

Helmikuu 2023

QIASymphony® PAXgene® Blood ccfDNA Kit -sarjan käyttöohje (käsikirja)



192

Versio 1



In vitro -diagnostiikkaan



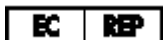
768566



PreAnalytiX GmbH

Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Sveitsi

1130770FI



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, SAKSA

PreAnalytiX Company

PreAnalytiX GmbH

8634 Hombrechtikon

Sveitsi

www.PreAnalytiX.com

Tavaramerkit: 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 tai sen tytäryhtiöt).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

1130770FI HB-2866-003

© 2023 PreAnalytiX GmbH. Ellei muutoin ole ilmoitettu, PreAnalytiX, PreAnalytiX-logo ja kaikki muut tavaramerkit ovat PreAnalytiX GmbH -yhtiön, Hombrechtikon, CH, omaisuutta.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan rajoitettu lisenssisopimus

Tämän tuotteen käyttö tarkoittaa QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan ostajan tai käyttäjän suostumusta noudattaa seuraavia ehtoja:

1. Tuotetta saa käyttää ainoastaan tuotteen mukana toimitettujen asiakirjojen ja tämän käsikirjan ohjeiden mukaan, ja sen kanssa saa käyttää vain sarjan sisältämiä komponentteja. PreAnalytiX® ei myönnä immateriaalioimaisuutensa lisenssiä tarkoitukseen käyttää tai liittää tämän sarjan sisältämiä osia muiden osien kanssa, jotka eivät sisälly tähän sarjaan, lukuun ottamatta osia, jotka kuvataan tuotteen mukana toimitetuissa protokollissa, tässä käsikirjassa ja muissa protokollissa, jotka ovat saatavana osoitteessa www.qiagen.com ja www.PreAnalytiX.com.
2. PreAnalytiX ei takaa kuin nimenomaisissa lisensseissään, että tämä sarja ja/tai sen käyttäjä(t) eivät loukkaa minkään kolmannen tahon oikeuksia.
3. Tämä tarvike ja sen komponentit on lisensoitu kertakäyttöön, eikä niitä saa käyttää uudelleen, kunnostaa tai myydä eteenpäin.
4. PreAnalytiX kiistää nimenomaisesti kaikki käyttöoikeudet, suorat tai epäsuorat, joita ei ole tässä nimenomaisesti ilmoitettu.
5. Sarjan ostaja ja käyttäjä suostuvat siihen, että he eivät ryhdy tai anna kenellekään toiselle lupaa ryhtyä toimenpiteisiin, jotka saattavat aiheuttaa tai edistää mitään yllä kiellettyä toimintaa. PreAnalytiX voi kääntä minkä tahansa tuomioistuimen puoleen pannakseen täytäntöön tämän rajoitetun lisenssisopimuksen kiellot ja saadakseen hyvityksen kaikista valmistelu- ja oikeuskuluista (asianajopalkkiot mukaan lukien), kun tarkoituksena on tämän rajoitetun lisenssisopimuksen tai sarjaan ja/tai sen komponentteihin liittyvien immateriaalioikeuksien täytäntöönpano.

Katso päivitetty käyttöoikeusehdot osoitteesta www.qiagen.com ja www.PreAnalytiX.com.

PreAnalytiX-jälleenmyyjät

PreAnalytiX-tuotteet ovat QIAGENin ja BD:n PreAnalytiXille valmistamia ja jakelemia.

Sisältö

Sisältö.....	3
Käyttötarkoitus	5
Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä.....	5
Kuvaus ja toimintaperiaate	6
Yhteenveto ja selitykset	6
Testin periaatteet	7
Toimitetut materiaalit	9
Sarjan sisältö	9
Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen.....	10
Välineet	10
Varoitukset ja varotoimet	11
Turvallisuustiedot	11
Varotoimet.....	12
Reagenssien säilytys ja käsittely.....	14
Sarjan osat.....	14
Näytteiden ottaminen ja valmisteleminen	16
Menetelmä	20
Yleistä: ccfDNA:n automaattinen puhdistus QIASymphony SP -laitteella	20
Protokollan yhteenveto	25
Protokolla: ccfDNA:n automaattinen puhdistus QIASymphony SP -laitteella.....	28
Laadunvalvonta.....	32
Rajoitukset.....	32

Vianmääritysopas.....	33
Symbolit.....	36
Liite: ccfDNA:n kvantifiointi.....	38
Tilaustiedot.....	39
Asiakirjan muutoshistoria.....	41

Käyttötarkoitus

QIASymphony SP -laitteen kanssa käytettävä QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja on tarkoitettu kiertävän soluttoman DNA:n (Circulating Cell-Free DNA, ccfDNA) eristämiseen ja puhdistamiseen plasmasta, joka on johdettu PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin kerätystä ihmisen laskimokokoverestä.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit käyttää magneettisia hiukkasia hyödyntävää tekniikkaa ccfDNA:n automaattiseen eristämiseen ja puhdistukseen ihmisen plasmasta.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit on tarkoitettu *in vitro* -diagnostiseen käyttöön, ja sitä saavat käyttää ammattilaiset, joilla on molekyylibiologian tekniikoita koskeva koulutus.

Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä

Tämä sarja on tarkoitettu ammattikäyttöön.

Tuotetta saavat käyttää vain asianmukaisesti opastetut, molekyylibiologian tekniikoihin koulutetut ja tämän nimenomaisen tekniikan tuntevat henkilöt.

Kuvaus ja toimintaperiaate

Yhteenveto ja selitykset

Kiertävää solunulkoista DNA:ta (circulating cell-free DNA, ccfDNA) on plasmassa yleensä lyhyinä fragmentteina (<1000 bp). ccfDNA:n pitoisuus plasmassa on yleensä vähäinen (voi vaihdella alueella 1–100 ng/ml) ja voi vaihdella huomattavasti yksilöiden välillä. CE-merkitty PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube -putki yhdessä QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan kanssa tarjoavat standardoidun työkulun veren keräämiseen, säilyttämiseen ja kuljettamiseen, DNA:n stabilointiin suljetussa putkessa ja ccfDNA:n myöhempään eristämiseen ja puhdistamiseen ihmisen plasmasta QIAGEN® QIASymphony SP -laitteen avulla.

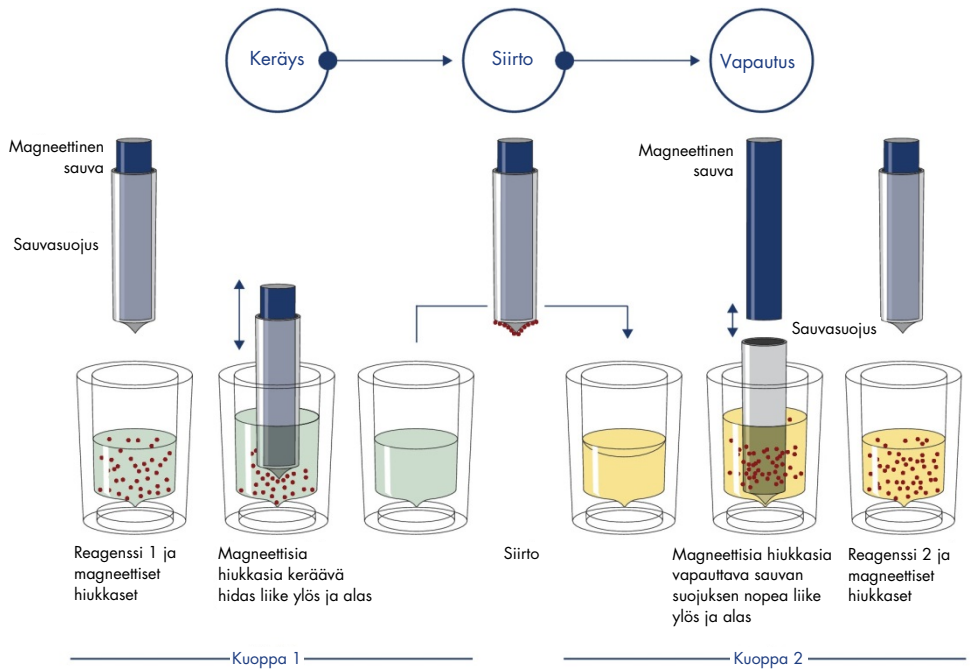
QIASymphony SP -laitteen protokollat tarjotaan ccfDNA:n eristämiseen 2,4 ml:sta ja 4,8 ml:sta plasmaa, joka on johdettu PAXgene Blood ccfDNA Tubes -putkista kaksoisentrifugoinnilla. Plasma siirretään ja käsitellään toissijaisessa putkessa QIASymphony SP -laitteessa.

Vaihtoehtoisesti saatavilla ovat ensisijaisen putken käsittelyprotokollat QIASymphony SP -laitteessa 2,4 ja 4 ml:n syötettävälle plasmamäärälle. Tässä tapauksessa toiselle sentrifugointivaiheelle tai plasman siirtämiselle toissijaiseen putkeen ei ole tarvetta.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan magneettisia hiukkasia hyödyntävä tekniikka mahdollistaa korkealaatuisen ccfDNA:n, joka ei sisällä proteiineja, nukleaaseja tai muita epäpuhtauksia, puhdistamisen. QIASymphony SP -laite tekee kaikki puhdistuksen toimenpidevaiheet. Enintään 96 näytettä 24 näytteen erissä käsitellään yhdellä ajolla. Katso ohjeet genomisen DNA:n (genomic DNA, gDNA) eristämiseen PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin QIASymphony SP -laitteella kerätyn veren tumallisesta solufraktiosta PAXgene Blood ccfDNA Tube -putken käyttöohjeesta (www.PreAnalytiX.com).

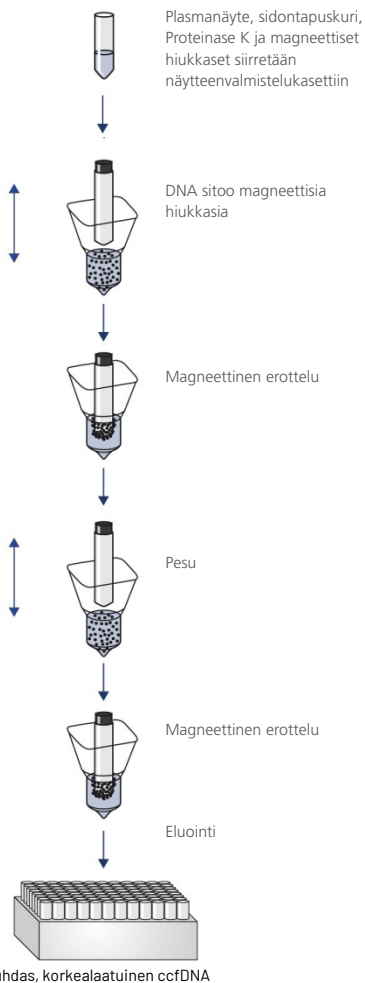
Testin periaatteet

QIASymphony SP -laitteen tekniikka yhdistää anionin vaihtoon perustuvan nukleiinihappojen puhdistuksen nopeuden ja tehokkuuden kätevään magneettisten hiukkasten käsittelyyn (kuva 1). Puhdistustoimenpide on suunniteltu varmistamaan mahdollisesti tartuntavaarallisten näytteiden turvallinen ja toistettava käsittely. Toimenpide sisältää kolme vaihetta: sidonta, pesu ja eluointi (kuva 2). Käyttäjät voivat valita eri syötettävien näytemäärien väliltä.



Kuva 1. Kaavakuva QIASymphony SP -laitteen periaatteesta. QIASymphony SP -laite käsittelee magneettisia hiukkasia sisältävän näytteen seuraavalla tavalla: sauvan suojuksen suojaama magneettinen sauva siirtyy näytettä sisältävään kuoppaan ja vetää puoleensa magneettisia hiukkasia. Magneettisen sauvan suojus asettuu toisen kuopan yläpuolelle, ja magneettiset hiukkaset vapautuvat. Nämä vaiheet toistuvat useita kertoja näytteen käsittelyn aikana. QIASymphony SP -laite käyttää magneettista päätä, jossa on 24 magneettisen sauvan ryhmä. Siten se kykenee käsittelemään 24 näytettä samanaikaisesti.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



Kuva 2. ccfDNA:n eristämisen vaiheet QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjalla. ccfDNA:n fragmentit eristetään plasmasta, joka on johdettu PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin kerätystä ihmisen laskimokoverestä. Ensimmäisen käsittelyvaiheen aikana Proteinase K hajottaa plasman proteiinit ja ccfDNA sitoutuu magneettisten hiukkasten pintaan. Kolme pesuvaihetta takaavat, että kontaminantit poistetaan. Lopuksi ccfDNA eluoidaan magneettisista hiukkasista, ja se on valmis käytettäväksi myöhemmissä käyttötarkoituksissa.

Toimitetut materiaalit

Sarjan sisältö

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) Tuotenumero Reaktioiden määrä		(192) 768566 192		
Lyhenne	Nimi	Määrä	Vaikuttavat ainesosat	Pitoisuus [%]**
RC	Reagent cartridge* (Reagenssikasetti)	2	Ei-ioninen puhdistusaine Anionin vaihtoon perustuva magneettinen hiukkanen NaOH Etanoli	$\geq 0,5 - < 10$ [w/w] – $\geq 0,05 - < 0,1$ [w/w] $\geq 70 - < 90$ [v/v]
PROTK	Proteinase K† (Proteinaasi K)	5 × 10 ml	Proteinase K	$\geq 1 - < 3$ [w/w]
PL	Piercing Lid (Puhkaisukansi)	2	–	–
RSS	Reuse Seal Set‡ (Uudelleenkäytettävä tiivistesarja)	2	–	–
	Elution Microtubes CL, racked* (Eluutiomikroputket CL, telineessä)	2	–	–
	Caps for Elution Microtubes* (Eluutiomikroputkien korkit)	1 × (55 × 8)	–	–
	Käyttöohje (käsikirja)	1	–	–
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	–	–

* Sisältää natriumatsidia säilöntäaineena.

† Sivulla 36 on luettelo symboleista ja niiden selitykset.

‡ Reuse Seal Set (RSS) sisältää kahdeksan (8) uudelleenkäytettävää tiivisteliuksia.

Saatavilla myös erikseen, katso Tilaukset.

** Enimmäispitoisuus yhdessä kuopassa.

Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen

Kun työskentelet kemikaalien ja biologisten näytteiden parissa, noudata aina yleisiä varotoimenpiteitä ja käytä soveltuvaa laboratoriotakkia, kertakäyttöisiä käsineitä ja suojalaseja laitoksesi käytäntöjen ja menetelmien mukaisesti. Lisätietoja on asianmukaisissa käyttöturvatiedoissa (Safety Data Sheet, SDS), jotka ovat saatavana tuotteen toimittajalta.

Varmista, että välineet on tarkastettu ja kalibroitu valmistajan ohjeiden mukaan.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, tuotenro 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, tuotenro 997004)
- Filter-Tips, 200 µl ja 1500 µl (QIAGEN, tuotenrot 990332 ja 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, tuotenro 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (PreAnalytiX, tuotenro 768165)
- Näyteputket. Katso yhteensopivat ensisijaiset ja toissijaiset putkityypit laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivujen Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa www.qiagen.com ja Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa www.PreAnalytiX.com.
- Katso yhteensopivat eluutioputkityypit laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivujen Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa www.qiagen.com ja Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa www.PreAnalytiX.com.

Välineet*

- Pipetti (5 ml)
- QIASymphony SP -laite (QIAGEN, tuotenro 9001297)

* Varmista ennen käyttöä, että laitteet on tarkistettu ja kalibroitu valmistajan suositusten mukaan.

Varoitukset ja varotoimet

In vitro -diagnostiikkaan.

Lue kaikki ohjeet huolellisesti ennen sarjan käyttöä.

Jos olet Euroopan unionissa sijaitseva asiakas, huomaa, että sinun voi olla tarpeen raportoida laitteeseen liittyvistä vakavista vaaratilanteista valmistajalle ja käyttäjän ja/tai potilaan oleskelumaan toimivaltaiselle viranomaiselle.

Turvallisuustiedot

Kun työskentelet kemikaalien ja biologisten näytteiden parissa, noudata aina yleisiä varotoimenpiteitä ja käytä soveltuvaa laboratoriotakkia, kertakäyttöisiä käsineitä ja suojalaseja laitoksesi käytäntöjen ja menetelmien mukaisesti. Lisätietoa saa tuotekohtaisista käyttöturvatieotteista (Safety Data Sheet, SDS). Ne ovat saatavilla PDF-muotoisina verkossa sivulla www.qiagen.com/safety, jossa voit tarkastella ja tulostaa kaikkien PreAnalytiX-sarjan ja sarjakomponentin käyttöturvatieotteita.

- Kaikki kemikaalit ja biologiset aineet ovat mahdollisesti vaarallisia. Verinäytteet ovat mahdollisesti tartuntavaarallisia ja niitä on kohdeltava biologisesti vaarallisina materiaaleina.
- Hävitä biovaaralliset materiaalit ja sarjan jäte paikallisten turvallisuuskäytäntöjen mukaisesti.

Tiedot hätätilanteeseen

CHEMTREC

Yhdysvallat ja Kanada 1 800 424 9300

Yhdysvaltojen ja Kanadan ulkopuolella +1 703 527 3887

Varotoimet

Reagenssikasetin (Reagent Cartridge, RC) puskurit sisältävät natriumatsidia. Jos sarjan puskuireita roiskuu, puhdista roiskeet soveltuvalla laboratoriopuhdistusaineella ja vedellä. Jos roiskuneessa nesteessä on mahdollisia tartunnanaiheuttajia, puhdista roiskeiden alue ensin laboratoriopuhdistusaineella ja vedellä ja sen jälkeen 1-prosenttisella (til.) natriumhypokloriitilla (valkaisuaine).

Seuraavat varoitukset ja varotoimet koskevat QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan osia.

MBS3

Sisältö: Natriumatsidi. Varoitus! Voi olla haitallista nieltynä. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta.

Proteinase K



Sisältö: Proteinase K:ta. Vaara! Aiheuttaa vähäistä ihoärsytystä. Voi aiheuttaa hengitettynä allergia- tai astmaoireita tai hengitysvaikeuksia. Vältä pölyn/savun/kaasun/sumun/höyryn/suihkeen hengittämistä. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta. Käytä hengityksensuojainta. Altistumistapauksessa tai epävarmoissa tilanteissa: Ota yhteys myrkytystietokeskukseen tai lääkäriin. Siirrä altistunut henkilö raittiiseen ilmaan ja pidä lepoasennossa, jossa on helppo hengittää.

QSE2



Sisältö: Natriumhydroksidi. Vaara! Aiheuttaa vakavia palo- ja silmävammoja. Hävitä sisältö tai säiliö toimittamalla se hyväksytyyn jätelaitokseen. **Jos liuosta joutuu silmiin**, toimi seuraavasti: Huuhtelee huolellisesti vedellä useiden minuuttien ajan. Poista mahdolliset piilolinssit, jos ne ovat helposti poistettavissa. Jatka huuhtelua. **Jos liuosta joutuu iholle (tai hiuksiin)**, toimi seuraavasti: Riisu kaikki kontaminoituneet vaatteet välittömästi. Huuhtelee ihoa vedellä/suihkulla. Soita heti myrkytystietokeskukseen tai lääkäriille. Säilytä lukitussa tilassa. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta.

QSW9



Sisältö: Etanoli. Vaara! Erittäin tulenarka neste ja höyry. Aiheuttaa vakavaa silmien ärsytystä. Pidettävä poissa lämmönläheistä / kipinöistä / avotulesta / kuumista pinnoista. Ei tupakointia. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta.

Reagenssien säilytys ja käsittely

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjaa on säilytettävä pystyasennossa huoneenlämmössä (15–25 °C). Reagenssikasettien (Reagent Cartridge, RC) magneettiset hiukkaset pysyvät aktiivisina, kun niitä säilytetään tällä lämpötila-alueella.

Huomautus: QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -pakkauksen etiketti sisältää sarjan viimeisen käyttöpäivämäärän. Viimeinen käyttöpäivämäärä koskee reagenssikasettia.

Älä käytä QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjaa, kun se on vanhentunut.

Sarjan osat

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja sisältää valmiskäyttöistä Proteinase K -liuosta, jota voidaan säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C).

Reagenssikasetteja (Reagent Cartridge, RC) ei saa säilyttää alle 15 °C:n lämpötilassa.

Avattuja QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan reagenssikasetteja voidaan säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C) enintään 4 viikkoa, mikä mahdollistaa reagenssien kustannustehokkaan uudelleenkäytön ja joustavamman näytteen käsittelyn, kun kasetit suljetaan hyvin käytön jälkeen. Jos reagenssikasetti on osittain käytetty, aseta magneettiset hiukkaset sisältävän kourun kansi takaisin ja tiivistä reagenssikasetti sarjaan kuuluvilla uudelleenkäytettävillä tiivisteliuskoilla välittömästi protokolla-ajon jälkeen välttääksesi haihtumista.

Reagenssin haihtuminen voidaan välttää avaamalla reagenssikasetti enintään 15 tunniksi (mukaan lukien ajoaika) ympäristön enimmäislämpötilassa 32 °C. Sarjan osien virheellinen säilytys voi aiheuttaa puskurien nopeamman vanhenemisen.

Erien ajaminen pienillä näytemäärillä (<24) suurentaa sekä aikaa, jonka reagenssikasetti on auki, että tarvittavaa puskurin määrää, mikä mahdollisesti pienentää kasettia kohden tehtävien näytepreparaattien kokonaismäärää.

Reagenssikasettien altistumista UV-valolle (esim. dekontaminaatiossa käytettävälle) on vältettävä, koska altistus voi saada reagenssikasetit ja puskurit vanhenemaan nopeammin.

Kaikki kaikkien osien pakkauksiin ja etiketteihin painetut viimeistä käyttöpäivämäärää ja säilytystä koskevat ohjeet on huomioitava. Älä käytä vanhentuneita tai virheellisesti säilytettyjä komponentteja.

Näytteiden ottaminen ja valmisteleminen

Puhdistustoimenpide on optimoitu PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin kerätystä verestä johdetun plasman käyttöä varten. Lisätietoa veren keräämisestä, näiden putkien käsittelystä ja plasman valmistelusta on PAXgene Blood ccfDNA Tube -putken käyttöohjeissa, jotka ovat luettavissa tuotesivujen Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa www.qiagen.com ja Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa www.PreAnalytiX.com.

Plasman valmistelussa voi käyttää (A) vakiotyypistä kaksoissentrifugointiprotokollaa tai (B) ensisijaisten putkien käsittelyä: kertasentrifugoitujen PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkien suoraa käsittelyä QIASymphony SP -laitteessa.

A) Plasman valmistelu verestä vakioprotokollia varten

1. Sentrifugoi PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkea huoneenlämmössä (15–25 °C) 15 minuuttia nopeudella 1 600 – 3 000 × g (ensimmäinen sentrifugointi) tasapainotetussa kääntyväkoteloisessa sentrifugissa. Jos jarrutusta halutaan käyttää, sen täytyy olla validoitu kyseiselle työnkululle ja voimakkuudeltaan mielellään keskitasoinen.
Huomautus: jos näytteitä on säilytetty jääkaapissa ennen sentrifugointia, parhaan tuloksen saat, kun sekoitat näytteen uudelleen kääntelemällä sitä kolme kertaa ja annat putkien palautua huoneenlämpöön ennen käsittelyä.
2. Pipetoi plasma 15 ml:n kartiopohjaiseen sentrifugiputkeen (ei sisällä pakkaukseen) sekoittamatta tumallista solufraktiota.
3. Sentrifugoi 15 ml:n kartiopohjaista sentrifugiputkea huoneenlämmössä (15–25 °C) 10 minuuttia nopeudella 1 600 – 3 000 × g (toinen sentrifugointi) tasapainotetussa sentrifugissa.

Huomautus: toissijaisen putken valmistajan suosittelemaa sentrifugoinnin enimmäisnopeutta ei saa ylittää.

4. Pipetoi tarvittava plasmamäärä (katso kohta Näytemäärä sivulla 20) 14 ml:n pyöreäpohjaiseen 17 × 100 mm:n polystyreeniputkeen sekoittamatta mahdollisesti jäljellä olevaa verisolupellettiä.
5. Siirrä plasmanäytteen sisältävä pyöreäpohjainen putki putkitelineeseen ja aseta putkiteline QIASymphony SP -laitteen näytteidensyöttölokeroon.

Huomautus: suurimman mahdollisen ccfDNA-tuoton saat käsittelemällä mahdollisimman paljon plasmaa.

Huomautus: Vaahdon muodostuminen plasmanäytteisiin tai niiden pinnalle pipetoinnin aikana on estettävä. Jos näytteessä on vaahtoa tai ilmakuplia, saatetaan pipetoida väärä määrä näytettä.

Huomautus: Kun plasma on siirretty toissijaiseen putkeen, ccfDNA on vakaata plasmassa lämpötilassa 15–25 °C enintään kolme (3) vuorokautta tai lämpötilassa 2–8 °C enintään seitsemän (7) vuorokautta. Pidempää säilytystä varten suositellaan pakastamista alikvooteissa -20 °C:n tai -80 °C:n lämpötilassa.

Huomautus: aiemmin varastoituja (esim. 2–8 °C:ssa tai pakastettuina -20 °C:ssa tai -80 °C:ssa säilytettyjä) plasmanäytteitä käytettäessä näytteiden täytyy antaa tasaantua huoneenlämpöön (15–25 °C) ennen ajon aloittamista; katso pakastettuja näytteitä koskevat ohjeet kohdasta C) PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkesta käsiteltyjen plasmanäytteiden pakastaminen ja sulattaminen.

B) Plasman valmistelu verestä ensisijaisten putkien QIASymphony SP -laitteessa käsittelyä varten

1. Sentrifugoi PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkea huoneenlämmössä (15-25 °C) 15 minuuttia nopeudella 3 000 × g tasapainotetussa kääntyväkoteloisessa sentrifugissa. Jos jarrutusta halutaan käyttää, sen täytyy olla validoitu kyseiselle työkululle ja voimakkuudeltaan mielellään keskitasoinen.

Huomautus: jos näytteitä on säilytetty jääkaapissa ennen sentrifugointia, parhaan tuloksen saat, kun sekoitat näytteen uudelleen kääntelemällä sitä kolme kertaa ja annat putkien palautua huoneenlämpöön ennen käsittelyä.

2. Kvantifioi kunkin putken plasmamäärä sentrifugikotelosta poistamisen jälkeen sarjaan sisältyvällä PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalulla (kuva 3). Kun putki poistetaan sentrifugista, työkalun turkoosinvärinen nuoli kohdistetaan plasman ja solujen rajalle. Siniset viivat osoittavat, onko plasman taso riittävä ensisijaisten putkien 2,4 tai 4,0 ml:n käsittelyprotokollalle. Plasmapylvään korkeuden on oltava vähintään 2,3 cm 2,4 ml:n protokollaa varten ja vähintään 3,4 cm 4,0 ml:n protokollaa varten.

Huomautus: jos plasma ja solufraktio eivät ole erottuneet selkeästi tai faasit sekoittuivat vahingossa sentrifugista poiston aikana, sentrifugointi on toistettava.

Huomautus: tarkista, että erottelu on selkeä, ennen kuin asetat putken laitteeseen.

3. Poista Hemogard Closure Cap -tulpat PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkista, ennen kuin asetat ne QIASymphony SP -laitteeseen suoraa ccfDNA:n eristystä varten.

Huomautus: Putken sulkimen poistaminen ja avointen putkien käsittely on tehtävä varovasti näytteen roiskumisen, putkien välisen ristikontaminaation ja verelle altistumisen riskin pienentämiseksi.

4. Aseta avatut, riittävästi plasmaa sisältävät PAXgene Blood ccfDNA Tube -putket putkitelineeseen ja aseta putkiteline QIASymphony SP -laitteen näytteidensyöttölokeroon.

C) PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkesta käsiteltyjen plasmanäytteiden pakastaminen ja sulattaminen

1. Siirrä plasma pakastamista varten soveltuviin putkiin (esim. kryoputkiin), jotka on asetettu sopivaan telineeseen.
2. Pakasta ja säilytä plasma $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa. Pakasta plasmanäytteet alle $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa säilyttämistä varten ensin $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa vähintään 24 tunnin ajan ja siirrä ne sitten $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilaan.

3. Sulata plasma huoneenlämpötilassa ($15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Huomautus: älä sulata matalissa lämpötiloissa (esim. $4\text{ }^{\circ}\text{C}$).

4. Jos plasmaan muodostuu kryosaostumia, vorteksoi putkea 30 sekuntia sulattamisen jälkeen ja käytä näyte QIASymphony SP -laitteen ccfDNA-eritystoimenpiteeseen ilman lisäkäsittelyä.

Huomautus: plasmata ei ole suositeltavaa sentrifugoida kryosaostumien poistamista varten, sillä ne voivat sisältää ccfDNA:ta.

Huomautus: kryosaostumien muodostumista voidaan välttää sulattamalla plasmata $30\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa 30 minuutin ajan huoneenlämpötilan sijaan.

Menetelmä

Yleistä: ccfDNA:n automaattinen puhdistus QIASymphony SP -laitteella

QIASymphony SP -laite tekee automaattisesta näytteen valmistelusta helppoa ja kätevää. Näytteet, reagenssit ja kulutustarvikkeet sekä eluaatit on eroteltu eri lokeroihin. Aseta vain näytteet, erikoiskaseteissa olevat reagenssit ja telineisiin asetetut kulutustarvikkeet asianomaiseen lokeroon ennen ajoa. Käynnistä protokolla ja poista puhdistettu ccfDNA "Eluate" (Eluaatti) -lokerosta käsittelyn jälkeen. Katso käyttöohjeet laitteen mukana toimitetuista käyttöoppaista.

Huomautus: valinnainen ylläpito ei ole välttämätöntä instrumentin toiminnan kannalta, mutta se on erittäin suositeltavaa kontaminaatoriskin vähentämiseksi.

Näytemäärä

Jotta tavallisessa työnkulussa voidaan varmistaa, että laite siirtää 2,4 ml (PAXcircDNA_2400-protokolla) tai 4,8 ml näytettä (PAXcircDNA_4800-protokolla), tarvitaan vastaavasti 0,4 ja 0,5 ml:n tyhjät tilavuudet eli näytettä on syötettävä vähintään 2,8 tai 5,3 ml käytettävän protokollan mukaan. Jos saatavilla olevan plasman määrä on alle 2,8 tai 5,3 ml, protokollaan integroitu **Less Sample mode** (Pienen näytemäärän tila) -toiminto sallii lueteltuja pienempien plasmamäärien siirtämisen. Tässä tapauksessa laite siirtää vähemmän näytettä. Pipetoidun plasmamäärän ero kirjautuu tulostiedostoon. Lisäksi tällaiset näytteet merkitään **epäselviksi** (virhekoodi 140043, **Enable Less Sample** [Ota pienen näytemäärän tila käyttöön]). Pienimmät mahdolliset syötettävät plasmamäärät **Less Sample mode** (Pienen näytemäärän tila) -asetuksella ovat 1,6 ja 4,1 ml. Jos näytemäärä on pienempi, näytteitä ei käsitellä ja ne merkitään **epäkelvoiksi**. Ensisijaisten putkien käsittelytyönkulussa oikea näytemäärä varmistetaan sarjaan sisältyvällä PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool -valintatyökalulla (josta kerrotaan kohdassa Näyttemateriaalin valmistelu sivulla 24).

Reagenssikasettien lisääminen ”Reagents and Consumables” (Reagenssit ja tarvikkeet)-lokeroon

ccfDNA:n puhdistuksessa käytettävät reagenssit sisältyvät innovatiiviseen reagenssikasettiin (Reagent Cartridge, RC) (kuva 3). Reagenssikasetin jokainen ura sisältää tiettyä reagenssia, kuten magneettisia hiukkasia, sidospuskuria, pesupuskuria tai eluutiopuskuria. Osittain käytetyt reagenssikasetit voi sulkea uudelleen uudelleenkäytettävillä tiivisteliuskooilla myöhempää käyttöä varten, jolloin vältetään jätteen syntyminen puhdistustoimenpiteestä jääneistä reagensseista.



Kuva 3. QIAAsymphony-reagenssikasetti (Reagent Cartridge, RC). Reagenssikasetti sisältää kaikki protokolla-ajossa tarvittavat reagenssit.

Varmista ennen toimenpiteen aloittamista, että magneettiset hiukkaset ovat suspendoituneet täysin. Poista magneettisten hiukkasten ura reagenssikasetin kehiksestä, käytä sitä vortex-laitteessa voimakkaasti vähintään 3 minuuttia ja aseta se takaisin reagenssikasetin kehikseen ennen ensimmäistä käyttökertaa.

Huomaus: Magneettiset hiukkaset voivat vaihtaa väriä. Sillä ei ole vaikutusta suorituskykyyn.

Aseta reagenssikasetti reagenssikasetin pidikkeeseen. Ennen kuin käytät reagenssikasettia ensimmäistä kertaa, aseta puhkaisukansi reagenssikasetin päälle (kuva 3).

Huomautus: Puhkaisukansi on terävä. Ole varovainen, kun asetat sen reagenssikasetin päälle. Muista asettaa puhkaisukansi reagenssikasetin päälle oikeassa suunnassa.

Kun magneettisten hiukkasten uran suojus on poistettu, reagenssikasetti ladataan "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokeroon.

Osittain käytettyjä reagenssikasetteja voidaan säilyttää, kunnes niitä tarvitaan jälleen (katso Reagenssien säilytys ja käsittely sivulla 14).

Huomautus: Proteinaasi K:ta on lisättävä (katso Ennen kuin aloitat sivulla 26).

Huomautus: varmista, että reagenssikasetit, magneettisten hiukkasten urat ja Proteinase K -pullot eivät vaihdu eri sarjaerien välillä.

Muovitarvikkeiden lisääminen "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokeroon

Näytteenvalmisteluketit, 8-Rod Covers -suojuukset (molemmat valmiiksi asetettu telineeseen yksikkölaatikoihin) ja kertakäyttöiset suodatinkärjet (200 µl:n kärjet sinisissä telineissä, 1500 µl:n kärjet mustissa telineissä) on asetettu "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokeroon.

Huomautus: varmista, että yksikkölaatikkojen kannet poistetaan ennen niiden asettamista Reagents and Consumables (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokeroon.

Huomautus: kärjissä on ristikontaminaatiota estävät suodatintimet.

QIASymphony SP -laitteen työpöydällä olevat kärkilinepaikat voidaan täyttää kumman tahansa tyyppisellä kärkilineellä. QIASymphony SP -laite tunnistaa inventaarioskannauksen aikana ladattujen kärkien tyyppin.

Huomautus: Älä täytä näytteenvalmistelukasettien tai 8-Rod Covers -suojusten kärkilineitä tai yksikkölaatikkoja uudelleen ennen toisen protokolla-ajon aloittamista. QIASymphony SP -laite voi käyttää osittain käytettyjä kärkilineitä ja yksikköpakkauksia.

Muovitarvikkeiden tilaustiedot ovat sivulla 39.

Waste (Jäte)-lokeron täyttäminen

Ajon aikana käytetyt näytteenvalmistelukasetit ja 8-Rod Covers asetetaan uudelleen telineeseen tyhjiissä yksikkölaatikoissa "Waste" (Jäte) -lokerossa. Varmista, että Waste (Jäte)-lokero sisältää riittävästi tyhjiä yksikkölaatikoita protokolla-ajon aikana syntyvälle muovijätteelle.

Huomautus: Varmista, että yksikkölaatikkojen suojat poistetaan ennen niiden asettamista Waste (Jäte)-lokeroon. Jos keräät käytetyt näytteenvalmistelukasetit ja 8-Rod Covers -suojuukset 8-Rod Covers -suojusten laatikkoihin, varmista, että laatikon välystin on poistettu.

Käytettyjen suodatinkärkien pussi on kiinnitettävä "Waste" (Jäte) -lokeron etupuolelle.

Huomautus: Järjestelmä ei tarkista kärkien hävityspussin läsnäoloa. Varmista, että kärkien hävityspussi on asianmukaisesti kiinnitetty, ennen kuin käynnistät protokolla-ajon. Lisätietoa on laitteen mukana tulleissa käyttöoppaissa. Tyhjennä kärkipussi enintään 96 näytteen käsittelyn jälkeen, jotta kärjet eivät jää sinne jumiin.

Jätesäiliö kerää puhdistustoimenpiteen aikana syntyneen nestemäisen jätteen. Waste (Jäte) -lokero voidaan sulkea vain, jos jätesäiliö on paikoillaan. Hävitä nestemäinen jäte paikallisten turvallisuus- ja ympäristömääräysten mukaisesti. Älä puhdista täynnä olevaa jätetulppaa autoklaavissa. Tyhjennä jätetulppa enintään 96 näytteen käsittelyn jälkeen.

Eluate (Eluaatti)-lokeron täyttäminen

Lataa tarvittava eluutioline Eluate (Eluaatti) -lokeroon. Koska eluaattien pitkäkestoinen säilytys "Eluate" (Eluaatti) -lokerossa voi johtaa haihtumiseen tai kondenssaatioon, on käytettävä jäähdytyspaikkaa. Käytä vain aukkoa Elution slot 1 (Eluutioaukko 1) ja vastaavaa jäähdytyssovitinta.

Valittu eluutiotilavuus (µl)*	Alkuperäinen eluutiotilavuus (µl)†
60	75

* Tämä on käytettävissä olevan eluaatin vähimmäistilavuus lopullisessa eluutioputkessa QIAGEN EMT -telineessä (tuotenro 19588) ja 1,5 ml:n Sarstedt-kierrekorkkiputkissa (tuotenro 72.607). Yksittäisissä tapauksissa lopullinen eluutiotilavuus yksittäisillä näytteillä voi olla korkeintaan 5 µl vähemmän.

† Vaadittava alkuperäinen eluutiopuskurin tilavuus, jotta voidaan varmistaa, että todellinen eluutiotilavuus on sama kuin yllä valittu tilavuus.

Inventaarioskannaus

Ennen ajon aloittamista laite tarkistaa, että jonossa olevia eriä varten on asetettu riittävä määrä kulutustarvikkeita tarvittaviin lokeroihin.

Näyttemateriaalin valmistelu

Katso Näytteiden ottaminen ja valmisteleminen, sivu 16.

ccfDNA:n säilytys

Näytteen valmistelun jälkeen ccfDNA-eluaatteja voidaan säilyttää -20 tai -80 °C:ssa. Pakastettuja eluaatteja ei saa sulattaa enempää kuin kolme kertaa. Ajantasaisimmat tiedot ccfDNA:n stabiiliudesta eluaateissa saat tuotesivulta osoitteesta www.qiagen.com tai www.PreAnalytiX.com.

Protokollan yhteenveto

Taulukko 1. Protokollan yhteenveto

Näyte	PAXgene Blood ccfDNA Tube -putken käsittely	Syötettävä näytemäärä (tyhjä tilavuus mukaan lukien) (ml)	ccfDNA:n eristykseen käytettävä näytemäärä (ml)	Eluutiotilavuus (µl)	QIASymphony SP -laitteen protokolla	
PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin kerätystä ihmisen laskimokokoverestä saatu plasma	2 x sentrifugointi, plasman siirto toissijaiseen putkeen	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400	
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800	
	1 x sentrifugointi, suora käsittely QIASymphony SP -laitteessa	Valintatyökalun mukaan	2,4	60	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Tärkeitä huomioita ennen kuin aloitat

- Kemikaalien ja biologisten näytteiden kanssa työskennellessä on aina käytettävä laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja saat asianmukaisista käyttöturvatiedotteista.
- Varmista, että tunnet QIASymphony SP -laitteen käyttötavan. Katso käyttöohjeet laitteen mukana toimitetuista käyttöoppaista.

Huomautus: IVD-käyttöön tarvittu ohjelmistokokoonpano on **Default Profile 1**.

- Lue ennen toimenpiteen aloittamista kohta Testin periaatteet.
- Varmista, että tunnet protokollalomakkeen ja laboratoriotarvikeluettelon (saatavilla tuotesivujen Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa www.qiagen.com ja Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa www.PreAnalytiX.com).
- Vältä reagenssikasetin voimakasta ravistelua, sillä se voi johtaa vaahtoutumiseen, joka saattaa vaikeuttaa nestetason havaitsemista.

- Veri on kerättävä PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin (CE-IVD; PreAnalytiX, tuotenro 768165). Veren keräämistä ja käsittelyä sekä plasman käsittelyä koskevat ohjeet ovat käyttöohjeissa, jotka ovat saatavilla tuotesivujen **Product Resources** (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa www.qiagen.com tai Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa www.PreAnalytiX.com.

Ennen kuin aloitat

- Varmista ennen toimenpiteen aloittamista, että magneettiset hiukkaset ovat suspendoituneet täysin. Käytä magneettisia hiukkasia sisältävää uraa voimakkaasti vortex-laitteessa vähintään 3 minuutin ajan ennen ensimmäistä käyttökertaa.
- Varmista, että reagenssikasetin päälle on asetettu puhkaisukansi ja että magneettisten hiukkasten uran kansi on poistettu, tai, jos reagenssikasetti on osittain käytetty, varmista, että uudelleenkäytettävät tiivisteliuskat on poistettu.
- Proteinase K ei sisälly reagenssikasettiin, vaan käyttäjän on lisättävä se (näytelokero, aukko A, paikat 1 ja/ tai 2). Varmista, että käytettävissä on oikea Proteinase K -määrä.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja sisältää käyttövalmiin Proteinase K -liuoksen. Proteinase K -liuosta voi säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C). Pidempää säilytystä varten Proteinase K -liuosta sisältävät entsyymipullot suositellaan pitämään 2–8 °C:n lämpötilassa.

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

* Jokaista näytettä kohden tarvitaan 110 µl (2 400 µl plasmatai 220 µl (4 800 / 4 000 µl plasmatai) ja lisäksi 1 100 µl:n tyhjä tilavuus [(n × 110 tai 220 µl) + 1 100 µl].

[†] Jos tarvitaan yli 11 660 µl näytettä, käytä toissijaista putkea (Corning, tuotenro 352051). Myös toiseen putkeen tarvitaan 1 100 µl:n tyhjä tilavuus.

Huomautus: Proteinase K:ta sisältävät putket asetetaan putkitelineeseen. Proteinase K:ta sisältävä putkiteline on asetettava Sample (Näyte)-lokeron aukon A paikkoihin 1 ja 2. Suosittelemme käyttämään Proteinase K -liuokselle 14 ml:n pyöreäpohjaisia 17 × 100 mm:n polystyreeniputkia (Corning, tuotenro 352051).

- Jos näytteet on viivakoodattu, suuntaa näytteet putkitelineessä siten, että viivakoodit ovat kohti QIASymphony SP -laitteen vasemmalla puolella olevaa viivakoodinlukijaa.
- Tietoa näyteputkista ja protokollien kanssa yhteensopivista miniminäytemääristä on vastaavassa laboratoriotarvikeluettelossa, joka on saatavilla tuotesivujen Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa www.qiagen.com ja Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa www.PreAnalytiX.com.

Protokolla: ccfDNA:n automaattinen puhdistus QIASymphony SP -laitteella

Tarkempia tietoja kustakin protokollasta, mukaan lukien määrät ja putket, on protokollalomakkeessa ja laboratoriotarvikeluettelossa, jotka ovat saatavilla tuotesivujen Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa www.qiagen.com ja Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa www.PreAnalytiX.com. Lisätietoa näytemateriaalin (PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkeen kerätystä ihmisen laskimokokoverestä saatu plasma) valmistelusta on tämän käsikirjan kohdissa Näytteiden ottaminen ja valmistelemine ja Näytemateriaalin valmistelu sekä putken käyttöohjeissa, jotka ovat saatavilla tuotesivun **Product Resources** (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa www.qiagen.com tai Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa www.PreAnalytiX.com.

1. Sulje kaikki lokerot ja kuomu.
2. Käynnistä QIASymphony SP -laite ja odota, kunnes Sample Preparation (Näytteen valmistelu) -näyttö tulee näkyviin ja alustusprosessi on päättynyt.
3. Virtakytkin sijaitsee QIASymphony SP -laitteen vasemmassa alareunassa.
4. Kirjautu sisään instrumenttiin.

Lataa tarvittava eluutioline "Eluate" (Eluaatti) -lokeroon.

Älä lataa 96-kuoppalevyä aukkoon Elution slot 4 (Eluutioaukko 4). Aukkoa Elution slot 1 (Eluutioaukko 1) ja vastaavaa jäähdytyssovitinta on käytettävä.

Kun käytät 96-kuoppaista levyä, varmista, että levyn suunta on oikea, koska virheellinen suunta voi aiheuttaa näytteiden sekaantumista myöhemmässä analysissä.

Kun käytät Elution Microtubes CL -telinettä, poista pohja vääntämällä telinettä, kunnes pohja irtoaa.

5. Varmista, että Waste (Jäte) -lokero on valmisteltu asianmukaisesti, ja tutki sen sisältö, mukaan lukien kärkikouru ja nestemäisen jätteen säiliö. Vaihda kärkien jättepussi tarvittaessa.
6. Lataa vaadittavat reagenssikasetit ja kulutustarvikkeet "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja kulutustarvikkeet) -lokeroon.
7. Tee inventaarioskannaus "Reagents and Consumables" (Reagenssit ja kulutustarvikkeet) -lokerosta.
8. Aseta näytteet asianomaiseen näytetelineeseen ja aseta ne "Sample" (Näyte) -lokeroon.

Huomautus: Tavanomaisen käsittelyn lisäksi, mukaan lukien plasman siirto soveltuvaan toissijaiseen putkeen (14 ml:n pyöreäpohjainen Falcon®-polystyreeniputki 17 × 100 mm), joka asetetaan soveltuvaan näyteputkitelineeseen, PAXgene Blood ccfDNA Tube -putken ensisijaisten putkien käsittelyn työnkulku mahdollistaa ccfDNA:n eristämisen suoraan PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkesta (10 ml:n PAXgene Blood ccfDNA Tube, 16 × 100 mm). Lisätietoa ensisijaisesta putken käsittelystä on protokollalomakkeessa, laboratoriotarvikeluettelossa ja putken käyttöohjeissa, jotka ovat saatavilla tuotesivun Product Resources (Lisämateriaalit) -välilehdessä osoitteessa www.qiagen.com tai Resources (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa **www.PreAnalytiX.com**.

9. Käytä kosketusnäyttöä ja kirjoita tarvittavat tiedot jokaisesta käsiteltävästä näyte-erästä ja Proteinase K:sta.

Anna seuraavat tiedot:

- Näytetiedot (käytettävän näytetelineen mukaan valitse BD #352051 FalconPP 17 × 100 tai BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100)
- Ajettava protokolla (Assay Control Set [Määrityksen kontrollijoukko])
- Eluutiolavuus ja ulostulosijainti

Kun erän tiedot on syötetty, tila LOADED (LADATTU) muuttuu tilaksi QUEUED (JONOSSA). Heti kun jokin erä on jonossa, Run (Aja) -painike tulee näkyviin.

10. Aseta proteinaasi K asianmukaisen näyteputkitelineen paikkoihin 1 ja 2 ja lataa ne "Sample" (Näyte)-lokeron aukkoon A.
11. Määritä Proteinase K painamalla **IC**-painiketta.
12. Aloita puhdistusprosessi painamalla Run (Aja)-painiketta. Kaikki käsittelyvaiheet ovat täysin automaattisia. Protokolla-ajon lopuksi erän tila RUNNING (AJO KESKEN) muuttuu tilaksi COMPLETED (VALMIS).
13. Ota puhdistetun ccfDNA:n sisältävä eluutioteline "Eluate" (Eluaatti)-lokerosta. Vahvista eluaatiotelineen poisto QIASymphony SP -laitteen ohjelmistolla.
14. ccfDNA on valmis käytettäväksi tai varastoitavaksi $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$:n tai $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa enintään 6 kuukauden ajan. QIAGEN suosittelee eluaattilevyn poistamista "Eluate" (Eluaatti)-lokerosta heti ajon päättymisen jälkeen. Jos eluutiolevyt jätetään QIASymphony SP -laitteeseen ajon päätyttyä, niihin saattaa tiivistyä kosteutta tai niistä saattaa haihtua kosteutta.

Huomautus: QIASymphony SP -laitteen jäähdytystoiminnon käyttäminen yön yli tehtävissä ajoissa on mahdollista.

Magneettiset hiukkaset eivät yleensä kulkeudu eluaatteihin. Jos siirtymistä tapahtuu, eluaateissa olevat magneettiset hiukkaset eivät vaikuta useimpiin myöhempisiin sovelluksiin.

Jos magneettisia hiukkasia on poistettava ennen myöhempiä sovelluksia, eluaatit sisältävät putket tai levyt on ensin asetettava sopivaan magneettiin ja eluaatit siirrettävä puhtaaseen putkeen (katso Liite: ccfDNA:n kvantifiointi). Jokaiselle eluutiolevylle generoituu tulostiedostot.

15. Jos reagenssikasetti on käytetty vain osittain, tiivistä se uudelleenkäytettävillä tiivisteliuskoilla protokollan päätyttyä, jotta kasetista ei haihtuisi nestettä.

Huomautus: Lisätietoa osittain käytetyistä reagenssikaseteista on kohdassa Reagenssien säilytys ja käsittely.

16. Hävitä käytetyt näyteputket ja jäte paikallisten turvallisuussäädösten mukaan. Katso turvallisuustiedot kohdasta Varoitukset ja varotoimet.

17. Puhdista QIASymphony SP -laite.

Nouda instrumentin mukana toimitettujen käyttöoppaiden huolto-ohjeita. Muista puhdistaa kärkien suojukset säännöllisesti ristikontaminaation välttämiseksi.

18. Sulje laitteen lokerot ja katkaise QIASymphony SP -laitteesta virta.

Laadunvalvonta

QIAGENin ISO-sertifioidun laadunhallintajärjestelmän mukaisesti jokainen QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan erä testataan määritettyjen spesifikaatioiden mukaisesti tuotteiden yhdenmukaisen laadun takaamiseksi.

Rajoitukset

Järjestelmän suorituskyky on määritetty suorituskykyä arvioivissa tutkimuksissa, joissa puhdistettiin PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkiin kerätystä ihmisen laskimokokoverestä johdetun plasman ccfDNA:ta.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan suorituskykyominaisuudet on määritetty 18S-ribosomaalisilla ja DYS14 Y-kromosomaalisilla ccfDNA:n fragmenteilla plasmassa.

Käyttäjän vastuulla on varmistaa järjestelmän suorituskyky kaikissa niissä laboratoriossa käytetyissä menetelmissä, joita QIAGENin ja PreAnalytiXin tekemät suorituskyvyn arviointitutkimukset eivät kata.

Jotta voidaan minimoida diagnostisiin tuloksiin kohdistuvan negatiivisen vaikutuksen riski, myöhemmissä käyttötarkoituksissa on hyödynnettävä riittävää laaduntarkkailua. Saatujen diagnostisten tulosten tulkinnassa on otettava huomioon myös muut kliiniset löydökset tai laboratoriolöydökset.

Vianmääritysopas

Tämä vianmääritysopas voi auttaa mahdollisissa esiin tulevissa ongelmissa. Yhteystiedot ja luettelo usein kysytyistä kysymyksistä ovat tuotesivuilla osoitteessa www.PreAnalytiX.com ja www.qiagen.com.

Huomautuksia ja ehdotuksia	
Yleinen käsittely	
a) Näytössä näkyvä virheilmoitus	Jos näytössä näkyy virheilmoitus protokollan aikana, katso lisätietoja laitteen mukana toimitetuista käyttöoppaista.
b) Vaihteleva eluaattimäärä yön yli tehtävien ajojen jälkeen	Tuotantotehon optimoimiseksi QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarja tukee näytteiden käsittelyä yön yli jäähdyttämällä eluaattimäärät voivat vaihdella laboratorion lämpötilan ja ilmankosteuden mukaan. Esimerkiksi jos valittu määrä oli 60 µl 15–25 °C:n lämpötilassa ja 30–60 %:n ilmankosteudessa, määrä voi olla 50–85 µl, kun sitä on säilytetty laitteessa 12 tuntia.
Kryosaostumia plasmanäytteiden sulattamisen jälkeen	
a) Kryosaostumia muodostuu plasmassa	kryosaostumien muodostumista voidaan välttää sulattamalla plasmaa 30 °C:ssa 30 minuutin ajan huoneenlämpötilan sijaan. Älä sulata matalammissa lämpötiloissa (esim. 4 °C). Vorteksoi putkea 30 sekuntia sulattamisen jälkeen
b) Pieni ccfDNA:n tuotto plasmasta kryosaostumien poistamisen jälkeen	Älä sentrifugoi plasmaa kryosaostumien poistamiseksi, sillä ne voivat sisältää ccfDNA:ta.
PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkien riittämätön plasmamäärä	
a) Alle 10 ml verta otettu PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkeen	Varmista, että PAXgene Blood ccfDNA Tube -putkeen kerätään 10 ml verta. Katso PAXgene Blood ccfDNA Tube -putken käyttöohjeet.
b) Suuri solufraktio	Suuri solufraktiotosa (hematokriitti) ihmisen kokoveressä (esim. yli 51 % miehellä tai 47 % naisella) voi johtaa pienentyneisiin plasmamääriin.
c) Pieni plasman tuotto sentrifugoinnin jälkeen	Määritettyä pidemmällä veren säilytys- ja kuljetusajalla ja määritetystä eroavilla sentrifugointiolosuhteilla voi olla vaikutusta plasman tuottoon.
Saostumat QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit -sarjan avatun reagenssikasetin (Reagent Cartridge, RC) urassa	
a) Puskurin haihtuminen	Liiallinen haihtuminen saattaa lisätä suolapitoisuutta puskureissa. Hävitä reagenssikasetti. Sulje osittain käytetyn reagenssikasetin puskuriurat uudelleenkäytettävillä tiivisteliuksilla, kun sitä ei käytetä puhdistukseen.

Huomautuksia ja ehdotuksia		
b)	Reagenssikasetin säilytys	Reagenssikasetin säilyttäminen alle 15 °C:n lämpötilassa saattaa johtaa saostuman muodostumiseen.
Pieni ccfDNA:n tuotto		
a)	Magneettiset hiukkaset eivät suspendoituneet uudelleen kokonaan	Varmista ennen toimenpiteen aloittamista, että magneettiset hiukkaset ovat suspendoituneet täysin. Käytä vortex-laitteessa vähintään 3 minuuttia ennen käyttöä. Epätäydellinen uudelleensuspendointi voi johtaa pipetointivirheisiin.
b)	Liukenematon materiaali on tukkinut pipettikärjen	Liukenematonta materiaalia ei poistettu näytteestä ennen QIAsymphony SP -laitteen puhdistusprosessin aloittamista.
c)	Näyttemateriaali sisältää pienen pitoisuuden ccfDNA:ta	Koska plasmanäytteissä on hyvin pieniä määriä ccfDNA:ta, ccfDNA-pitoisuuden mittaaminen voi olla haastavaa käytetystä kvantifointimenetelmästä riippuen. Herkän qPCR:n käyttöä suositellaan eluaattien ccfDNA-pitoisuuksien tarkistamiseen.
d)	Reagenssikasetin epätäydellinen uudelleensulkeminen	Vaihto ympäröivän ilman kanssa voi aiheuttaa puskureiden heikentynyttä stabiiliutta, mikä voi johtaa heikompaan ccfDNA:n eristämistehoon osittain käytetyllä reagenssikasetilla. Sulje osittain käytetyn reagenssikasetin puskuriurat huolellisesti uudelleenkäytettävillä tiivistelusuokilla, kun sitä ei käytetä puhdistukseen.
Heikko ccfDNA:n suorituskyky myöhemmissä käyttötarkoituksissa		
a)	Eluaatti väkevöity tyhjiösentrifugoinnilla	Älä väkevöi eluaattia tyhjiösentrifugoinnilla (esim. SpeedVac®-laitteella tai vastaavalla). Tämä voi johtaa heikentymiseen korkeiden lämpötilojen ja myöhempiä käyttötarkoituksia mahdollisesti häiritsevien eluaatin väkevöityneiden suolojen vuoksi.
b)	Helmien siirtyminen	Magneettiset hiukkaset eivät yleensä kulkeudu eluaatteihin. Jos siirtymistä tapahtuu, eluaateissa olevat magneettiset hiukkaset eivät vaikuta useimpiin myöhempiin sovelluksiin. Jos tietyissä myöhemmissä määrityksissä tarvitaan hyvin suuria määriä eluaatteja, eluaatit voidaan pyöräyttää ja siirtää puhtaaseen putkeen.













Huomautuksia ja ehdotuksia

Ei näytteen siirtoa tai epätäydellinen näytteen siirto

a) Väärä näytemäärä on ladattu vakioprotokollia varten	Jos ladataan määritettyä pienempi näytemäärä, näytteen epäselvän merkinnän tai näytteen siirtymättömyyden (virheellinen merkintä) riski kasvaa. Lataa vastaavassa protokollalomakkeessa ja laboratoriotarvikeluettelossa ilmoitettu oikea näytemäärä.
b) Kuplia ja/tai vaahtoa näyteputkessa	Kuplat tai vaahto näytteessä ja/tai syötetyssä putkessa voi johtaa virheelliseen nestetason havaitsemiseen ja epätäydelliseen näytteen siirtoon. Poista kuplat näyteputkesta.

Symbolit

Käyttöohjeessa tai pakkauksessa ja etiketeissä saattaa näkyä seuraavia symboleita. Muiden symbolien selitykset ovat kohdassa Sarjan sisältö (sivu 9).

Symboli	Selitys
	Sisältää reagensseja, jotka riittävät <N> testiin Ilmaisee IVD:llä tehtävien IVD-testien kokonaismäärän.
	Viimeinen käyttöpäivämäärä
	Diagnostinen lääketieteellinen in vitro -laite
	CE-merkki. Tämä tuote täyttää in vitro -diagnostisia lääkinnällisiä laitteita koskevan eurooppalaisen säännöksen 2017/746 vaatimukset.
	Tuotenumero
	Eränumero
	Materiaalinumero (ts. komponentin merkintä)
	Komponentit (ts. luettelo sisällöstä)
	Sisältö
	Määrä (esim. pullojen määrä)
	GTIN-numero
Rn	R tarkoittaa käyttöohjeen (käsikirja) versiota, ja n on versionumero
	Lämpötilarajoitus



Valmistaja



Katso käyttöohjeet



Huomio

PROTK

Proteinase K

WELL

Kuoppnumero (reagenssikasetin kuoppa)

REAG **CART**

Reagenssikasetti

Sodium azide

Natriumatsidi

EC **REP**

Valtuutettu edustaja Euroopassa asetuksen (EU) 2017/746 mukaisesti

Liite: ccfDNA:n kvantifiointi

Koska näytemateriaalit sisältävät hyvin pienen ccfDNA-pitoisuuden, DNA:n mittausta spektrofotometrillä ei suositella. ccfDNA-pitoisuuden määrittämiseen tulee käyttää herkkää ja tarkkaa fluoresenssipohjaista kvantitointimäärittystä tai real-time PCR -määrittystä.

Jos magneettisia hiukkasia on poistettava, aseta DNA:ta sisältävä putki sopivaan magneettiseen erottimeen (esim. QIAGEN 12-Tube Magnet, tuotenumero 36912), kunnes magneettiset hiukkaset on eroteltu.

Jos DNA on mikrolevyillä, aseta mikrolevy sopivaan magneettiseen erottimeen (esim. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, tuotenumero 36915), kunnes magneettiset hiukkaset on eroteltu. Jos sopivaa magneettista erottelulaitetta ei ole käytettävissä, käytä DNA:ta sisältävää putkea mikrosentrifugissa 1 minuutin ajan täydellä nopeudella, jotta magneettisista hiukkasista muodostuisi pelletti.

Tilaustiedot

Tuote	Sisältö	Tuotenumero
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Sisältää 2 reagenssikasettia, Proteinase K -putket ja lisävarusteet	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)(100)	100 putkea: 16 × 100 mm, 1,5 ml lisäainetta, 10 ml:n verinäytteen ottomäärä	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	QIASymphony-näytteenpreparointimoduuli, sisältää 1 vuoden takuun osien rikkoutumisen ja valmistusvirheiden varalle	9001297
Liittyvät QIAGEN-tuotteet		
Proteinase K (10 mL)	1 × 10 ml:n pullo	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	Reagenssikasetin pidike käytettäväksi QIASymphony SP -laitteen kanssa	997008
Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym	Jäähdytysadapteri 2 ml:n kierrekorkkiputkille. Käytettäväksi QIASymphony SP -laitteen "Eluate" (Eluaatti) -lokerossa	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Jäähdytysadapteri EMT-telineille. Käytettäväksi QIASymphony SP -laitteen "Eluate" (Eluaatti) -lokerossa	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Jäähdytysadapteri 1,5 ml:n Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock tubes -putkille. Käytettäväksi QIASymphony SP -laitteen "Eluate" (Eluaatti) -lokerossa	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8-kuoppaiset näytteenpreparointikasetit QIASymphony SP -laitteen kanssa käytettäväksi	997002

Tuote	Sisältö	Tuotenro
8-Rod Covers (144)	8-sauvasuojukset QIASymphony SP -laitteen kanssa käytettäväksi	997004
Filter-Tips, 200 µL (1024)	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, telineessä; (8 × 128). Käytettäväksi QIAcube®- ja QIASymphony SP/AS -laitteen kanssa	990332
Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024)	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, telineessä; (8 × 128). Käytettäväksi QIASymphony SP/AS -laitteen kanssa	997024
Tip Disposal Bags (15)	Kärkien hävityspussit QIASymphony SP -laitteen kanssa käytettäväksi	9013395
12-Tube Magnet	Magneetti magneettisten hiukkasten erottelemiseen 12 × 1,5 ml:n tai 2 ml:n putkissa	36912
96-Well Magnet Type A	Magneetti magneettisten hiukkasten erottelemiseen 96-kuoppalevyjen kuopista, 2 × 96-kuoppamikrolevyt FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Käytä tiivistesarjoja uudelleen osittain käytettyjen QIASymphony-reagenssikasettien sulkemiseen	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Epästeriilit polypropeeniputket (enimmäiskapasiteetti 0,85 ml, säilytyskapasiteetti vähemmän kuin 0,7 ml, eluutiokapasiteetti 0,4 ml); 2 304 kpl 96 kpl:n telineissä; sisältää korkkiliuskat	19588
Caps for Elution Microtubes (50 × 8)	Eluutiomikroputkien korkit (50 × 8)	19591
14 mL Falcon Tube	Pyöreäpohjainen polystyreeniputki 17 × 100 mm, käytetään QIASymphony SP -laitteen näyteputkena	Corning, 352051

Asiakirjan muutoshistoria

Versio	Kuvaus
R1, toukokuu 2021	Ensimmäinen versio
R2, toukokuu 2022	Poistettu "(CE-IVD)" joissakin tapauksissa. Päivitetty Sarjan sisältö -taulukko. Sisällytetty www.PreAnalytiX.com , mistä löytyy lisäresursseja. Tarkennettu "näytteet" "verinäytteiksi" Turvallisuustiedot-kohdassa. Vaihdettu "Hävitä näytteet ja määritys jäte" muotoon "Hävitä biovaaralliset materiaalit ja sarjan jäte" Turvallisuustiedot-kohdassa. Päivitetty kohdat "A) Plasman valmistelu verestä vakioprotokollia varten" ja "B) Plasman valmistelu verestä ensisijaisten putkien QIASymphony SP -laitteessa käsittelyä varten".
R3, Helmikuu 2023	PreAnalytiX GmbH:n osoite muutettu Feldbachstrassesta osoitteeseen Garstligweg 8. Varotoimet-osa päivitetty. Lisätty tiedot hätätilanteita varten Turvallisuustiedot-osioon. Korjattu proteinaasi K:n (100 ml) tuotenumero tilaustietoihin. Muotoilu- ja toimituksellisia muutoksia

Huomautukset

Huomautukset



Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista PreAnalytiX®- tai QIAGEN®-sarjojen käyttöoppaista tai käsikirjoista. PreAnalytiX- ja QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat ovat saatavina osoitteessa www.qiagen.com tai ne voi tilata QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Lisätietoja: www.PreAnalytiX.com

HB-2866-003 02/2023

