves alkatrész- és működési garancia	9001297
Kapcsolódó QIAGEN termékek		
Proteinase K (10 mL)	1 × 10 ml-es palack	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	Reagenskazetta-tartó a QIASymphony SP készülékekkel való használatra	997008
Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym	Hűtőadapter 2 ml-es csavaros tetejű tesztcsövekhez. A QIASymphony SP készülék „Eluate” (Eluátum) fiókjában való használatra	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Hűtőadapter az EMT-állványokhoz. A QIASymphony SP készülék „Eluate” (Eluátum) fiókjában való használatra	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Hűtőadapter az 1,5 ml-es Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock pattintózárás csövekhez. A QIASymphony SP készülék „Eluate” (Eluátum) fiókjában való használatra	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Minta-előkészítő kazetták 8 cellával a QIASymphony SP készülékkel való használatra	997002

Termék	Tartalomjegyzék	Katalógusszám
8-Rod Covers (144)	8-Rod Cover burkolatok a QIASymphony SP készülékkel való használatra	997004
Filter-Tips, 200 µL (1024)	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, tartóállványban; (8 × 128). QIACube® és QIASymphony SP/AS készülékkel való használatra	990332
Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024)	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, tartóállványban; (8 × 128). A QIASymphony SP/AS készülékekkel való használatra	997024
Tip Disposal Bags (15)	Hegygyűjtő hulladéktasakok a QIASymphony SP készülékkel való használatra	9013395
12-Tube Magnet	Mágnes a mágneses részecskék 12 × 1,5 ml-es vagy 2 ml-es térfogatú tesztcsövekben történő elválasztásához	36912
96-Well Magnet Type A	Mágnes a mágneses részecskék 96 cellás mikrotiter lemezek celláiban történő elválasztásához, 2 × 96-Well Microplates FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Újrahasználati zárókészlet a részben felhasznált QIASymphony reagenskazetták lezárására	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Nem steril polipropilén tesztcsövek (0,85 ml maximális kapacitással, 0,7 ml-nél kisebb tároló kapacitással, 0,4 ml-es elúciós kapacitással); 2304 darab, 96-os állványokban; a zárókupaksorokat is tartalmazza	19588
Caps for Elution Microtubes (50 × 8)	Elúciós mikrocövekhez való kupakok (50 × 8)	19591
14 mL Falcon Tube	Mintahordozóként használt polisztirol, lekerekített végű, 17 × 100 mm-es cső a QIASymphony SP készülékhez	Corning, 352051

A dokumentum átdolgozási előzményei

Átdolgozás	Leírás
R1, 2021. május	Első kiadás
R2, 2022. május	Bizonyos előfordulásoknál a „(CE-IVD)” törlése. A kit tartalma táblázat frissítése. A www.PreAnalytiX.com hozzáadása a kapcsolódó erőforrások helyéhez. A „minták” „vérminták”-ként való megnevezése a Biztonsági információk című részben. A Biztonsági információk című részben szereplő „Ártalmatlanítani kell a mintákat és az assay során képződő hulladékokat” mondat módosítása a következőre: „Ártalmatlanítani kell a veszélyes biológiai anyagokat és a kit hulladékait”. Frissített szakaszok: „A) Plazma előkészítése vérből standard protokollokhoz” és „B) Plazma előkészítése vérből a QIASymphony SP készüléken, elsődleges csőben való kezeléshez”.
R3, 2023. február	A PreAnalytiX GmbH címében az utca „Feldbachstrasse” helyett „Garstligweg 8”-ra változott. Övintézkedések című fejezet frissítése. Biztonsági információk című fejezet kiegészítése a vészhelyzeti információkkal. A Proteinase K (100 ml) javított katalógusszáma a Rendelési információknál. Elrendezési és szerkesztési módosítások.

Megjegyzések

Megjegyzések



A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő PreAnalytiX® vagy QIAGEN® kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A PreAnalytiX és QIAGEN kitek kézikönyvei és a felhasználói útmutatók elérhetők a www.qiagen.com webhelyen, vagy beszerezhetők a QIAGEN Műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól.

További információkért látogasson el a
www.PreAnalytiX.com webhelyre.

HB-2866-003 02/2023



A QIAGEN / BD Company