

Φεβρουάριος 2023

Οδηγίες χρήσης (Εγχειρίδιο) του QIASymphony[®] PAXgene[®] Blood ccfDNA Kit



192

Έκδοση 1



Για in vitro διαγνωστική χρήση



768566

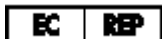


PreAnalytiX GmbH

Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Ελβετία



1130770EL

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
GERMANIA

PreAnalytiX Company

PreAnalytiX GmbH

8634 Hombrechtikon

Ελβετία

www.PreAnalytiX.com

Εμπορικά σήματα: 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 ή οι θυγατρικές της).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

1130770EL HB-2866-003

© 2023 PreAnalytiX GmbH. Εκτός εάν οριστεί διαφορετικά, η επωνυμία PreAnalytiX, το λογότυπο PreAnalytiX και όλα τα υπόλοιπα εμπορικά σήματα είναι ιδιοκτησία της PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

Σύμβαση περιορισμένης άδειας χρήσης για το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit

Η χρήση αυτού του προϊόντος ισοδυναμεί με την αποδοχή από πλευράς οποιουδήποτε αγοραστή ή χρήστη του QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit των εξής όρων:

1. Το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά και μόνο όπως ορίζεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν και όπως ορίζεται στο παρόν εγχειρίδιο και μόνο με τα εξαρτήματα που περιλαμβάνονται στο κιτ. Η PreAnalytiX® δεν παρέχει άδεια χρήσης υπό οποιαδήποτε πνευματική ιδιοκτησία της για τη χρήση ή ενσωμάτωση των παρεχόμενων συστατικών αυτού του κιτ σε οποιαδήποτε στοιχεία που δεν περιλαμβάνονται σε αυτό το κιτ, παρά μόνον όπως περιγράφεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν, στο παρόν εγχειρίδιο και στα συμπληρωματικά πρωτόκολλα που διατίθενται στον ιστότοπο www.qiagen.com και www.PreAnalytiX.com.
2. Με την εξαίρεση των ρητά αναφερόμενων αδειών, η PreAnalytiX δεν παρέχει καμία εγγύηση πως αυτό το κιτ ή/και η χρήση του δεν παραβιάζουν τα δικαιώματα τρίτων.
3. Αυτό το αναλώσιμο και τα συστατικά του παρέχονται με άδεια χρήσης για μία μόνο χρήση και δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση, η εκ νέου επεξεργασία ή η μεταπώλησή τους.
4. Η PreAnalytiX αποποιείται ειδικά οποιοσδήποτε άλλες άδειες, ρητές ή έμμεσες, εκτός από αυτές που αναφέρονται ρητά.
5. Ο αγοραστής και ο χρήστης του κιτ συμφωνούν να μην προβούν και να μην επιτρέψουν σε άλλο πρόσωπο να προβεί σε ενέργειες οι οποίες θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε ή να διευκολύνουν ενέργειες που απαγορεύονται σύμφωνα με τα προαναφερθέντα. Η PreAnalytiX διατηρεί το δικαίωμα να επιβάλει τις απαγορεύσεις της παρούσας σύμβασης περιορισμένης άδειας χρήσης σε οποιοδήποτε δικαστήριο και πρέπει να αποζημιωθεί για όλες τις ερευνητικές και δικαστικές δαπάνες της, συμπεριλαμβανομένων των δικηγορικών αμοιβών, στο πλαίσιο οποιασδήποτε ενέργειας για την επιβολή της παρούσας σύμβασης περιορισμένης άδειας χρήσης ή οποιοδήποτε εκ των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας της σχετικά με το κιτ ή/και τα συστατικά του.

Για τους ενημερωμένους όρους της άδειας, ανατρέξτε στον ιστότοπο www.qiagen.com και www.PreAnalytiX.com.

Διανομείς PreAnalytiX

Τα προϊόντα της PreAnalytiX κατασκευάζονται και διανέμονται από την QIAGEN και την BD για την PreAnalytiX.

Περιεχόμενα

Περιεχόμενα	3
Προβλεπόμενη χρήση	5
Προβλεπόμενος χρήστης	5
Περιγραφή και αρχή λειτουργίας.....	6
Σύνοψη και επεξήγηση.....	6
Αρχές της διαδικασίας	7
Υλικά που παρέχονται	9
Περιεχόμενα του κιτ.....	9
Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται	10
Εξοπλισμός	11
Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις.....	12
Πληροφορίες ασφάλειας.....	12
Προφυλάξεις.....	13
Αποθήκευση και χειρισμός αντιδραστηρίων	15
Συστατικά του κιτ.....	15
Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων	17
Διαδικασία	21
Επισκόπηση: Αυτόματος καθαρισμός ccfDNA στο όργανο QIAasymphony SP.....	21
Επισκόπηση προϊόντος.....	28
Πρωτόκολλο: Αυτόματος καθαρισμός ccfDNA στο όργανο QIAasymphony SP.....	32
Έλεγχος ποιότητας	36
Περιορισμοί	36

Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων.....	37
Σύμβολα	40
Παράρτημα: Ποσοτικός προσδιορισμός cfDNA	42
Πληροφορίες παραγγελιών.....	43
Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου	45

Προβλεπόμενη χρήση

Το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit, έχει σχεδιαστεί για χρήση με το όργανο QIASymphony SP, προορίζεται για αυτοματοποιημένη απομόνωση και καθαρισμό του ελεύθερου κυττάρων κυκλοφορούντος DNA (circulating cell-free DNA, ccfDNA) από πλάσμα που δημιουργήθηκε από ανθρώπινο φλεβικό ολικό αίμα που συλλέχθηκε σε σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube.

Το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit χρησιμοποιεί τεχνολογία μαγνητικών σωματιδίων για την αυτοματοποιημένη απομόνωση και τον καθαρισμό ccfDNA από ανθρώπινο πλάσμα.

Το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit προορίζεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση και χρήση από επαγγελματίες, όπως τεχνολόγοι και ιατροί εκπαιδευμένοι στις τεχνικές της μοριακής βιολογίας.

Προβλεπόμενος χρήστης

Το κιτ αυτό προορίζεται για επαγγελματική χρήση.

Το προϊόν θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνον από προσωπικό με ειδική κατάρτιση και εκπαίδευση σε τεχνικές μοριακής βιολογίας και εξοικειωμένο με την τεχνολογία αυτή.

Περιγραφή και αρχή λειτουργίας

Σύνοψη και επεξήγηση

Το ελεύθερο κυττάρων κυκλοφορούν DNA (circulating cell-free DNA, ccfDNA) εμφανίζεται στο πλάσμα συνήθως σε μορφή μικρών θραυσμάτων (<1.000 bp). Η συγκέντρωση ccfDNA στο πλάσμα είναι συνήθως χαμηλή (μπορεί να κυμαίνεται από 1 έως 100 ng/mL) και ποικίλει σημαντικά ανά άτομο. Το σωληνάριο PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube με σήμανση CE σε συνδυασμό με το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit αποτελεί μια τυποποιημένη ροή εργασίας για τη συλλογή, φύλαξη και μεταφορά αίματος, τη σταθεροποίηση DNA σε κλειστό σωληνάριο και την επακόλουθη απομόνωση και τον καθαρισμό ccfDNA από ανθρώπινο πλάσμα με χρήση του οργάνου QIAGEN® QIASymphony SP.

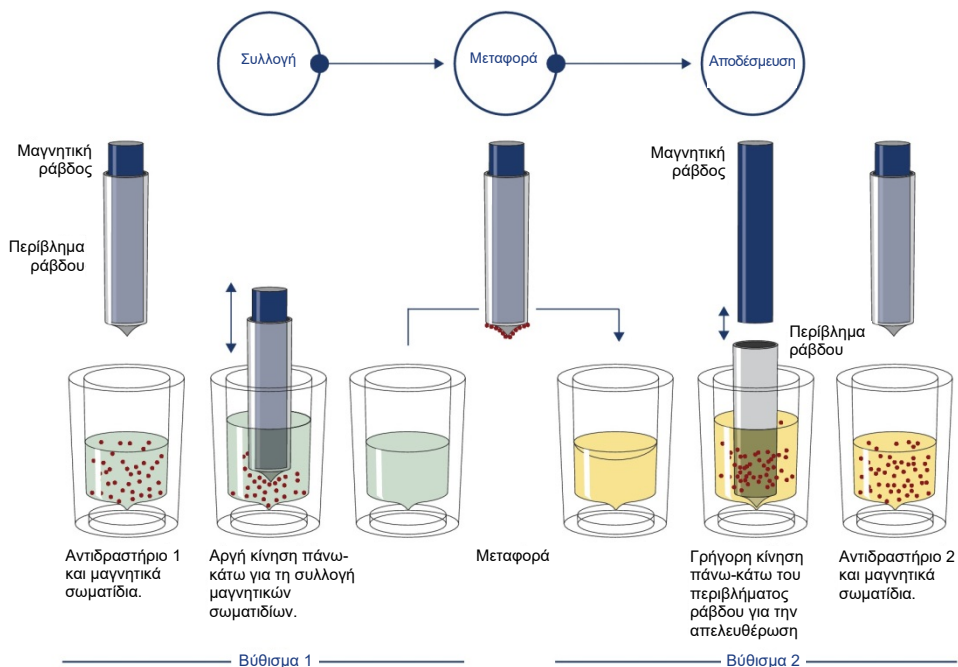
Τα πρωτόκολλα του οργάνου QIASymphony SP παρέχονται για την εκχύλιση ccfDNA από πλάσμα 2,4 και 4,8 mL που δημιουργείται από σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes με διπλή φυγοκέντριση. Το πλάσμα μεταφέρεται και υποβάλλεται σε επεξεργασία σε δευτερεύον σωληνάριο στο όργανο QIASymphony SP.

Εναλλακτικά, πρωτόκολλα χειρισμού κύριου σωληναρίου στο όργανο QIASymphony SP διατίθενται για όγκο εισαγωγής πλάσματος 2,4 και 4 mL. Σε αυτήν την περίπτωση, δεν υπάρχει ανάγκη διενέργειας του βήματος δεύτερης φυγοκέντρισης ή της μεταφοράς πλάσματος σε δευτερεύον σωληνάριο.

Η τεχνολογία μαγνητικών σωματιδίων του QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit παρέχει τη δυνατότητα καθαρισμού ccfDNA υψηλής ποιότητας που είναι ελεύθερο πρωτεϊνών, νουκλεασών και άλλων προσμειξεων. Το όργανο QIASymphony SP εκτελεί όλα τα βήματα της διαδικασίας καθαρισμού. Σε μία μόνο εκτέλεση υποβάλλονται σε επεξεργασία έως και 96 δείγματα, σε παρτίδες των 24. Για την απομόνωση γονιδιωματικού DNA (genomic DNA, gDNA) από το κλάσμα των εμπύρηνων κυττάρων που συλλέγεται σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes στο όργανο QIASymphony SP, ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του PAXgene Blood ccfDNA Tube (www.PreAnalytiX.com).

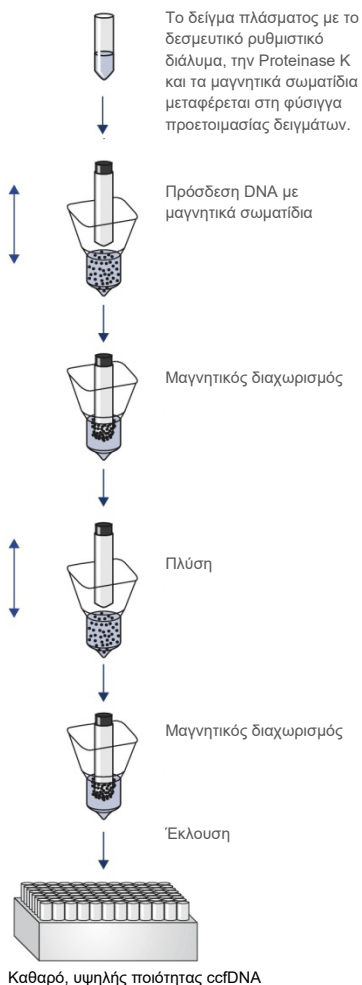
Αρχές της διαδικασίας

Η τεχνολογία του οργάνου QIASymphony SP συνδυάζει την ταχύτητα και την αποτελεσματικότητα του καθαρισμού νουκλεϊκών οξέων που βασίζεται σε ανταλλαγή ανιόντων με τον κατάλληλο χειρισμό μαγνητικών σωματιδίων (Εικόνα 1). Η διαδικασία καθαρισμού έχει σχεδιαστεί για να διασφαλίζει τον ασφαλή και αναπαραγώγιμο χειρισμό δυνητικά μολυσματικών δειγμάτων και αποτελείται από 3 βήματα: την πρόσδεση, την πλύση και την έκλυση (Εικόνα 2). Οι χρήστες μπορούν να επιλέξουν ανάμεσα σε διάφορους όγκους εισαγωγής δείγματος.



Εικόνα 1. Σχηματικό διάγραμμα της αρχής του οργάνου QIASymphony SP. Το όργανο QIASymphony SP επεξεργάζεται ένα δείγμα που περιέχει μαγνητικά σωματίδια ως εξής: μια μαγνητική ράβδος προστατευόμενη με ειδικό περίβλημα εισέρχεται σε βύθισμα που περιέχει το δείγμα και προσελκύει τα μαγνητικά σωματίδια. Το περίβλημα της μαγνητικής ράβδου τοποθετείται πάνω από ένα άλλο βύθισμα και τα μαγνητικά σωματίδια ελευθερώνονται. Τα βήματα επαναλαμβάνονται αρκετές φορές κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των δειγμάτων. Το όργανο QIASymphony SP χρησιμοποιεί μια μαγνητική κεφαλή που περιέχει μια συστοιχία 24 μαγνητικών ράβδων και μπορεί, επομένως, να επεξεργαστεί έως 24 δείγματα ταυτόχρονα.

QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



Εικόνα 2. Βήματα εκχύλισης ccfDNA με το QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit. Θραύσματα ccfDNA απομονώνονται από πλάσμα που δημιουργείται από ανθρώπινο φλεβικό ολικό αίμα που συλλέγεται σε σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube. Στο πρώτο βήμα της επεξεργασίας, οι πρωτεΐνες του πλάσματος διασπώνται από Proteinase K ενώ το ccfDNA προσδένεται στην επιφάνεια των μαγνητικών σωματιδίων. Τα τρία βήματα πλύσης εγγυώνται την απομάκρυνση των ρύπων. Τέλος, το ccfDNA εκλύεται για να απομακρυνθούν τα μαγνητικά σωματίδια και είναι έτοιμο για χρήση σε καθοδικές εφαρμογές.

Υλικά που παρέχονται

Περιεχόμενα του ΚΙΤ

QIA Symphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) Αρ. καταλόγου Αριθμός αντιδράσεων		(192) 768566 192		
Συνομογραφία	Αναγνωριστικό	Ποσότητα	Δραστικά συστατικά	Συγκέντρωση [%]**
RC	Reagent cartridge (Φύσιγγα αντιδραστηρίων)*†	2	Μη ιονικό απορρυπαντικό Μαγνητικό σωματίδιο ανταλλαγής ανιόντων NaOH Αιθανόλη	≥0,5 – <10 [w/w] — ≥0,05 – <0,1 [w/w] ≥70 – <90 [v/v]
PROTK	Proteinase K (Πρωτεϊνάση Κ)†	5 × 10 mL	Proteinase K	≥1 – <3 [w/w]
PL	Piercing Lid (Κάλυμμα διάτρησης)	2	—	—
RSS	Reuse Seal Set (Σετ σφράγισης για επαναληπτική χρήση)‡	2	—	—
	Elution Microtubes CL, racked (Μικροσωληνάρια έκλουσης CL, τοποθετημένα σε στατώ)#	2	—	—
	Caps for Elution Microtubes (Πώματα για μικροσωληνάρια έκλουσης)#	1 × (55 × 8)	—	—
	Οδηγίες χρήσης (Εγχειρίδιο)	1	—	—
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	—	—

* Περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

† Βλ. σελίδα 40 για λίστα συμβόλων με ορισμούς.

‡ Ένα Reuse Seal Set περιέχει 8 ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση.

Διατίθενται και μεμονωμένα, βλ. Πληροφορίες παραγγελιών.

** Μέγιστη συγκέντρωση σε ένα βύθισμα.

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Όταν εργάζεστε με χημικές ουσίες και δείγματα βιολογικών υλικών να ακολουθείτε πάντα γενικές προφυλάξεις και να φοράτε κατάλληλη ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά, όπως προβλέπουν οι πολιτικές και οι διαδικασίες του χώρου εργασίας σας. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφαλείας (Safety Data Sheets, SDS), τα οποία διατίθενται από τον προμηθευτή του προϊόντος.

Βεβαιωθείτε ότι τα όργανα έχουν ελεγχθεί και βαθμονομηθεί σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, αρ. κατ. 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, αρ. κατ. 997004)
- Filter-Tips, 200 µL και 1.500 µL (QIAGEN, αρ. κατ. 990332 και 997024, αντίστοιχα)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, αρ. κατ. 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (PreAnalytiX, αρ. κατ. 768165)
- Σωληνάρια δείγματος. Για τον συμβατό τύπο κύριου και δευτερεύοντος σωληναρίου, ανατρέξτε στον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που βρίσκεται στην καρτέλα Product Resources (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο **www.qiagen.com** και **www.PreAnalytiX.com**, αντίστοιχα.
- Για τον συμβατό τύπο σωληναρίου έκλουσης, ανατρέξτε στον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που βρίσκεται στην καρτέλα Product Resource (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο **www.qiagen.com** και **www.PreAnalytiX.com**, αντίστοιχα.

Εξοπλισμός*

- Πιπέτα (5 mL)
- Όργανο QIAasympphony SP (QIAGEN, αρ. κατ. 9001297)

* Πριν από τη χρήση, βεβαιωθείτε ότι τα όργανα έχουν ελεγχθεί και βαθμονομηθεί σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Για in vitro διαγνωστική χρήση.

Διαβάστε όλες τις οδηγίες προσεκτικά προτού χρησιμοποιήσετε το kit.

Για τους πελάτες στην Ευρωπαϊκή Ένωση: λάβετε υπόψη ότι πρέπει να αναφέρετε στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του κράτους μέλους στο οποίο υπάγεται ο χρήστης ή/και ο ασθενής, οποιαδήποτε σοβαρά συμβάντα σχετίζονται με τη συσκευή.

Πληροφορίες ασφάλειας

Όταν εργάζεστε με χημικές ουσίες και δείγματα βιολογικών υλικών να ακολουθείτε πάντα γενικές προφυλάξεις και να φοράτε κατάλληλη ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά, όπως προβλέπουν οι πολιτικές και οι διαδικασίες του χώρου εργασίας σας. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (Safety Data Sheets, SDS). Αυτά τα δελτία είναι διαθέσιμα online σε μορφή PDF στη διεύθυνση www.qiagen.com/safety, όπου μπορείτε να βρείτε, να προβάλετε και να εκτυπώσετε τα δελτία SDS για κάθε kit και συστατικό των kit της PreAnalytiX.

- Όλες οι χημικές ουσίες και τα βιολογικά υλικά είναι εν δυνάμει επικίνδυνα. Τα δοκίμια και τα δείγματα αίματος είναι εν δυνάμει μολυσματικά και πρέπει να αντιμετωπίζονται ως βιολογικά επικίνδυνα υλικά.
- Τα βιολογικά επικίνδυνα υλικά και τα απόβλητα των kit πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες ασφαλείας.

Πληροφορίες σε περίπτωση έκτακτης ανάγκης

CHEMTREC

ΗΠΑ και Καναδάς 1-800-424-9300

Εκτός ΗΠΑ και Καναδά +1 703-527-3887

Προφυλάξεις

Τα ρυθμιστικά διαλύματα στις φύσιγγες αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) περιέχουν αζίδιο του νατρίου. Εάν χυθεί ρυθμιστικό διάλυμα από το κιτ, καθαρίστε με κατάλληλο απορρυπαντικό εργαστηρίου και νερό. Εάν το υγρό που χύθηκε περιέχει δυνητικά μολυσματικούς παράγοντες καθαρίστε την προσβεβλημένη περιοχή αρχικά με απορρυπαντικό εργαστηρίου και νερό και, στη συνέχεια, με 1% (v/v) υποχλωριώδες νάτριο (χλωρίνη).

Οι ακόλουθες δηλώσεις κινδύνου και προφύλαξης ισχύουν για τα συστατικά του QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit.

MBS3

Περιέχει: Αζίδιο του νατρίου. Προειδοποίηση! Μπορεί να είναι επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια /το πρόσωπο.

Proteinase K



Περιέχει: Proteinase K. Κίνδυνος! Προκαλεί ήπιο ερεθισμό του δέρματος. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργία ή συμπτώματα άσθματος ή δύσπνοια σε περίπτωση εισπνοής. Αποφεύγετε να αναπνέετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/σταγονίδια/ατμούς/εκνεφώματα. Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια /το πρόσωπο. Φοράτε προστατευτικά για την αναπνοή. Σε περίπτωση έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: Καλέστε το Κέντρο Δηλητηριάσεων ή έναν γιατρό. Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή.

QSE2



Περιέχει: Υδροξείδιο του νατρίου. Κίνδυνος! Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Απορρίψτε το περιεχόμενο/τον περιέκτη σε εγκεκριμένη μονάδα διάθεσης αποβλήτων. **Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια:** Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε. **Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα (ή με τα μαλλιά):** Αφαιρέστε αμέσως όλα τα μολυσμένα ενδύματα. Ξεπλύνετε το δέρμα με νερό/στοντους. Καλέστε αμέσως το Κέντρο Δηλητηριάσεων ή έναν γιατρό. Φυλάσσεται κλειδωμένο. Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια /το πρόσωπο.

QSW9



Περιέχει: Αιθανόλη. Κίνδυνος! Ιδιαίτερα εύφλεκτο υγρό και ατμός. Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό. Μακριά από θερμότητα/σπινθήρες/γυμνές φλόγες/θερμές επιφάνειες. Απαγορεύεται το κάπνισμα. Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια /το πρόσωπο.

Αποθήκευση και χειρισμός αντιδραστηρίων

Το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit πρέπει να φυλάσσεται σε κατακόρυφη θέση σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C). Τα μαγνητικά σωματίδια εντός των φύσιγγων αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) παραμένουν ενεργά όταν φυλάσσονται σε αυτό το εύρος θερμοκρασίας.

Σημείωση: Στην ετικέτα του κουτιού του QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit αναγράφεται η ημερομηνία λήξης του kit. Η ημερομηνία λήξης ισχύει για τη φύσιγγα αντιδραστηρίων.

Μην χρησιμοποιείτε το QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit μετά την ημερομηνία λήξης.

Συστατικά του kit

Το kit QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit περιέχει έτοιμο προς χρήση διάλυμα Proteinase K, το οποίο μπορεί να φυλαχθεί σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C).

Μη φυλάσσετε τις φύσιγγες αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) σε θερμοκρασίες κάτω των 15 °C.

Οι φύσιγγες αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) ενός ανοιγμένου kit QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) για έως 4 εβδομάδες. Η επανάχρηση των αντιδραστηρίων εξοικονομεί κόστος και προσφέρει μεγαλύτερη ευελιξία στην επεξεργασία δειγμάτων. Εάν μια φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) έχει χρησιμοποιηθεί μερικώς, τοποθετήστε ξανά το κάλυμμα του λεκανιδίου που περιέχει τα μαγνητικά σωματίδια και σφραγίστε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) με τις ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση αμέσως μόλις ολοκληρωθεί η εκτέλεση του πρωτοκόλλου για να αποφύγετε την εξάτμιση.

Για να μην εξατμιστεί το αντιδραστήριο, η φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) θα πρέπει να παραμένει ανοιχτή το ανώτατο 15 ώρες (συμπεριλαμβανομένων των χρόνων εκτέλεσης) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 32 °C κατά μέγιστο. Η εσφαλμένη φύλαξη των συστατικών του kit μπορεί να επισπεύσει τη φθορά των ρυθμιστικών διαλυμάτων.

Η εκτέλεση παρτίδων με μικρό αριθμό δειγμάτων (<24) θα αυξήσει τον χρόνο που η φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) παραμένει ανοιχτή και τους απαιτούμενους όγκους ρυθμιστικού διαλύματος, ενώ θα μειώσει πιθανώς και τον συνολικό εφικτό αριθμό προετοιμασιών δειγμάτων ανά φύσιγγα.

Αποφύγετε την έκθεση των φυσιγγων αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) σε υπεριώδες φως (που χρησιμοποιείται π.χ. στην απολύμανση) διότι μπορεί να επισπεύσει τη φθορά των φυσιγγων αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) και των ρυθμιστικών διαλυμάτων.

Πρέπει να δίδεται προσοχή στις ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στα κουτιά και τις ετικέτες όλων των συστατικών. Μη χρησιμοποιείτε το περιεχόμενο της συσκευασίας εάν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης ή δεν έχουν ληφθεί τα σωστά μέτρα αποθήκευσης.

Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων

Η διαδικασία καθαρισμού είναι βελτιστοποιημένη για χρήση με πλάσμα που δημιουργείται από αίμα που συλλέγεται σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes. Για πληροφορίες σχετικά με τη συλλογή αίματος, τον χειρισμό των σωληναρίων και την παρασκευή του πλάσματος ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του σωληναρίου PAXgene Blood ccfDNA Tube που βρίσκονται στην ενότητα Product Resource (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com και www.PreAnalytiX.com, αντίστοιχα.

Η παρασκευή του πλάσματος μπορεί να γίνει χρησιμοποιώντας (Α) το τυπικό πρωτόκολλο διπλής φυγοκέντρησης ή (Β) μέσω του χειρισμού του κύριου σωληναρίου: απευθείας επεξεργασία σωληναρίων PAXgene Blood ccfDNA Tubes που έχουν υποβληθεί σε άπαξ φυγοκέντρηση στο όργανο QIASymphony SP.

Α) Παρασκευή πλάσματος από αίμα για τυπικά πρωτόκολλα

1. Φυγοκεντρίστε το σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) για 15 λεπτά σε 1.600–3.000 × g (πρώτη φυγοκέντρηση) χρησιμοποιώντας φυγόκεντρο με ισορροπημένα φορτωμένα ρότορα ταλάντευσης κάδου. Εάν προτιμάται η πέδηση, συνιστάται η χρήση πέδησης μέσου επιπέδου, η οποία θα πρέπει να επικυρώνεται για τη συγκεκριμένη ροή εργασίας.

Σημείωση: Για βέλτιστη απόδοση σε δείγματα που φυλάσσονται κατεψυγμένα πριν από τη φυγοκέντρηση, αναμείξτε ξανά το δείγμα αναστρέφοντας τρεις φορές και αφήστε τα σωληνάρια να επανέλθουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την επεξεργασία.

2. Μεταφέρετε με πιπέτα το πλάσμα σε σωληνάριο φυγοκέντρησης κωνικού πυθμένα 15 mL (δεν παρέχεται), προσέχοντας να μην διαταραχθεί το κλάσμα των εμπύρηνων κυττάρων.

3. Φυγοκεντρίστε το σωληνάριο φυγοκέντρισης κωνικού πυθμένα 15 mL για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) σε 1.600–3.000 × g (δεύτερη φυγοκέντριση) χρησιμοποιώντας ισορροπημένα φορτωμένα φυγόκεντρο.

Σημείωση: Μην υπερβαίνετε τη μέγιστη ταχύτητα φυγοκέντρισης που συνιστά ο κατασκευαστής του δευτερεύοντος σωληναρίου.

4. Μεταφέρετε με πιπέτα τον απαιτούμενο όγκο πλάσματος (βλ. ενότητα «Όγκος δείγματος», στη σελίδα 21) σε σωληνάριο 14 mL με στρογγυλό πυθμένα 17× 100 mm από πολυστυρένιο, φροντίζοντας να μην διαταραχθεί το υπολειπόμενο ίζημα κυττάρων, εάν υπάρχει.
5. Μεταφέρετε το σωληνάριο στρογγυλού πυθμένα με το δείγμα πλάσματος στον φορέα σωληναρίων και φορτώστε τον φορέα σωληναρίων στο συρτάρι εισαγωγής δειγμάτων του οργάνου QIASymphony SP.

Σημείωση: Για μέγιστη απόδοση ccfDNA, επεξεργαστείτε τον μέγιστο διαθέσιμο όγκο πλάσματος.

Σημείωση: Αποτρέψτε τη δημιουργία αφρού εντός ή στην επιφάνεια των δειγμάτων πλάσματος κατά τη διανομή με πιπέτα. Τυχόν αφρός ή φυσαλίδες αέρα επάνω στα δείγματα μπορεί να οδηγήσουν στη μεταφορά με πιπέτα εσφαλμένου όγκου δείγματος.

Σημείωση: Ύστερα από τη μεταφορά πλάσματος σε δευτερεύον σωληνάριο, το ccfDNA παραμένει σταθερό στο πλάσμα σε θερμοκρασία 15–25 °C για έως 3 ημέρες ή σε θερμοκρασία 2–8 °C για έως 7 ημέρες. Για πιο μακροχρόνια φύλαξη, συνιστούμε κατάψυξη σε κλάσματα σε θερμοκρασία -20 °C ή -80 °C.

Σημείωση: Όταν γίνεται χρήση ήδη αποθηκευμένων δειγμάτων πλάσματος (π.χ. δείγματα που φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2–8 °C ή έχουν καταψυχθεί σε θερμοκρασία -20 °C ή -80 °C), αυτά τα δείγματα θα πρέπει να εξισορροπούνται σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) πριν από την έναρξη της εκτέλεσης. Για κατεψυγμένα δείγματα, ανατρέξτε στην ενότητα «Γ) Ψύξη και απόψυξη δειγμάτων πλάσματος που υποβάλλονται σε επεξεργασία σε σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube».

B) Παρασκευή πλάσματος από αίμα για χειρισμό κύριου σωληναρίου στο όργανο QIASymphony SP

1. Φυγοκεντρίστε το σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) για 15 λεπτά στα 3.000 × g χρησιμοποιώντας φυγόκεντρο με ισορροπημένα φορτωμένο ρότορα ταλάντευσης κάδου. Εάν προτιμάται η πέδηση, συνιστάται η χρήση πέδησης μέσου επιπέδου, η οποία θα πρέπει να επικυρώνεται για τη συγκεκριμένη ροή εργασίας.

Σημείωση: Για βέλτιστη απόδοση σε δείγματα που φυλάσσονται κατεψυγμένα πριν από τη φυγοκέντριση, αναμείξτε ξανά το δείγμα αναστρέφοντας τρεις φορές και αφήστε τα σωληνάκια να επανέλθουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την επεξεργασία.

2. Προσδιορίστε τον όγκο πλάσματος σε κάθε σωληνάριο μετά την αφαίρεσή του από τον κάδο της φυγόκεντρος με το PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, το οποίο περιέχεται στο κιτ (Εικόνα 3). Μετά την αφαίρεση του σωληναρίου από τη φυγόκεντρο, το γαλαζοπράσινο βέλος στο εργαλείο ευθυγραμμίζεται με το όριο διαχωρισμού μεταξύ πλάσματος/κυττάρων. Οι γραμμές μπλε χρώματος υποδεικνύουν ότι η στάθμη του πλάσματος είναι επαρκής για το πρωτόκολλο χειρισμού κύριου σωληναρίου 2,4 ή 4,0 mL. Απαιτείται ελάχιστο ύψος στήλης πλάσματος 2,3 cm για το πρωτόκολλο των 2,4 mL και ελάχιστο ύψος 3,4 cm για το πρωτόκολλο των 4,0 mL.

Σημείωση: Σε περίπτωση ασαφούς διαχωρισμού του πλάσματος και του κυτταρικού κλάσματος ή σε περίπτωση που οι φάσεις αναμείχθηκαν ακουσίως κατά την αφαίρεση από τη φυγόκεντρο, θα πρέπει να επαναλάβετε τη φυγοκέντριση.

Σημείωση: Διασφαλίστε τον σαφή διαχωρισμό πριν τοποθετήσετε το σωληνάριο στο όργανο.

3. Αφαιρέστε το κλείστρο Hemogard από τα σωληνάκια PAXgene Blood ccfDNA Tubes πριν από την τοποθέτηση στο όργανο QIASymphony SP για απευθείας εκχύλιση ccfDNA.

Σημείωση: Η αφαίρεση του πλάσματος των σωληναρίων και ο χειρισμός ανοικτών σωληναρίων θα πρέπει να γίνεται με προσοχή ώστε να μειώνεται ο πιθανός κίνδυνος διαρροής δειγμάτων, διασταυρούμενης μόλυνσης μεταξύ σωληναρίων και έκθεσης του αίματος.

4. Τοποθετήστε τα ανοιγμένα σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes που περιέχουν επαρκή ποσότητα πλάσματος στον φορέα σωληναρίων και φορτώστε τον φορέα σωληναρίων στο συρτάρι εισαγωγής δειγμάτων του οργάνου QIASymphony SP.

Γ) Ψύξη και απόψυξη δειγμάτων πλάσματος που υποβάλλονται σε επεξεργασία σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tube

1. Για τη ψύξη, μεταφέρετε το πλάσμα σε κατάλληλα σωληνάρια (π.χ., κρουοφαλίδια) τοποθετημένα σε κατάλληλο στατώ.
2. Εκτελέστε ψύξη και φύλαξη του πλάσματος σε θερμοκρασία $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Για τη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω από $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, καταψύξτε τα δείγματα πλάσματος πρώτα σε θερμοκρασία $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ για τουλάχιστον 24 ώρες και στη συνέχεια μεταφέρετε σε $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Αποψύξτε το πλάσμα σε θερμοκρασία δωματίου ($15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Σημείωση: Μην αποψύχετε σε χαμηλές θερμοκρασίες (π.χ., $4\text{ }^{\circ}\text{C}$).

4. Αν σχηματίζονται κρυστάλλοι στο πλάσμα, στροβιλίστε το σωληνάρια για 30 δευτερόλεπτα μετά την απόψυξη και χρησιμοποιήστε το δείγμα για τη διαδικασία απομόνωσης ccfDNA στο όργανο QIASymphony SP χωρίς περαιτέρω επεξεργασία.

Σημείωση: Δεν συνιστάται φυγοκέντριση του πλάσματος για την απομάκρυνση των κρυσταλλών επειδή μπορεί να περιέχουν ccfDNA.

Σημείωση: Για να αποψύχετε τον σχηματισμό κρυσταλλών, το πλάσμα μπορεί να αποψύχεται στους $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 30 λεπτά αντί για θερμοκρασία δωματίου.

Διαδικασία

Επισκόπηση: Αυτόματος καθαρισμός ccfDNA στο όργανο QIA Symphony SP

Το όργανο QIA Symphony SP καθιστά την αυτόματη προετοιμασία δειγμάτων μια άνετη και απλή διαδικασία. Τα δείγματα, τα αντιδραστήρια, τα αναλώσιμα και τα εκλούσματα τοποθετούνται χωριστά σε διαφορετικά συρτάρια. Απλώς φορτώστε τα δείγματα, τα αντιδραστήρια που παρέχονται στις ειδικές φύσιγγες και τα προτοποθετημένα αναλώσιμα στα κατάλληλα συρτάρια προτού ξεκινήσετε μια εκτέλεση. Ξεκινήστε το πρωτόκολλο και απομακρύνετε το καθαρό ccfDNA από το συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα). Για τις οδηγίες που αφορούν τη λειτουργία, ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που συνοδεύουν το όργανο.

Σημείωση: Η προαιρετική συντήρηση δεν είναι υποχρεωτική για τη λειτουργία του οργάνου, συνιστάται ωστόσο επισταμένως για τη μείωση του κινδύνου επιμόλυνσης.

Όγκος δείγματος

Για να βεβαιωθείτε ότι στην κανονική ροή εργασίας μεταφέρονται από το όργανο δείγματα 2,4 mL (πρωτόκολλο PAXcircDNA_2400) και 4,8 mL (πρωτόκολλο PAXcircDNA_4800), απαιτείται, αντίστοιχα, κενός όγκος 0,4 και 0,5 mL. Αυτό σημαίνει ότι πρέπει να γίνεται εισαγωγή δείγματος τουλάχιστον 2,8 και 5,3 mL. Αν ο διαθέσιμος όγκος πλάσματος είναι μικρότερος από 2,8 ή 5,3 mL, η λειτουργία «**Less Sample**» (Λιγότερο δείγμα), η οποία είναι λειτουργία ενσωματωμένη στο πρωτόκολλο, επιτρέπει αυτόματα τη μεταφορά των μικρότερων όγκων πλάσματος από τους αναγραφόμενους. Σε αυτήν την περίπτωση, το όργανο μεταφέρει λιγότερο δείγμα. Η διαφορά του μεταφερόμενου όγκου πλάσματος καταγράφεται στο αρχείο αποτελεσμάτων. Επιπλέον, τα αντίστοιχα δείγματα επισημαίνονται ως **unclear** (ακαθόριστο) [κωδικός σφάλματος 140043, «**Enable Less Sample**»

(Ενεργοποίηση λιγότερου δείγματος)]. Οι ελάχιστοι όγκοι εισαγωγής πλάσματος για την ενεργοποίηση της **λειτουργίας «Less Sample»** (Λιγότερο δείγμα) είναι 1,6 και 4,1 mL. Τα δείγματα δεν θα υποβάλλονται σε επεξεργασία και θα επισημαίνονται ως **invalid** (μη έγκυρο) αν ο παρεχόμενος όγκος δείγματος είναι μικρότερος. Για τη ροή εργασίας χειρισμού κύριου σωληναρίου, ο κατάλληλος όγκος δείγματος διασφαλίζεται μέσω της χρήσης του εργαλείου PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, το οποίο περιέχεται στο κιτ (και περιγράφεται στην ενότητα «Προετοιμασία του υλικού του δείγματος» στη σελίδα 27).

Φόρτωση φυσίγγων αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) στο συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Τα αντιδραστήρια για τον καθαρισμό ccfDNA περιέχονται σε μια καινοτόμα φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) (Εικόνα 3). Κάθε λεκανίδιο της φύσιγγας αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) περιέχει συγκεκριμένο αντιδραστήριο, όπως μαγνητικά σωματίδια, δεσμευτικό ρυθμιστικό διάλυμα, ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης ή ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης. Οι μερικώς χρησιμοποιημένες φύσιγγες αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) μπορούν να σφραγιστούν ξανά με χρήση των ταινιών σφράγισης για επαναληπτική χρήση για μετέπειτα χρήση, αποτρέποντας έτσι την παραγωγή αποβλήτων από περίσσειες αντιδραστηρίων στο τέλος της διαδικασίας καθαρισμού.



Εικόνα 3. Φύσιγγα αντιδραστηρίων QIAasymphony (Reagent Cartridge, RC). Η φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) περιέχει όλα τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για την εκτέλεση του πρωτοκόλλου.

Πριν από την έναρξη της διαδικασίας, διασφαλίστε πως τα μαγνητικά σωματίδια έχουν πλήρως επανεναιωρηθεί. Αφαιρέστε το λεκανίδιο των μαγνητικών σωματιδίων από το πλαίσιο της φύσιγγας αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC), στροβιλίστε το έντονα για τουλάχιστον 3 λεπτά και τοποθετήστε το ξανά στο πλαίσιο της φύσιγγας αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) πριν από την πρώτη χρήση.

Σημείωση: Τα μαγνητικά σωματίδια μπορούν να αλλάξουν χρώμα. Αυτό δεν επηρεάζει την απόδοση.

Τοποθετήστε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) στη θήκη της φύσιγγας αντιδραστηρίων. Πριν να χρησιμοποιήσετε μια φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) για πρώτη φορά, τοποθετήστε το κάλυμμα διάτησης πάνω από τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (Εικόνα 3).

Σημείωση: Το κάλυμμα διάτρησης είναι αιχμηρό. Να είστε προσεκτικοί κατά την τοποθέτησή του στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC). Διασφαλίστε ότι τοποθετείτε το κάλυμμα διάτρησης πάνω στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) με σωστό προσανατολισμό.

Αφού αφαιρεθεί το κάλυμμα του λεκανιδίου, η φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) φορτώνεται στη συνέχεια στο συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα).

Οι μερικώς χρησιμοποιημένες φύσιγγες αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) μπορούν να φυλαχθούν έως την επόμενη χρήση τους (βλ. ενότητα «Αποθήκευση και χειρισμός αντιδραστηρίων» στη σελίδα 15).

Σημείωση: Πρέπει να προστεθεί Proteinase K (βλ. ενότητα «Απαραίτητες ενέργειες πριν από την εκκίνηση» στη σελίδα 29).

Σημείωση: Διασφαλίστε ότι δεν αναμειγνύετε φύσιγγες αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC), λεκανίδια μαγνητικών σωματιδίων και φιάλες Proteinase K από διαφορετικές παρτίδες κιτ.

Φόρτωση πλαστικών υλικών στο συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Οι φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων, τα 8-Rod Covers (αμφότερα προτοποθετημένα σε κουτιά μονάδων) και τα αναλώσιμα ρύγχη Filter-Tips (των 200 µL σε μπλε στατώ και των 1.500 µL σε μαύρα στατώ) φορτώνονται στο συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα).

Σημείωση: Διασφαλίστε πως τα καλύμματα των κουτιών μονάδων έχουν αφαιρεθεί πριν από την φόρτωση των κουτιών μονάδων στο συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα).

Σημείωση: Τα ρύγχη διαθέτουν φίλτρα για τη μείωση του κινδύνου διασταυρούμενης μόλυνσης.

Οι υποδοχές στατώ στο τραπέζι εργασίας του οργάνου QIASymphony SP δέχονται και τους δύο τύπους στατώ για ρύγχη. Το όργανο QIASymphony SP αναγνωρίζει τον τύπο των ρυγχών που φορτώνονται κατά τη σάρωση υλικού.

Σημείωση: Μην επαναπληρώνετε τα στατώ για ρύγχη ή τα κουτιά μονάδων για φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων ή 8-Rod Covers πριν από την έναρξη μιας ακόμα εκτέλεσης πρωτοκόλλου. Το όργανο QIASymphony SP μπορεί να χρησιμοποιήσει μερικώς χρησιμοποιημένα στατώ για ρύγχη και κουτιά μονάδων.

Για πληροφορίες σχετικά με την παραγγελία πλαστικών υλικών, βλ. σελίδα 43.

Φόρτωση του συρταριού «Waste» (Απόβλητα)

Οι φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων και τα 8-Rod Covers που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια μιας εκτέλεσης τοποθετούνται ξανά σε άδεια κουτιά μονάδων στο συρτάρι «Waste» (Απόβλητα). Βεβαιωθείτε πως το συρτάρι «Waste» (Απόβλητα) περιέχει επαρκή αριθμό άδειων κουτιών μονάδων για τα πλαστικά απόβλητα που συσσωρεύονται κατά την εκτέλεση του πρωτοκόλλου.

Σημείωση: Βεβαιωθείτε πως τα καλύμματα των κουτιών μονάδων έχουν αφαιρεθεί πριν από τη φόρτωση των κουτιών μονάδων στο συρτάρι «Waste» (Απόβλητα). Εάν χρησιμοποιείτε κουτιά 8-Rod Covers για τη συλλογή χρησιμοποιημένων φυσιγγών προετοιμασίας δειγμάτων και 8-Rod Covers, βεβαιωθείτε πως έχει αφαιρεθεί το διαχωριστικό κουτιών.

Στην πρόσθια πλευρά του συρταριού «Waste» (Απόβλητα) πρέπει να τοποθετηθεί μια σακούλα για τα μεταχειρισμένα Filter-Tips.

Σημείωση: Το σύστημα δεν ελέγχει αν έχει τοποθετηθεί σακούλα Tip disposal bag. Βεβαιωθείτε πως έχει τοποθετηθεί σωστά η σακούλα απόρριψης ρυγχών προτού ξεκινήσετε μια εκτέλεση πρωτοκόλλου. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που συνοδεύουν το όργανο. Αδειάζετε τη σακούλα ρυγχών το αργότερο μετά από την επεξεργασία 96 δειγμάτων για την αποφυγή εμπλοκής των ρυγχών.

Ένα δοχείο αποβλήτων συλλέγει τα υγρά απόβλητα που δημιουργούνται κατά τη διαδικασία καθαρισμού. Το συρτάρι «Waste» (Απόβλητα) μπορεί να κλείσει μόνο εφόσον το δοχείο αποβλήτων βρίσκεται στη θέση του. Απορρίψτε τα υγρά απόβλητα σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς ασφαλείας και προστασίας του περιβάλλοντος. Μην αποστειρώνετε σε αυτόκαυστο τη γεμάτη με απόβλητα φιάλη. Αδειάζετε τη φιάλη αποβλήτων το αργότερο μετά από την επεξεργασία 96 δειγμάτων.

Φόρτωση του συρταριού «Eluate» (Έκλουσμα)

Φορτώστε το απαιτούμενο στατώ έκλουσης στο συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα). Καθώς η μακροπρόθεσμη φύλαξη εκλουσμάτων στο συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα) μπορεί να οδηγήσει σε εξάτμιση ή συμπύκνωση, πρέπει να γίνεται χρήση της θέσης ψύξης. Χρησιμοποιείτε μόνο το «Elution slot 1» (Υποδοχή έκλουσης 1) με τον αντίστοιχο προσαρμογέα ψύξης.

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης (μL)*	Αρχικός όγκος έκλουσης (μL)†
60	75

* Αυτός ο όγκος είναι ο ελάχιστος διαθέσιμος όγκος εκλούσματος στο τελικό σωληνάριο έκλουσης για τη βάση QIAGEN EMT (αρ. κατ. 19588) και για τα σωληνάρια με βιδωτό πύμα 1,5 mL Sarstedt (αρ. κατ. 72.607). Σε μεμονωμένες περιπτώσεις ο τελικός όγκος εκλούσματος για ξεχωριστά δείγματα μπορεί να είναι έως και 5 μL μικρότερος.

† Ο αρχικός όγκος του ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης που απαιτείται προκειμένου να διασφαλισθεί ότι ο πραγματικός όγκος του εκλούσματος είναι ίδιος με τον επιλεγμένο.

Σάρωση υλικού

Πριν από την έναρξη μιας εκτέλεσης, το όργανο ελέγχει εάν έχουν φορτωθεί επαρκή αναλώσιμα στα αντίστοιχα συρτάκια για την παρτίδα ή τις παρτίδες που βρίσκονται σε σειρά αναμονής.

Προετοιμασία του υλικού του δείγματος

Βλ. «Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων», σελίδα 17.

Φύλαξη του ccfDNA

Μετά την προετοιμασία των δειγμάτων, τα εκλούσματα ccfDNA μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία -20 ή -80 °C. Τα κατεψυγμένα εκλούσματα δεν θα πρέπει να αποψύχονται περισσότερες από τρεις φορές. Για τις πλέον επικαιροποιημένες πληροφορίες σχετικά με τη σταθερότητα του ccfDNA σε εκλούσματα, ανατρέξτε στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com ή www.PreAnalytiX.com.

Επισκόπηση προϊόντος

Πίνακας 1. Επισκόπηση προϊόντος

Δείγμα	Επεξεργασία του σωληναρίου PAXgene Blood ccfDNA Tube	Όγκος εισαγωγής δείγματος (συμπ. κενού όγκου) (mL)	Όγκος δείγματος που χρησιμοποιείται για εκχύλιση ccfDNA (mL)	Όγκος έκλουσης (μL)	Πρωτόκολλο οργάνου QIASymphony SP	
Πλάσμα που δημιουργήθηκε από ανθρώπινο φλεβικό ολικό αίμα που συλλέχθηκε σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes	Φυγοκέντριση 2× φορές, μεταφορά πλάσματος σε δευτερεύον σωληνάριο	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400	
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800	
	Φυγοκέντριση 1 φορά, απευθείας επεξεργασία σε όργανο QIASymphony SP	Ανάλογα με το εργαλείο επιλογής	2,4	60	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Σημαντικές υποδείξεις πριν από την εκκίνηση

- Κατά την εργασία με χημικές ουσίες και βιολογικά δείγματα φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (Safety Data Sheets, SDS).
- Βεβαιωθείτε πως έχετε εξοικειωθεί με τη λειτουργία του οργάνου QIASymphony SP. Για τις οδηγίες που αφορούν τη λειτουργία, ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που συνοδεύουν το όργανο.

Σημείωση: Η απαιτούμενη διαμόρφωση λογισμικού για χρήση IVD είναι **Default Profile 1** (Προεπιλεγμένο προφίλ 1).

- Πριν ξεκινήσετε τη διαδικασία, διαβάστε την ενότητα «Αρχές της διαδικασίας».

- Βεβαιωθείτε πως έχετε εξοικειωθεί με το φύλλο πρωτοκόλλου και τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού (που βρίσκεται στην ενότητα Product Resource (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com και www.PreAnalytiX.com, αντίστοιχα).
- Αποφύγετε την έντονη ανακίνηση της φύσιγγας αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) διότι, σε αντίθετη περίπτωση, ενδέχεται να σχηματιστεί αφρός ο οποίος μπορεί να οδηγήσει σε προβλήματα ανίχνευσης της στάθμης υγρού.
- Το αίμα πρέπει να συλλέγεται σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD, PreAnalytiX, αρ. κατ. 768165). Για πληροφορίες σχετικά με τη συλλογή και τον χειρισμό αίματος και την επεξεργασία πλάσματος ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του σωληναρίου που βρίσκονται στην ενότητα **Product Resources** (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com ή www.PreAnalytiX.com, αντίστοιχα.

Απαραίτητες ενέργειες πριν από την εκκίνηση

- Πριν από την έναρξη της διαδικασίας, διασφαλίστε πως τα μαγνητικά σωματίδια έχουν πλήρως επανεναιωρηθεί. Στροβιλίστε δυνατά το λεκανίδιο που περιέχει τα μαγνητικά σωματίδια για 3 λεπτά τουλάχιστον πριν από την πρώτη χρήση.
- Βεβαιωθείτε πως το κάλυμμα διάτρησης έχει τοποθετηθεί επάνω στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) και πως το κάλυμμα του λεκανιδίου μαγνητικών σωματιδίων έχει αφαιρεθεί ή, εάν χρησιμοποιείτε μία μερικώς χρησιμοποιημένη φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC), βεβαιωθείτε πως έχουν απομακρυνθεί οι ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση.

- Η Proteinase K δεν περιλαμβάνεται στη φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) αλλά παρέχεται από τον χρήστη (συρτάρι «Sample» (Δείγμα), υποδοχή A, θέση 1 ή/και 2). Βεβαιωθείτε ότι διατίθεται ο σωστός όγκος δείγματος Proteinase K

Το κιτ QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit περιέχει έτοιμο προς χρήση διάλυμα Proteinase K. Η Proteinase K φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C). Για μακροχρόνια φύλαξη, συνιστούμε να φυλάσσετε τα φιαλίδια ενζύμων με την Proteinase K στους 2–8 °C.

Αριθμός δείγματος	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400* (μL)	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* (μL)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11660 [†]
96	11660 [†]	23320 [†]

* Για κάθε δείγμα, απαιτούνται 110 μL (για 2.400 μL πλάσματος) ή 220 μL (για 4.800/4.000 μL πλάσματος), συν επιπλέον κενός όγκος 1.100 μL [(n × 110 ή 220 μL) + 1.100 μL].

[†] Εάν απαιτούνται πάνω από 11.660 μL, χρησιμοποιήστε ένα δεύτερο σωληνάριο (Corning, αρ. κατ. 352051). Για το δεύτερο σωληνάριο απαιτείται επιπλέον κενός όγκος 1.100 μL.

Σημείωση: Τα σωληνάρια που περιέχουν Proteinase K τοποθετούνται σε έναν φορέα σωληναρίων. Ο φορέας σωληναρίων που περιέχει την Proteinase K πρέπει να τοποθετείται στις θέσεις 1 και 2 της υποδοχής A του συρταριού «Sample» (Δείγμα). Συνιστούμε τη χρήση σωληναρίων 14 mL 17 × 100 mm από πολυστυρένιο, με στρογγυλό πυθμένα (Corning, αρ. κατ. 352051) για την πρωτεΐνωση K.

- Εάν τα δείγματα φέρουν γραμμωτό κώδικα, προσανατολίστε τα δείγματα στον φορέα σωληναρίων με τέτοιο τρόπο ώστε ο γραμμωτός κώδικάς να είναι στραμμένος προς τον αναγνώστη γραμμωτού κώδικα στην αριστερή πλευρά του οργάνου QIASymphony SP.

- Για πληροφορίες σχετικά με τα σωληνάρια δείγματος και τους ελάχιστους όγκους δείγματος που είναι συμβατοί με τα πρωτόκολλα, ανατρέξτε στον αντίστοιχο κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που βρίσκεται στην ενότητα Product Resource (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο **www.qiagen.com** και **www.PreAnalytiX.com**, αντίστοιχα.

Πρωτόκολλο: Αυτόματος καθαρισμός ccfDNA στο όργανο QIASymphony SP

Λεπτομερείς πληροφορίες για κάθε πρωτόκολλο, όπως για τους όγκους και τα σωληνάρια, παρέχονται στο φύλλο πρωτοκόλλου και στον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού που βρίσκεται στην ενότητα Product Resource (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com και www.PreAnalytiX.com, αντίστοιχα. Για την παρασκευή του υλικού του δείγματος (πλάσμα που δημιουργήθηκε από ανθρώπινο φλεβικό ολικό αίμα που συλλέχθηκε σε σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube), βλ. την ενότητα «Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων» και την ενότητα «Προετοιμασία του υλικού του δείγματος» στο παρόν εγχειρίδιο, καθώς και τις οδηγίες χρήσης του σωληναρίου που βρίσκονται στην ενότητα **Product Resources** (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com ή www.PreAnalytiX.com, αντίστοιχα.

1. Κλείστε όλα τα συρτάρια και το κάλυμμα.
2. Ενεργοποιήστε το όργανο QIASymphony SP και περιμένετε έως ότου εμφανιστεί η οθόνη Sample Preparation (Προετοιμασία δειγμάτων) και ολοκληρωθεί η διαδικασία αρχικοποίησης.
3. Ο κεντρικός διακόπτης βρίσκεται στην αριστερή κάτω γωνία του οργάνου QIASymphony SP.
4. Συνδεθείτε στο όργανο.

Φορτώστε το απαιτούμενο στατώ έκλουσης στο συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα).

Μην φορτώσετε πλάκα 96 βυθισμάτων στην υποδοχή «Elution slot 4» (Υποδοχή έκλουσης 4). Πρέπει να χρησιμοποιηθεί η υποδοχή «Elution slot 1» (Υποδοχή έκλουσης 1) με τον αντίστοιχο προσαρμογέα ψύξης.

Κατά τη χρήση πλάκας 96 βυθισμάτων βεβαιωθείτε πως η πλάκα έχει προσανατολιστεί σωστά. Η λανθασμένη τοποθέτηση μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένη διάταξη των δειγμάτων κατά την καθοδική ανάλυση.

Όταν χρησιμοποιείται το στατώ Elution Microtubes CL, αφαιρέστε τον πυθμένα περιστρέφοντας το στατώ μέχρι να αποσπασθεί ο πυθμένας.

5. Διασφαλίστε ότι έχει προετοιμαστεί σωστά το συρτάρι «Waste» (Απόβλητα) και διενεργήστε σάρωση υλικού του συρταριού «Waste» (Απόβλητα), όπως τον αγωγό ρυγχών, τον χώρο στάθμευσης ρυγχών, το κενό δοχείο υγρών αποβλήτων και τα κενά κουτιά μονάδων. Εάν χρειάζεται, αντικαταστήστε τη σακούλα απόρριψης ρυγχών.
6. Φορτώστε την απαιτούμενη φύσιγγα (ή τις φύσιγγες) αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) και τα αναλώσιμα στο συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα).
7. Εκτελέστε σάρωση υλικού του συρταριού «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα).
8. Τοποθετήστε τα δείγματα στον κατάλληλο φορέα δειγμάτων και φορτώστε τα κατόπιν στο συρτάρι «Sample» (Δείγμα).

Σημείωση: Εκτός από την κανονική επεξεργασία που περιλαμβάνει μεταφορά πλάσματος σε κατάλληλο δευτερεύον σωληνάριο (σωληνάριο 14 mL Falcon® από πολυστυρένιο με στρογγυλό πυθμένα 17 x 100 mm), η ροή εργασίας χειρισμού κύριου σωληναρίου PAXgene Blood ccfDNA Tube επιτρέπει την εκχύλιση ccfDNA απευθείας από το σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube (σωληνάριο 10 mL PAXgene Blood ccfDNA Tube, 16 x 100 mm). Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τον χειρισμό κύριου σωληναρίου ανατρέξτε στο φύλλο πρωτοκόλλου, στον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού και στις οδηγίες χρήσης που βρίσκονται στην ενότητα Product Resources (Πόροι προϊόντος) και Resources (Πόροι) στη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com ή www.PreAnalytiX.com, αντίστοιχα.

9. Από την οθόνη αφής καταχωρίστε τις απαιτούμενες πληροφορίες για κάθε παρτίδα δειγμάτων και Proteinase K που πρόκειται να υποβληθούν σε επεξεργασία.

Καταχωρίστε τις εξής πληροφορίες:

- Πληροφορίες δείγματος (ανάλογα με τα στατώ δειγμάτων που χρησιμοποιούνται επιλέξτε BD #352051 FalconPP 17 × 100 ή BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100)
- Το πρωτόκολλο που πρόκειται να εκτελεστεί (σετ μαρτύρων προσδιορισμού)
- Τον όγκο έκλουσης και τη θέση εξόδου

Μετά την καταχώριση των πληροφοριών για την παρτίδα, η κατάσταση αλλάζει από LOADED (Φορτώθηκε) σε QUEUED (Σε σειρά αναμονής). Μόλις μία παρτίδα μπει σε σειρά αναμονής, εμφανίζεται το πλήκτρο «RUN» (Εκτέλεση).

10. Τοποθετήστε την Proteinase K στον κατάλληλο φορέα δειγμάτων στη θέση 1 και 2 και φορτώστε την στην υποδοχή A στο συρτάρι «Sample» (Δείγμα).
11. Προσδιορίστε την Proteinase K πατώντας το κουμπί **IC** (Εσωτερικός μάρτυρας).
12. Πατήστε το κουμπί Run (Εκτέλεση) για να ξεκινήσετε τη διαδικασία καθαρισμού. Όλα τα βήματα επεξεργασίας είναι πλήρως αυτοματοποιημένα. Μόλις ολοκληρωθεί η εκτέλεση του πρωτοκόλλου, η κατάσταση της παρτίδας αλλάζει από RUNNING (Εκτελείται) σε COMPLETED (Ολοκληρώθηκε).
13. Αφαιρέστε το στατώ έκλουσης που περιέχει το καθαρό ccfDNA από το συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα). Επιβεβαιώστε την απομάκρυνση του στατώ έκλουσης με το λογισμικό του οργάνου QIA Symphony SP.
14. Το ccfDNA είναι έτοιμο για χρήση ή φύλαξη σε θερμοκρασία -20 °C ή -80 °C για έως 6 μήνες. Η QIAGEN συνιστά την αφαίρεση της πλάκας εκλούσματος από το συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα) αμέσως μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης. Ανάλογα με τη θερμοκρασία και την υγρασία, οι πλάκες έκλουσης που παραμένουν στο όργανο QIA Symphony SP μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης ενδέχεται να υποστούν συμπύκνωση ή εξάτμιση.

Σημείωση: Με χρήση της λειτουργίας ψύξης του οργάνου QIASymphony SP είναι εφικτή η διενέργεια εκτελέσεων κατά τη διάρκεια της νύχτας.

Τα μαγνητικά σωματίδια δεν μεταφέρονται γενικά στα εκλούσματα. Σε περίπτωση που προκύψει επιμόλυνση, τα μαγνητικά σωματίδια εντός των εκλουσμάτων δεν επηρεάζουν τις περισσότερες καθοδικές εφαρμογές.

Αν τα μαγνητικά σωματίδια χρειάζεται να αφαιρεθούν πριν τη διενέργεια καθοδικών εφαρμογών, τα σωληνάρια ή οι πλάκες που περιέχουν εκλούσματα πρέπει πρώτα να τοποθετηθούν σε κατάλληλο μαγνήτη και τα εκλούσματα να μεταφερθούν σε καθαρό σωληνάριο (βλ. «Παράρτημα: Ποσοτικός προσδιορισμός ccfDNA»). Αρχεία αποτελεσμάτων παράγονται για κάθε πλάκα έκλουσης.

15. Εάν η φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) έχει χρησιμοποιηθεί μόνο μερικώς, σφραγίστε την με τις παρεχόμενες ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης του πρωτοκόλλου για να αποφύγετε την εξάτμιση.

Σημείωση: Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη φύλαξη μερικώς χρησιμοποιημένων φυσίγγων αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC), βλ. την ενότητα «Αποθήκευση και χειρισμός αντιδραστηρίων».

16. Απορρίψτε τα χρησιμοποιημένα σωληνάρια δειγμάτων και τα απόβλητα σύμφωνα με τις εκάστοτε τοπικές διατάξεις ασφαλείας. Για πληροφορίες σχετικά με την ασφάλεια βλ. την ενότητα «Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις».
17. Καθαρίστε το όργανο QIASymphony SP.
Ακολουθήστε τις οδηγίες συντήρησης των οδηγιών χρήσης που συνοδεύουν το όργανο. Τα προστατευτικά ρυγχών πρέπει να καθαρίζονται τακτικά για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου διασταυρούμενης μόλυνσης.
18. Κλείστε τα συρτάρια του οργάνου και απενεργοποιήστε το όργανο QIASymphony SP.

Έλεγχος ποιότητας

Σύμφωνα με το πιστοποιημένο κατά ISO σύστημα διαχείρισης ποιότητας της QIAGEN, ελέγχεται κάθε παρτίδα του kit QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit έναντι προκαθορισμένων προδιαγραφών, για την εξασφάλιση μιας ομοιόμορφης ποιότητας του προϊόντος.

Περιορισμοί

Η απόδοση του συστήματος έχει τεκμηριωθεί σε μελέτες αξιολόγησης της απόδοσης καθαρισμού ccfDNA από πλάσμα που δημιουργήθηκε από ανθρώπινο φλεβικό ολικό αίμα που συλλέχθηκε σε σωληνάριο PAXgene Blood ccfDNA Tube.

Τα χαρακτηριστικά απόδοσης του kit QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit προσδιορίστηκαν με θραύσματα 18S ριβοσώματος και DYS14 χρωμοσώματος Y του ccfDNA στο πλάσμα.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να επαληθεύσει την απόδοση του συστήματος για οποιεσδήποτε διαδικασίες χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο οι οποίες δεν καλύπτονται από τις μελέτες αξιολόγησης της απόδοσης της QIAGEN και της PreAnalytiX.

Για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου αρνητικής επίδρασης στα διαγνωστικά αποτελέσματα, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλοι μάρτυρες για καθοδικές εφαρμογές. Οποιαδήποτε διαγνωστικά αποτελέσματα προκύπτουν πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με άλλα κλινικά ή εργαστηριακά ευρήματα.

Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων

Ο οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων μπορεί να σας βοηθήσει στην επίλυση προβλημάτων που ενδεχομένως προκύψουν. Για πληροφορίες σχετικά με τα στοιχεία επικοινωνίας και για μια λίστα με συχνές ερωτήσεις, επισκεφτείτε τη σελίδα του αντίστοιχου προϊόντος στον ιστότοπο www.PreAnalytiX.com ή www.qiagen.com.

Παρατηρήσεις και προτάσεις	
Γενικά ζητήματα χειρισμού	
a) Μήνυμα σφάλματος στην οθόνη αφής	Εάν εμφανιστεί μήνυμα σφάλματος κατά τη διάρκεια ενός πρωτοκόλλου, ανατρέξτε στα εγχειρίδια χρήσης που συνοδεύουν το όργανο.
b) Διαφοροποιημένος όγκος έκλουσης ύστερα από εκτελέσεις κατά τη διάρκεια της νύχτας	Για τη βελτιστοποίηση της διεκπεραιωτικής ικανότητας, το kit QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit υποστηρίζει την επεξεργασία δειγμάτων κατά τη διάρκεια της νύχτας ψύχοντας τα εκλούσματα στο όργανο QIAasymphony SP. Σε μεγάλες περιόδους ψύξης, οι όγκοι εκλουσμάτων μπορούν να αλλάξουν ανάλογα με τη θερμοκρασία και την υγρασία στο εργαστήριο. Για παράδειγμα, αν ο επιλεγμένος όγκος ήταν 60 μ L σε θερμοκρασία 15–25 °C και υγρασία 30–60% μπορεί να μεταβληθεί σε εύρος 50–85 μ L ύστερα από φύλαξη 12 ωρών πάνω στο όργανο.
Κρυοιζήματα ύστερα από απόψυξη δειγμάτων πλάσματος	
a) Σχηματισμός κρυοιζημάτων στο πλάσμα	Για να αποφύγετε τον σχηματισμό κρυοιζημάτων, το πλάσμα μπορεί να αποψύχεται στους 30 °C για 30 λεπτά αντί για θερμοκρασία δωματίου. Μην αποψύχετε σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (π.χ., 4 °C). Στροβιλίστε το σωληνάριο για 30 δευτερόλεπτα μετά την απόψυξη.
b) Χαμηλή απόδοση ccfDNA από το πλάσμα ύστερα από την απομάκρυνση των κρυοιζημάτων	Μην εκτελείτε φυγοκέντρωση του πλάσματος για την απομάκρυνση των κρυοιζημάτων διότι μπορεί να περιέχουν ccfDNA.
Ανεπαρκής όγκος πλάσματος από σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tubes	
a) Συλλογή αίματος κάτω από 10 mL σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tube	Διασφαλίστε ότι συλλέγεται αίμα 10 mL σε σωληνάρια PAXgene Blood ccfDNA Tube. Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του σωληναρίου PAXgene Blood ccfDNA Tube.
b) Υψηλό κυτταρικό κλάσμα	Το υψηλό επίπεδο κυτταρικού κλάσματος (αιματοκρίτη) στο ανθρώπινο ολικό αίμα (π.χ., άνω του 51% για άνδρες ή του 47% για γυναίκες) μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένους όγκους πλάσματος.

Παρατηρήσεις και προτάσεις	
c) Χαμηλή απόδοση πλάσματος ύστερα από φυγοκέντρωση	Οι μεγαλύτεροι χρόνοι φύλαξης και μεταφοράς αίματος ή διαφορετικές συνθήκες φυγοκέντρωσης από τις καθορισμένες μπορούν να επηρεάσουν τις αποδόσεις πλάσματος.

Ίζημα σε λεκανίδιο ανοιγμένης φύσιγγας αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) στο κιτ QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit

a) Εξάτμιση ρυθμιστικού διαλύματος	Η υπερβολική εξάτμιση μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της συγκέντρωσης άλατος στα ρυθμιστικά διαλύματα. Απορρίψτε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC). Βεβαιωθείτε πως σφραγίζετε τα λεκανίδια ρυθμιστικών διαλυμάτων των μερικώς χρησιμοποιημένων φυσιγγών (Reagent Cartridge, RC) με ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση όταν δεν χρησιμοποιούνται για καθαρισμό.
b) Φύλαξη της φύσιγγας αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC)	Η φύλαξη της φύσιγγας αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) σε θερμοκρασία κάτω από 15 °C μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό ιζημάτων.

Χαμηλή απόδοση ccfDNA

a) Τα μαγνητικά σωματίδια δεν ήταν πλήρως επανεναιωρημένα	Πριν από την έναρξη της διαδικασίας, βεβαιωθείτε πως τα μαγνητικά σωματίδια είναι πλήρως επανεναιωρημένα. Αναδεύστε σε αναδευτήρα vortex για τουλάχιστον 3 λεπτά πριν από τη χρήση. Η ημιτελής επανεναιώρηση ενδέχεται να οδηγήσει σε σφάλματα στη διανομή με πιπέτα.
b) Απόφραξη του ρύγχους πιπέτας λόγω αδιάλυτου υλικού	Το αδιάλυτο υλικό δεν αφαιρέθηκε από το δείγμα πριν από την έναρξη της διαδικασίας καθαρισμού στο όργανο QIASymphony SP.
c) Το υλικό δείγματος περιέχει χαμηλή συγκέντρωση ccfDNA	Λόγω της πολύ χαμηλής ποσότητας ccfDNA στα δείγματα πλάσματος, η μέτρηση της συγκέντρωσης ccfDNA μπορεί να αποδειχθεί δύσκολη ανάλογα με τη μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού που χρησιμοποιείται. Συνιστάται η χρήση ευαίσθητης qPCR για τον έλεγχο της συγκέντρωσης ccfDNA στα εκλούσματα.
d) Ημιτελής επαναπιεματισμός της φύσιγγας αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC)	Η επαφή με την ατμόσφαιρα του περιβάλλοντος ενδέχεται να οδηγήσει σε μειωμένη σταθερότητα των ρυθμιστικών διαλυμάτων και, κατά συνέπεια, σε μειωμένη αποτελεσματικότητα της εκχύλισης ccfDNA με μια μερικώς χρησιμοποιημένη φύσιγγα αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC). Βεβαιωθείτε πως σφραγίζετε προσεκτικά τα λεκανίδια ρυθμιστικών διαλυμάτων των μερικώς χρησιμοποιημένων φυσιγγών (Reagent Cartridge, RC) με ταινίες σφράγισης για επαναληπτική χρήση όταν δεν χρησιμοποιούνται για καθαρισμό.

Χαμηλή απόδοση ccfDNA σε καθοδικές εφαρμογές

a) Συμπυκνωμένο έκλουσμα με φυγοκέντρωση σε κενό	Μην συμπυκνώνετε το έκλουσμα με φυγοκέντρωση σε κενό (π.χ., σε SpeedVac® ή παρεμφερές όργανο). Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε υποβάθμιση λόγω των υψηλών θερμοκρασιών και των συγκεντρωμένων αλάτων στο έκλουσμα και μπορεί να επηρεάσει τις καθοδικές εφαρμογές.
--	---

Παρατηρήσεις και προτάσεις	
b) Επιμόλυνση από σφαιρίδια	Τα μαγνητικά σωματίδια δεν μεταφέρονται γενικά στα εκλούσματα. Σε περίπτωση που προκύψει επιμόλυνση, τα μαγνητικά σωματίδια εντός των εκλουσμάτων δεν επηρεάζουν τις περισσότερες καθοδικές εφαρμογές. Σε περίπτωση που χρειάζονται πολύ υψηλές ποσότητες εκλουσμάτων για συγκεκριμένους καθοδικούς προσδιορισμούς, μπορείτε να φυγοκεντρίσετε τα εκλούσματα και να τα μεταφέρετε σε καθαρό σωληνάριο.
Δεν υπάρχει μεταφορά δειγμάτων ή είναι ημιτελής	
a) Φορτώνεται εσφαλμένος όγκος δείγματος για τυπικά πρωτόκολλα	Αν φορτωθεί λιγότερος όγκος δείγματος από τον καθορισμένο, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος ασαφούς επισήμανσης του δείγματος ή κίνδυνος να μην μεταφερθεί [επισήμανση invalid (μη έγκυρο)]. Φορτώστε τον σωστό όγκο δείγματος όπως περιγράφεται στο αντίστοιχο φύλλο πρωτοκόλλου και τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού.
b) Φυσαλίδες ή/και αφρός στο σωληνάριο δείγματος	Οι φυσαλίδες ή ο αφρός στο δείγμα ή/και στο σωληνάριο εισαγωγής δείγματος ενδέχεται να οδηγήσει σε εσφαλμένη ανίχνευση στάθμης υγρού και, κατά συνέπεια, σε ημιτελή μεταφορά δείγματος. Απομακρύνετε τις φυσαλίδες από το σωληνάριο δείγματος.

Σύμβολα

Τα παρακάτω σύμβολα ενδέχεται να εμφανίζονται στις οδηγίες χρήσης ή στη συσκευασία και την επισήμανση. Για την εξήγηση περισσότερων συμβόλων, βλ. την ενότητα «Περιεχόμενα του kit» (σελίδα 9).

Σύμβολο	Ορισμός συμβόλου
$\Sigma <N>$	Περιέχει αντιδραστήρια που επαρκούν για <N> δοκιμασίες Υποδεικνύει τον συνολικό αριθμό δοκιμασιών IVD που μπορούν να διενεργηθούν με το προϊόν IVD.
	Ημερομηνία λήξης
	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Σήμανση CE. Το προϊόν πληροί τις απαιτήσεις του Ευρωπαϊκού Κανονισμού 2017/746 για τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα.
	Αριθμός καταλόγου
	Αριθμός παρτίδας
	Αριθμός υλικού (δηλ. επισήμανση στοιχείου)
	Στοιχεία (δηλ. κατάλογος περιεχομένων)
	Περιεχόμενο (περιεχόμενα)
	Αριθμός (δηλ. φιαλιδίων, φιαλών)
	Διεθνής κωδικός μονάδων εμπορίας
Rn	Το R αφορά στην αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης (εγχειρίδιο) και το n είναι ο αριθμός αναθεώρησης



Περιορισμός θερμοκρασίας



Κατασκευαστής



Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης



Προσοχή

PROTK

Proteinase K

WELL

Αριθμός βυθίσματος [δηλ. βύθισμα φύσιγγας αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC)]

REAG | **CART**

Φύσιγγα αντιδραστηρίων

Sodium azide

Αζίδιο του νατρίου

EC | **REP**

Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρώπη σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΕ) 2017/746

Παράρτημα: Ποσοτικός προσδιορισμός ccfDNA

Εξαιτίας των πολύ χαμηλών συγκεντρώσεων ccfDNA στα υλικά δείγματος, δεν συνιστάται η μέτρηση DNA με φασματοφωτόμετρο. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ccfDNA θα πρέπει να χρησιμοποιείται ένας ευαίσθητος και ακριβής ποσοτικός προσδιορισμός που βασίζεται σε μέθοδο φθορισμού ή ένας προσδιορισμός real-time PCR.

Αν χρειάζεται να απομακρυνθούν τα μαγνητικά σωματίδια, τοποθετήστε το σωληνάριο που περιέχει το DNA σε έναν κατάλληλο μαγνητικό διαχωριστή (π.χ., QIAGEN 12-Tube Magnet, αρ. κατ. 36912) μέχρι να διαχωριστούν τα μαγνητικά σωματίδια.

Αν το DNA βρίσκεται σε μικροπλάκες, τοποθετήστε τη μικροπλάκα σε έναν κατάλληλο μαγνητικό διαχωριστή (π.χ., QIAGEN 96-Well Magnet Type A, αρ. κατ. 36915) μέχρι να διαχωριστούν τα μαγνητικά σωματίδια. Αν δεν υπάρχει διαθέσιμος κατάλληλος μαγνητικός διαχωριστής, φυγοκεντρίστε το σωληνάριο που περιέχει το DNA για 1 λεπτό σε πλήρη ταχύτητα σε μικροφυγόκεντρο για να δημιουργήσετε ίζημα από τυχόν υπολειπόμενα μαγνητικά σωματίδια.

Πληροφορίες παραγγελιών

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. κατ.
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Περιέχει 2 φύσιγγες αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC), σωληνάρια Proteinase K και παρελκόμενα	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 σωληνάρια: 16 × 100 mm, 1,5 mL προσθετικό, 10 mL όγκος αίματος που λήφθηκε	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	Μονάδα προετοιμασίας δειγμάτων QIASymphony, εγγύηση 1 έτους στα εξαρτήματα και την εργασία	9001297
Σχετικά προϊόντα QIAGEN		
Proteinase K (10 mL)	Φιάλη 1 × 10 mL	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	Θήκη φύσιγγας αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) για χρήση με το όργανο QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym	Προσαρμογέας ψύξης για σωληνάρια 2 mL με βιδωτό καπάκι. Για χρήση στο συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα) του οργάνου QIASymphony SP	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Προσαρμογέας ψύξης για στατώ EMT. Για χρήση στο συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα) του οργάνου QIASymphony SP	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Προσαρμογέας ψύξης για σωληνάρια 1,5 mL της Eppendorf® τύπου LoBind Snap Cap Safe-Lock. Για χρήση στο συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα) του οργάνου QIASymphony SP	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων 8 βυθισμάτων για χρήση με το όργανο QIASymphony SP	997002

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. κατ.
8-Rod Covers (144)	Καλύμματα 8 ράβδων για χρήση με το όργανο QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µL (1024)	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, τοποθετημένα σε στατώ (8 × 128). Για χρήση με τα όργανα QIAcube® και QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024)	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, τοποθετημένα σε στατώ (8 × 128). Για χρήση με το όργανο QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Σακούλες απόρριψης ρυγχών για χρήση με το όργανο QIASymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Μαγνήτης για τον διαχωρισμό μαγνητικών σωματιδίων σε σωληνάρια 12 × 1,5 mL ή 2 mL	36912
96-Well Magnet Type A	Μαγνήτης για τον διαχωρισμό μαγνητικών σωματιδίων σε πλάκες 96 βυθισμάτων, 2 × 96-Well Microplates FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Σετ σφράγισης για επαναληπτική χρήση για τη σφράγιση μερικώς χρησιμοποιημένων φυσιγγών αντιδραστηρίων (Reagent Cartridge, RC) QIASymphony	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Μη αποστειρωμένα σωληνάρια πολυπροπυλενίου (μέγιστης χωρητικότητας 0,85 mL, χωρητικότητας αποθήκευσης κάτω από 0,7 mL, χωρητικότητας έκλουσης 0,4 mL), 2.304 σε στατώ των 96, με σειρές πωμάτων	19588
Caps for Elution Microtubes (50 × 8)	Πώματα για μικροσωληνάρια έκλουσης (50 × 8)	19591
14 mL Falcon Tube	Σωληνάριο από πολυστυρένιο με στρογγυλό πυθμένα 17 × 100 mm που χρησιμοποιείται ως φορέας δειγμάτων από το όργανο QIASymphony SP	Corning, 352051

Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου

Αναθεώρηση	Περιγραφή
R1, Μάιος 2021	Αρχική κυκλοφορία
R2, Μάιος 2022	Αφαιρέθηκε η φράση «(CE-IVD)» σε κάποιες περιπτώσεις. Ενημερώθηκε ο πίνακας περιεχομένων του kit. Συμπεριλήφθηκε η διεύθυνση www.PreAnalytiX.com με τις σχετικές πηγές. Ο όρος «δοκίμια» προσδιορίζει τα «δοκίμια αίματος» στην ενότητα «Πληροφορίες ασφάλειας». Άλλαξε η φράση «Απορρίπτετε τα απόβλητα των δειγμάτων και των προσδιορισμών» σε «Τα βιολογικά επικίνδυνα υλικά και τα απόβλητα των kit πρέπει να απορρίπτονται» στην ενότητα «Πληροφορίες ασφάλειας». Ενημερώθηκαν οι ενότητες «Α) Παρασκευή πλάσματος από αίμα για τυπικά πρωτόκολλα» και «Β) Παρασκευή πλάσματος από αίμα για χειρισμό κύριου σωληναρίου στο όργανο QiAsymphony SP».
R3, Φεβρουάριος 2023	Η διεύθυνση της PreAnalytiX GmbH έχει αλλάξει από «Feldbachstrasse» σε «Garstligweg 8». Ενημέρωση της ενότητας «Προφυλάξεις». Προσθήκη πληροφοριών έκτακτης ανάγκης στην ενότητα «Πληροφορίες ασφάλειας». Διόρθωση αριθμού καταλόγου της Proteinase K (100 mL) στην ενότητα «Πληροφορίες παραγγελιών». Αλλαγές διάταξης και επεξεργασία.

Σημειώσεις

Σημειώσεις



Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας χρήσης και αποποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο αντίστοιχο εγχειρίδιο ή στις οδηγίες χρήσης των κιτ της PreAnalytiX® ή της QIAGEN®. Τα εγχειρίδια των κιτ της PreAnalytiX και της QIAGEN και τα εγχειρίδια χρήστη είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το Τμήμα Τεχνικής Εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό διανομέα.

Για περισσότερες πληροφορίες, επισκεφτείτε τη διεύθυνση: www.PreAnalytiX.com

HB-2866-003 02/2023



A QIAGEN / BD Company