

2023 m. vasaris

Rinkinio „QIASymphony[®] PAXgene[®] Blood ccfDNA Kit“ naudojimo instrukcijos (vadovas)



192

1 versija

Skirta *in vitro* diagnostikai

768566

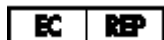


PreAnalytiX GmbH

Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Šveicarija



1130770LT



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, VOKIETIJA

PreAnalytiX Company

PreAnalytiX GmbH

8634 Hombrechtikon

Šveicarija

www.PreAnalytiX.com

Prekių ženklai: „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“ arba jos patrunuojamosios įmonės).

„PreAnalytiX GmbH“, 8634 Hombrechtikon, CH (Šveicarija).

1130770LT HB-2866-003

© 2023 „PreAnalytiX GmbH“. Jei nenurodyta kitaip, „PreAnalytiX“, „PreAnalytiX“ logotipas ir visi kiti prekių ženklai yra „PreAnalytiX GmbH“, Hombrechtikon, CH (Šveicarija), nuosavybė.

Rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ ribotoji licencinė sutartis

Šio produkto naudojimas reiškia, kad rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ pirkėjas arba naudotojas sutinka su toliau nurodytomis sąlygomis.

1. Produktą galima naudoti tik vadovaujantis protokolais, pateiktais su šiuo produktu, šiuo vadovu ir tik su rinkinyje esančiais komponentais. „PreAnalytiX™“ nesuteikia jokios intelektinės nuosavybės licencijos naudoti ar įtraukti pridėtus šio rinkinio komponentus su šiame rinkinyje nepateiktais komponentais, išskyrus aprašytus protokoluose, pateiktuose su šiuo produktu, šiame vadove ir papildomuose protokoluose, kurie pateikti www.qiagen.com ir www.PreAnalytiX.com.
2. Jei aiškiai nenurodyta licencijose, „PreAnalytiX™“ nesuteikia garantijos, kad šis rinkinys ir (arba) jo naudojimas nepažeis trečiųjų šalių teisių.
3. Eksploataciniams reikmenims ir jų komponentams suteikta licencija naudoti vieną kartą; pakartotinai naudoti, atnaujinti ar perparduoti negalima.
4. „PreAnalytiX™“ aiškiai atsisako bet kokių kitų išreikštų ar numanomų licencijų, išskyrus aiškiai nurodytas licencijas.
5. Rinkinio pirkėjas ir naudotojas sutinka nesiimti ir neleisti niekam kitam imtis veiksmų, kurie galėtų paskatinti arba palengvinti viršuje nurodytus draudžiamus veiksmus. „PreAnalytiX™“ gali įgyvendinti šioje Ribotoje licencinėje sutartyje nurodytų neteisėtų veiksmų draudimus bet kuriame teisme ir atgauti visas tyrimo ir teismo išlaidas, įskaitant išlaidas advokatams, pateikusi ieškinį dėl šios Ribotosios licencinės sutarties vykdymo arba su šiuo rinkiniu ir (arba) jo komponentais susijusių teisių į savo intelektinę nuosavybę.

Atnaujintas licencijos sąlygas žr. www.qiagen.com ir www.PreAnalytiX.com.

„PreAnalytiX™“ platintojai

„PreAnalytiX™“ produktus gamina ir platina QIAGEN ir BD įmonės, atstovaudamos „PreAnalytiX™“.

Turinys

Turinys.....	3
Numatytoji paskirtis.....	5
Numatytasis naudotojas.....	5
Aprašymas ir veikimo Principas	6
Santrauka ir paaiškinimas	6
Procedūros principai	7
Pateikiamos medžiagos.....	9
Rinkinio turinys	9
Būtinios, bet nepateikiamos priemonės.....	10
Įranga	10
Įspėjimai ir atsargumo priemonės.....	11
Saugos informacija	11
Atsargumo priemonės.....	12
Reagentų laikymas ir naudojimas.....	14
Rinkinio komponentai	14
Mėginių paėmimas ir paruošimas.....	16
Procedūra	20
Apžvalga: Automatinis ccfDNR gryninimas naudojant „QIASymphony SP“ instrumentą	20
Protokolo apžvalga.....	25
Protokolas: automatinis ccfDNR gryninimas naudojant „QIASymphony SP“ instrumentą	28

Kokybės kontrolė	32
Apribojimai.....	32
Trikčių šalinimo vadovas	33
Simboliai	35
Priedas: ccfDNR kiekybinis nustatymas.....	37
Užsakymo informacija	38
Dokumento peržiūrų istorija	40

Numatytoji paskirtis

Rinkinys „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“, naudojamas su „QIASymphony SP“ instrumentu, skirtas cirkuliuojančios neląstelinės DNR (ccfDNR) automatiniam išskyrimui ir išgryninimui iš plazmos, gautos iš žmogaus viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“.

Rinkinyje „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ naudojama magnetinių dalelių technologija, skirta automatiniam ccfDNR išskyrimui ir išgryninimui žmogaus plazmoje.

„QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ skirtas *in vitro* diagnostikai ir jį gali naudoti tik specialistai, pavyzdžiui, technikai ir gydytojai, susipažinę su molekulinės biologijos metodais.

Numatytasis naudotojas

Šis rinkinys skirtas profesionaliam naudojimui.

Produktą turi naudoti tik personalas, specialiai instrukuotas ir išmokytas naudoti molekulinės biologijos metodus ir susipažinęs su šia technologija.

Aprašymas ir veikimo Principas

Santrauka ir paaiškinimas

Cirkuliuojanti neląstelinė DNR (ccfDNR) plazmoje paprastai sutinkama trumpų fragmentų (<1000 bp) pavidalu. ccfDNR koncentracija plazmoje įprastai yra nedidelė (gali svyruoti nuo 1 iki 100 ng/ml) ir labai skiriasi įvairių žmonių atveju. CE ženklui pažymėtas „PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube“ kartu su rinkiniu „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ naudojami standartizuotoje darbo eigoje, vykdomoje norint surinkti, laikyti ir gabenti kraują, stabilizuoti DNR uždarytame mėgintuvėlyje ir atlikti tolesnį ccfDNR išskyrimą ir išgryninimą žmogaus plazmoje naudojant „QIAGEN® QIASymphony SP“ instrumentą.

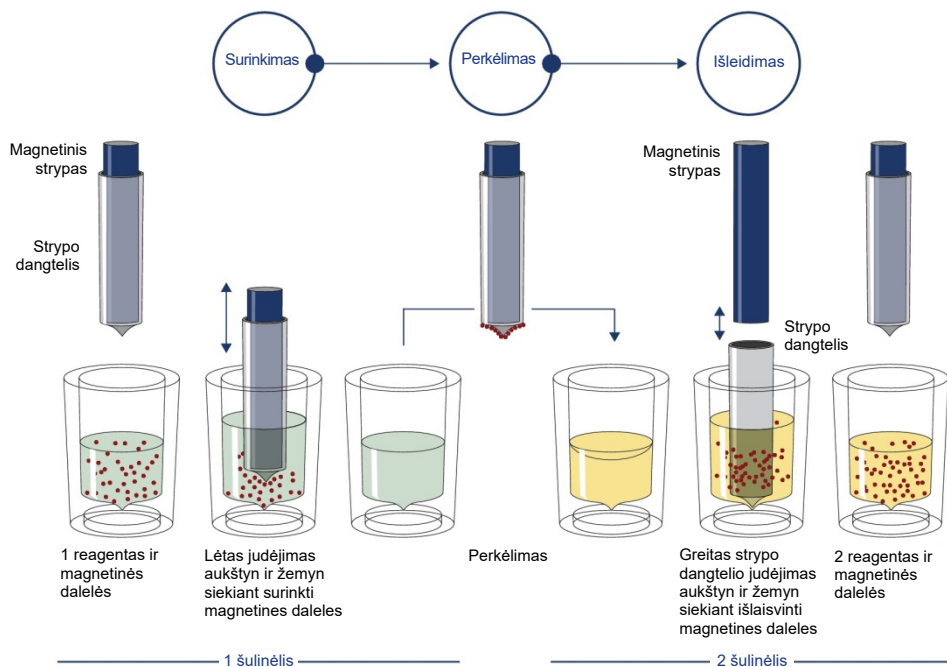
Pateikti „QIASymphony SP“ protokolai yra skirti ccfDNR išskirti iš 2,4 ir 4,8 ml plazmos, sugeneruotos mėgintuvėliuose „PAXgene Blood ccfDNA Tube“, atlikus dvigubą centrifugavimą. Plazma perkeliama ir apdorojama antriniame „QIASymphony SP“ instrumento mėgintuvėlyje.

Naudojant 2,4 ir 4 ml tūrio plazmos įvestis, taip pat galima pasirinkti „QIASymphony SP“ instrumento pirminio mėgintuvėlio tvarkymo protokolus. Tokiu atveju nereikia atlikti antrojo centrifugavimo etapo arba perkelti plazmą į antrinį mėgintuvėlį.

Rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ magnetinių dalelių technologija leidžia išgryninti aukštos kokybės ccfDNR, kurioje nėra baltymų, nukleazų ir kitų priemaišų. „QIASymphony SP“ instrumentas atlieka visus gryninimo procedūros veiksmus. Vienu ciklu galima apdoroti iki 96 mėginių, suskirstytų partijomis po 24. Norėdami išskirti genominę DNR (gDNR) iš branduolėtos kraujo ląstelių frakcijos, surinktos į mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ naudojant „QIASymphony SP“ instrumentą, žr. nurodymus, pateiktus mėgintuvėlio „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ naudojimo instrukcijose (**www.PreAnalytiX.com**).

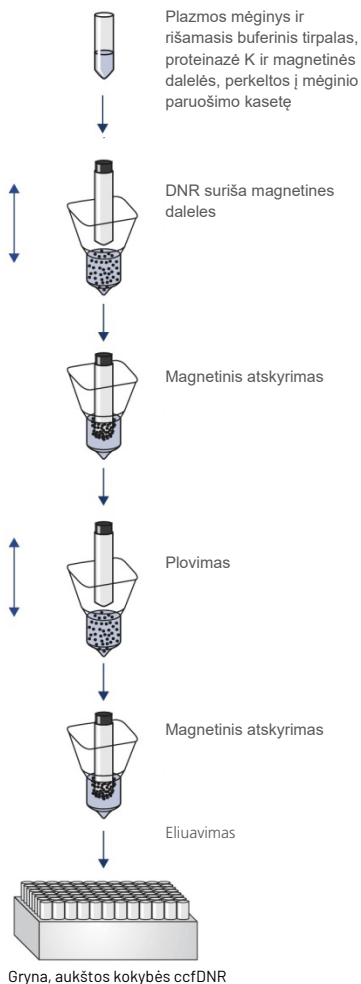
Procedūros principai

„QIAasymphony SP“ instrumento technologija suderina anijonų mainų pagrindu atliekamo nukleorūgščių gryninimo greitį ir efektyvumą su patogiu magnetinių dalelių naudojimu (1 pav.). Gryninimo procedūra sukurta taip, kad užtikrintų saugų ir atkuriamą potencialiai užkrečiamų mėginių naudojimą, ji apima 3 etapus: surišimą, plovimą ir eliuavimą (2 pav.). Naudotojai gali rinktis skirtingus mėginio įvesties tūrius.



1 pav. „QIAasymphony SP“ instrumento principo schema. „QIAasymphony SP“ instrumentas mėginį, kuriame yra magnetinių dalelių, apdoroja tokiu būdu: dangteliu apsaugotas magnetinis strypas įdedamas į šulinėlį su mėginiu ir pritraukia magnetines daleles. Magnetinio strypo dangtelis nustatomas virš kito šulinėlio ir magnetinės dalelės paleidžiamos. Apdorojant mėginius, šie veiksmai kartojami kelis kartus. „QIAasymphony SP“ instrumentas naudoja magnetinę galvutę, kurioje yra 24 magnetinių strypų rinkinys, taigi vienu metu galima apdoroti iki 24 mėginių.

„QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“



2 pav. ccfDNR išskyrimo veiksmi naudojamą rinkinį „QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“. ccfDNR fragmentai yra išskirti iš plazmos, gautos iš žmogaus viso veninio kraujo, surinkto mėgintuvėlyje „PAXgene Blood ccfDNA Tube“. Pirmajame apdorojimo etape plazmos baltymus virškina proteinazė K ir ccfDNR prisijungia prie magnetinių dalelių paviršiaus. Norint užtikrinti, kad teršalai būtų pašalinti, reikia atlikti tris plovimo veiksmus. Galiausiai ccfDNA išplaunama iš magnetinių dalelių ir yra paruošta naudoti tolesniuose veiksmuose.

Pateikiamos medžiagos

Rinkinio turinys

„QIAsymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ (CE-IVD) Katalogo Nr. Reakcijų skaičius		(192) 768566 192		
Santrumpa	Identifikatorius	Kiekis	Veikliosios medžiagos	Koncentracija [%]**
RC	Reagent cartridge (Reagentų kasetė) [†]	2	Nejoninis ploviklis Anijonų mainų magnetinė dalelė NaOH Etanolis	≥0,5 – <10 [w/w] – ≥0,05 – <0,1 [w/w] ≥70 – <90 [v/v]
PROTK	Proteinase K (Proteinazė K) [†]	5 × 10 ml	Proteinazė K	≥1 – <3 [w/w]
PL	„Piercing lid“ (pradūrimo dangtelis)	2	–	–
RSS	„Reuse Seal Set“ [†]	2	–	–
	Elution Microtubes CL, racked („Elution Microtubes CL“ stovelyje) [‡]	2	–	–
	„Caps for Elution Microtubes“ (eliuavimo mikromėgintuvėlių dangteliai) [‡]	1 × (55 × 8)	–	–
	Naudojimo instrukcijos (vadovas)	1	–	–
	„PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool“	1	–	–

* Sudėtyje yra konservanto natrio azido.

[†] Simbolių sąrašą ir apibrėžimus žr. 35 psl.

[‡] Sandarinimo pakartotinai naudojant rinkinyje „Reuse Seal Set“ yra 8 sandarinimo pakartotinai naudojant juostelės.

[#] Taip pat siūloma įsigyti atskirai, žr. Užsakymo informacija.

** Didžiausia koncentracija viename šulinėlyje.

Būtinios, bet nepateikiamos priemonės

Dirbdami su cheminėmis medžiagomis ir biologiniais mėginiais, visada laikykitės visuotinių atsargumo priemonių ir dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, vienkartinės pirštines ir apsauginius akinius pagal savo įstaigos politiką ir procedūras. Daugiau informacijos žr. atitinkamuose saugos duomenų lapuose (SDL), juos galite gauti iš produkto tiekėjo.

Įsitikinkite, kad visi instrumentai patikrinti ir sukalibruoti pagal gamintojo rekomendacijas.

- „Sample Prep Cartridges, 8-well“ (QIAGEN, kat. nr. 997002)
- „8-Rod Covers“ (QIAGEN, kat. nr. 997004)
- „Filter-Tips, 200 µl“ ir „1 500 µl“ (QIAGEN, kat. Nr. 990332 ir 997024, atitinkamai)
- „Tip Disposal Bags“ (QIAGEN, kat. nr. 9013395)
- „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD) („PreAnalytiX“, kat. nr. 768165)
- Mėginių mėgintuvėliai. Norėdami sužinoti suderinamus pirminio ir antrinio mėgintuvėlių formatus, žr. laboratorinių reikmenų sąrašą, kurį atitinkamai rasite svetainėse www.qiagen.com ir www.PreAnalytiX.com pateiktuose produktų puslapių skirtukuose „Product Resources“ (produktų išteklių) ir „Resources“ (išteklių).
- Norėdami sužinoti suderinamus eliuavimo mėgintuvėlių formatus, žr. laboratorinių reikmenų sąrašą, kurį atitinkamai rasite svetainėse www.qiagen.com ir www.PreAnalytiX.com pateiktuose produktų puslapių skirtukuose „Product Resources“ (produktų išteklių) ir „Resources“ (išteklių).

Įranga*

- Pipetė (5 ml)
- „QIASymphony SP“ instrumentas (QIAGEN, kat. nr. 9001297)

* Prieš naudodami įsitikinkite, kad visi instrumentai patikrinti ir sukalibruoti pagal gamintojo rekomendacijas.

Įspėjimai ir atsargumo priemonės

Skirta *in vitro* diagnostikai.

Prieš naudodami rinkinį, atidžiai perskaitykite visas instrukcijas.

Europos Sąjungoje esantys klientai turėtų atminti, kad apie rimtus su šiuo prietaisu susijusius incidentus reikia pranešti gamintojui ir valstybės narės, kurioje yra naudotojas ir (arba) pacientas, kompetentingai institucijai.

Saugos informacija

Dirbdami su cheminėmis medžiagomis ir biologiniais mėginiais, visada laikykitės visuotinių atsargumo priemonių ir dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, vienkartinės pirštines ir apsauginius akinius pagal savo įstaigos politiką ir procedūras. Daugiau informacijos rasite atitinkamuose saugos duomenų lapuose (SDL). Jie pateikiami PDF formatu internete www.qiagen.com/safety – čia galite rasti, peržiūrėti ir išspausdinti kiekvieno „PreAnalytiX“ rinkinio ir jų komponentų SDL.

- Visos cheminės ir biologinės medžiagos yra potencialiai pavojingos. Kraujo mėginiai yra potencialiai užkrečiami ir turi būti naudojami kaip biologiškai pavojingos medžiagos.
- Biologiškai pavojingas medžiagas ir rinkinio atliekas išmeskite laikydamiesi vietinių saugos procedūrų.

Skubios pagalbos telefono numeriai

CHEMTREC

JAV ir Kanada: 1-800-424-9300

Už JAV ir Kanados ribų: +1 703-527-3887

Atsargumo priemonės

Reagento kasetėje („Reagent Cartridge“, RC) esančiuose buferiniuose tirpaluose yra natrio azido. Jei rinkinio buferiniai tirpalai išliejami, valykite tinkamu laboratoriniu plovikliu ir vandeniu. Jei išlietame skystyje yra potencialiai užkrečiamų medžiagų, atitinkamą vietą iš pradžių nuvalykite laboratoriniu plovikliu ir vandeniu, o tada 1 % (v/v) natrio hipochloritu (chlorkalkėmis).

Rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ komponentams taikomi toliau nurodyti pavojingumo ir atsargumo teiginiai.

MBS3

Sudėtyje yra: natrio azido. Įspėjimas! Gali būti kenksminga prarijus. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

Proteinazė K



Sudėtyje yra: proteinazės K. Pavojus! Nestipriai dirgina odą. Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsunkinti kvėpavimą. Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerosolio. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones. Naudoti kvėpavimo takų apsaugos priemones. Esant sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: skambinti į apsinuodijimų kontrolės ir informacijos biurą arba kreiptis į gydytoją. Išneškite nukentėjusį į gryną orą; jam būtina ramybė ir padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti.

QSE2



Sudėtyje yra: natrio hidroksido. Pavojus! Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. Turinį / talpyklą perduoti patvirtintai atliekų utilizavimo įmonei. **Patekus į akis:** atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. **Patekus ant odos (arba plaukų):** nedelsiant nuvilkti / pašalinti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu / čiurkšle. Nedelsiant skambinti į apsinuodijimų kontrolės ir informacijos biurą arba kreiptis į gydytoją. Laikyti užrakintą. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

QSW9



Sudėtyje yra: etanolio. Pavojus! Labai degūs skystis ir garai. Sukelia smarkų akių dirginimą. Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / žiežirbų / atviros liepsnos / karštų paviršių. Nerūkyti. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

Reagentų laikymas ir naudojimas

Rinkinį „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ reikia laikyti vertikaliajje padėtyje, kambario temperatūroje (15–25 °C). Magnetinės dalelės reagentų kasetėse („Reagent Cartridge“, RC) lieka aktyvios laikant šiame temperatūros diapazone.

Pastaba. Rinkinio galiojimo pabaigos data nurodyta etiketėje ant rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ dėžutės. Galiojimo pabaigos data taikoma reagentų kasetei.

Nenaudokite rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ pasibaigus galiojimo laikui.

Rinkinio komponentai

Rinkinyje „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ yra paruošto naudoti proteinizės K tirpalo, kurį galima laikyti kambario temperatūroje (15–25 °C).

Nelaikykite RC žemesnėje nei 15 °C temperatūroje.

Atidarytos rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ RC gali būti laikomos kambario temperatūroje (15–25 °C) iki 4 savaičių, taigi galima taupiai pakartotinai naudoti reagentus ir patogiau apdoroti mėginius, jei po naudojimo pakuotė tinkamai užsandarinama. Jei RC sunaudojama ne visa, vėl uždėkite lovelio su magnetinėmis dalelėmis dangtelį ir užsandarinkite RC pateiktomis sandarinimo pakartotinai naudojant juostelėmis iš karto po protokolo vykdymo pabaigos, kad išvengtumėte garavimo.

Siekiant išvengti reagentų garavimo, RC turėtų būti atidaryta ne ilgiau kaip 15 valandų (įskaitant apdorojimo trukmę) ne aukštesnėje kaip 32 °C aplinkos temperatūroje. Netinkamas rinkinio komponentų laikymas gali paspartinti buferinių tirpalų senėjimą.

Apdorojant partijas, kuriose yra maži mėginių (< 24), RC bus atidaryta ilgiau ir padidės reikiami buferinių tirpalų tūriai, todėl gali sumažėti bendrasis mėginių ruošimų naudojant vieną kasetę skaičius.

Saugokite RC nuo UV šviesos (pvz., naudojamos dezinfekuoti), nes jos poveikis gali paspartinti RC ir buferinių tirpalų senėjimą.

Reikia atkreipti dėmesį į galiojimo pabaigos datas, išspausdintas ant dėžutės ir visų komponentų etikečių. Pasibaigus tinkamumo laikui, komponentų naudoti negalima.

Mėginių paėmimas ir paruošimas

Gryninimo procedūra optimizuota naudoti su plazma, gauta iš viso kraujo, paimto į mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“. Norėdami gauti informacijos apie kraujo paėmimą, šių mėgintuvėlių naudojimą ir plazmos paruošimą, žr. „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ naudojimo instrukcijas, kurias atitinkamai rasite svetainėse www.qiagen.com ir www.PreAnalytiX.com pateiktuose produktų puslapių skirtukuose „Product Resources“ (produktų ištekliai) ir „Resources“ (ištekliai).

Paruošti plazmą galima naudojant (A) standartinį dvigubo centrifugavimo protokolą arba (B) naudojant pirminį mėgintuvėlį: tiesioginis vieną kartą centrifuguotų mėgintuvėlių „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ apdorojimas „QIASymphony SP“ instrumente.

A) Plazmos paruošimas iš kraujo, taikant standartinius protokolus

1. Centrifuguokite mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ kambario temperatūroje (15–25 °C) 15 minučių 1 600–3 000 × g greičiu (pirmas centrifugavimas), naudodami subalansuotą kintamojo kampo centrifugos rotorių. Jei pageidaujama naudoti stabdymą, rekomenduojama taikyti vidutinio lygio stabdymą ir jis turi būti patvirtintas konkrečiai darbo eigai.

Pastaba. Siekdami užtikrinti geriausius rezultatus, prieš centrifuguodami šaldytuve laikytus mėginius, išmaišykite mėginį apversdami tris kartus ir leiskite mėgintuvėliams sušilti iki kambario temperatūros.

2. Pipete perkeltite plazmą į 15 ml centrifugavimo mėgintuvėlį kūgio formos dugnu (nepateikiamas), nesujudindami branduolėtos ląstelių frakcijos.
3. Centrifuguokite 15 ml centrifugavimo mėgintuvėlį kūgio formos dugnu kambario temperatūroje (15–25 °C) 10 minučių 1 600–3 000 × g greičiu (antras centrifugavimas), naudodami subalansuotą centrifugą.

Pastaba. Neviršykite antrinio mėgintuvėlio gamintojo didžiausio rekomenduojamo centrifugavimo greičio.

4. Pipete perkelkite reikiamą plazmos tūrį (žr. skyrių „Mėginio tūris“, 20 p.) į 14 ml, 17 × 100 mm polistireno mėgintuvėlį apvaliu dugnu, nesujudindami, jei yra, likusių kraujo ląstelių granulių.
5. Mėgintuvėlį apvaliu dugnu su plazmos mėginiu perkelkite į mėgintuvėlių laikiklį ir įdėkite mėgintuvėlių laikiklį į „QIASymphony SP“ instrumento mėginių stalčių.

Pastaba. Norėdami gauti didžiausią ccfDNR išėigą, apdorokite didžiausią turimą plazmos tūrį.

Pastaba. Saugokitės, kad lašinant pipete plazmos mėginiuose ar ant jų paviršiaus nesusidarytų putų. Dėl putų arba oro burbuliukų mėginiuose gali būti įsiurbtas klaidingas mėginio tūris.

Pastaba. Po plazmos perkėlimo į antrinį mėgintuvėlį ccfDNR išlieka stabili plazmoje 15–25 °C temperatūroje iki 3 dienų arba 2–8 °C temperatūroje iki 7 dienų. Jei reikia laikyti ilgiau, rekomenduojame užšaldyti alikvotines dalis –20 °C arba –80 °C temperatūroje.

Pastaba. Naudojant anksčiau laikytus plazmos mėginius (pvz., laikytus 2–8 °C arba užšaldytus –20 °C arba –80 °C temperatūroje), prieš pradėdant tyrimą, juos reikia palikti sušilti iki kambario temperatūros (15–25 °C); informacijos apie užšaldytus mėginius žr. skyriuje „C) Plazmos mėginių, apdorotų iš mėgintuvėlio „PAXgene Blood ccfDNA Tube“, užšaldymas ir atšildymas“.

B) Plazmos paruošimas iš kraujo, naudojant pirminiame mėgintuvėlyje „QIASymphony SP“ instrumente

1. Centrifuguokite mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ kambario temperatūroje (15–25 °C) 15 minučių $3\ 000 \times g$, naudodami subalansuotą kintamojo kampo centrifugos rotorį. Jei pageidaujama naudoti stabdymą, rekomenduojama taikyti vidutinio lygio stabdymą ir jis turi būti patvirtintas konkrečiai darbo eigai.

Pastaba. Siekdami užtikrinti geriausius rezultatus, prieš centrifuguodami šaldytuve laikytus mėginius, išmaišykite mėginį apversdami tris kartus ir leiskite mėgintuvėliams sušilti iki kambario temperatūros.

2. Išėmę iš centrifugos rotoriaus, nustatykite plazmos tūrį kiekviename mėgintuvėlyje naudodami įrankį „PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool“, pateiktą rinkinyje (3 pav.). Išėmus mėgintuvėlį iš centrifugos, tamsiai mėlyna įrankio rodyklė sulygiuojama ties plazmos / ląstelių sandūra. Mėlynos linijos rodo, ar plazmos lygis pakankamas norint taikyti 2,4 arba 4,0 ml pirminio mėgintuvėlio naudojimo protokolą. Norint naudoti 2,4 ml protokolą, plazmos stulpelis turi būti mažiausiai 2,3 cm aukščio, o norint naudoti 4,0 ml protokolą – mažiausiai 3,4 cm aukščio.

Pastaba. Jeigu plazmos ir ląstelių frakcija aiškiai neatsiskyrė arba fazės buvo netyčia sumaišytos išimant iš centrifugos, centrifugavimą reikia pakartoti.

Pastaba. Prieš įdėdami mėgintuvėlį į instrumentą, patikrinkite, ar nėra aiškaus atskyrimo.

3. Išskirdami ccfDNR tiesiogiai, prieš įdėdami į „QIASymphony SP“ instrumentą, nuimkite „Hemogard“ dangtelį nuo mėgintuvėlių „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“.

Pastaba. Nuimant mėgintuvėlio dangtelį ir tvarkant atidengtus mėgintuvėlius reikia elgtis atsargiai, kad galima būtų sumažinti mėginio išsiliejimo, kryžminio užteršimo tarp mėgintuvėlių ir sąlyčio su krauju riziką.

4. Atidengtus mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ su pakankamu plazmos kiekiu įstatykite į mėgintuvėlių laikiklį ir įdėkite mėgintuvėlių laikiklį į „QIASymphony SP“ instrumento mėginių stalčių.

C) Plazmos mėginių, apdorotų iš mėgintuvėlio „PAXgene Blood ccfDNA Tube“, užšaldymas ir atšildymas

1. Norėdami užšaldyti, perkeltkite plazmą į tinkamus mėgintuvėlius (pvz., į kriogeninius buteliukus), įdėtus į atitinkamą stovą.
2. Užšaldykite ir laikykite plazmą -20°C temperatūroje. Jei norite laikyti žemesnėje nei -20°C temperatūroje, plazmos mėginius pirmiausia užšaldykite -20°C temperatūroje bent 24 val., tada perkeltkite į -80°C temperatūrą.

3. Atšildykite plazmą kambario temperatūroje ($15\text{--}25^{\circ}\text{C}$).

Pastaba. Neatšildykite žemoje temperatūroje (pvz., 4°C).

4. Jei plazmoje susidaro krioprecipitatai, po atšildymo sukuriniu maišytuvu 30 sek. maišykite mėgintuvėlį ir naudokite mėginį „QIASymphony SP“ instrumentu atliekamai ccfDNR išskyrimo procedūrai be tolesnio apdorojimo.

Pastaba. Nerekomenduojama centrifuguoti plazmos krioprecipitatams pašalinti, nes juose gali būti ccfDNR.

Pastaba. Kad nesusidarytų krioprecipitatai, plazmą galima 30 min. atšildyti 30°C temperatūroje, o ne kambario temperatūroje.

Procedūra

Apžvalga: Automatinis ccfDNR gryninimas naudojant „QIASymphony SP“ instrumentą

„QIASymphony SP“ instrumentas suteikia galimybę lengvai ir patogiai automatiškai paruošti mėginį. Mėginiai, reagentai, eksploataciniai reikmenys ir eliuatai atskirai laikomi skirtinguose stalčiuose. Prieš apdorojant tereikia į reikiamus stalčius įdėti mėginius, į specialias kasetes sudėtus reagentus ir į stovėlį sudėtus eksploatacinius reikmenis. Paleiskite protokolą, o kai apdorojimas baigsis, išimkite išgrynintą ccfDNR iš stalčiaus „Euate“ (eliuatas). Darbo instrukcijas žr. su instrumentu pateiktuose naudotojo vadovuose.

Pastaba. Pasirinktinei techninei priežiūrai nėra būtina, kad instrumentas veiktų, bet primygtinai rekomenduojama ją atlikti ir taip sumažinti užkrėtimo pavojų.

Mėginio tūris

Siekiant užtikrinti, kad įprastos darbo eigos metu instrumentas perkeltų 2,4 ml („PAXcircDNA_2400“ protokolas) ir 4,8 ml mėginius („PAXcircDNA_4800“ protokolas), reikalingas atitinkamai 0,4 ir 0,5 ml neveikos tūris, t. y. reikia įdėti atitinkamai mažiausiai 2,8 ir 5,3 ml mėginio. Jeigu turimas plazmos tūris mažesnis nei 2,8 arba 5,3 ml, integruotasis protokolo režimas **Less Sample** (mažesnis mėginys) automatiškai leidžia perkelti mažesnius, nei nurodyti, plazmos tūrius. Tokiu atveju instrumentas perkelia mažesnį mėginio kiekį. Pipete įlašinto plazmos tūrio skirtumas bus įrašytas į rezultatų failą. Be to, atitinkami mėginiai pažymimi kaip **neaiškūs** (klaidos kodas 140043, režimas **Enable Less Sample** (įgalinti mažesnį mėginį). Mažiausias plazmos įvesties tūris, kad būtų galima įgalinti režimą **Less Sample** (mažesnis mėginys), yra 1,6 ir 4,1 ml. Mėginiai nebus apdorojami ir bus pažymėti kaip **netinkami**, jeigu bus perkeltas mažesnis mėginio tūris. Pirminio mėgintuvėlio tvarkymo darbo eigos metu tinkamas mėginio tūris užtikrinamas naudojant protokolo pasirinkimo įrankį „PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool“, kuris pateikiamas rinkinyje (aprašytas skyriuje „Mėginio medžiagos paruošimas“, 24 p.).

RC įdėjimas į „Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčių

ccfDNR gryninimo reagentai pateikiami naujoviškoje reagentų kasetėje („Reagent Cartridge“, RC) (3 pav.). Kiekviename RC lovelyje yra tam tikro reagento, pavyzdžiui, magnetinių dalelių, rišamojo buferinio tirpalo, plovimo buferinio tirpalo arba eliuavimo buferinio tirpalo. Panaudotas RC galima uždaryti naudojant sandarinimo pakartotinai naudojant sandarinimo pakartotinai naudojant juosteles ir naudoti vėliau, taip išvengiama atliekų susidarymo dėl reagentų likučių gryninimo procedūros pabaigoje.



3 pav. „QIASymphony“ reagentų kasetė („Reagent Cartridge“, RC). RC yra visi protokolui vykdyti reikalingi reagentai.

Prieš pradėdami procedūrą įsitikinkite, kad magnetinės dalelės visiškai suspenduotos. Prieš naudodami pirmą kartą, išimkite magnetinių dalelių lovelį iš RC rėmelio, smarkiai purtykite jį bent 3 min vėl įdėkite į RC rėmelį.

Pastaba. Magnetinių dalelių spalva gali pasikeisti. Tai neturi įtakos rezultatams.

Įdėkite RC į RC laikiklį. Prieš pirmą kartą naudodami RC, padėkite pradūrimo dangtelį ant RC viršaus (3 pav.).

Pastaba. Pradūrimo dangtelis yra aštrus. Dėdami jį ant RC būkite atsargūs.

Įsitikinkite, kad pradūrimo dangtelį ant RC padėjote tinkamai atsukę.

Kai nuimamas magnetinių dalelių lovelio dangtelis, RC įdedama į „Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčių.

Iš dalies panaudotas RC galima laikyti, kol jų vėl prireiks (žr. „Reagentų laikymas ir naudojimas“, 14 psl.).

Pastaba. Reikia pridėti proteinazės K (žr. „Ką reikia atlikti prieš pradėdant“, 26 p.).

Pastaba. Įsitikinkite, kad RC, magnetinių dalelių loveliai ir proteinazės K buteliukai nėra imami iš skirtingų rinkinių partijų.

Plastikinių reikmenų įdėjimas į „Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčių

Mėginių paruošimo kasetės, „8-Rod Covers“ (sudėti į dėžutes) ir vienkartiniai „Filter-Tips“ (200 µl antgaliai mėlynuose stoveliuose, 1500 µl antgaliai juoduose stoveliuose) dedami į „Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčių.

Pastaba. Prieš dėdami elementų dėžutes į „Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčių įsitikinkite, kad nuimti dėžučių dangteliai.

Pastaba. Antgaliuose yra filtrai, padedantys išvengti kryžminio užkrėtimo.

Į antgalių stovelių lizdus „QIASymphony SP“ instrumento darbo stadijoje galima dėti abiejų tipų stovelius. „QIASymphony SP“ instrumentas nustatys įdėtų antgalių tipą nuskaitydamas atsargas.

Pastaba. Kasečių „Sample Prep Cartridges“ arba dangtelių „8-Rod Covers“ antgalių stovelius ar dėžutes pildykite tik pradėdami kitą protokolo vykdymą. „QIASymphony SP“ instrumente galima naudoti panaudotus antgalių stovelius ir dėžutes.

Plastikinių reikmenų užsakymo informaciją žr. 38 psl.

„Waste“ (atliekų) stalčiaus pildymas

Apdorojant naudojamos kasetės „Sample Prep Cartridges“ ir dangteliai „8-Rod Covers“ iš naujo sudedami į tuščias dėžutes „Waste“ (atliekų) stalčiuje. Įsitikinkite, kad „Waste“ (atliekų) stalčiuje pakanka tuščių dėžučių plastikinėms atliekoms, susidarantioms vykdant protokolą.

Pastaba. Prieš dėdami elementų dėžutes į „Waste“ (atliekų) stalčių įsitikinkite, kad nuimti dėžučių dangteliai. Jei išnaudotoms kasetėms „Sample Prep Cartridges“ ir dangteliams „8-Rod Covers“ rinkti naudojate dangtelių „8-Rod Covers“ dėžutes, išimkite dėžutės tarpiklį.

Filtrų antgaliams „Filter-Tips“ naudojamą maišelį reikia pritvirtinti priekinėje „Waste“ (atliekų) stalčiaus pusėje.

Pastaba. Sistema netikrina, ar antgalių išmetimo maišelis pritvirtintas. Būtinai tinkamai pritvirtinkite antgalių maišelį prieš pradėdami vykdyti protokolą. Daugiau informacijos žr. su instrumentu pateiktuose naudotojo vadovuose. Kad išvengtumėte antgalių kamščių, ištuštinkite antgalių maišelį apdorojant ne daugiau kaip 96 mėginius.

Atliekų talpykloje surenkamos skystos atliekos, susidarančios per gryninimo procedūrą. „Waste“ (atliekų) stalčių galima uždaryti tik įdėjus atliekų talpyklą į jos vietą. Skystas atliekas utilizuokite vadovaudamiesi vietinėmis saugos ir aplinkos apsaugos taisyklėmis. Neapdorokite užpildyto atliekų buteliuko autoklave. Išpilkite atliekų buteliuką apdoroję ne daugiau kaip 96 mėginius.

„Eluate“ (eliuato) stalčiaus pildymas

Įdėkite reikiamą eliuavimo stovėlį į „Eluate“ (eliuato) stalčių. Ilgai „Eluate“ (eliuato) stalčiuje laikomi eliuatai gali išgaruoti arba kondensuotis, todėl reikia naudoti aušinimo padėtį. Naudokite tik lizdą „Elution slot 1“ (1 eliuavimo lizdas) su atitinkamu aušinimo adapteriu.

Pasirinktas eliuavimo tūris (μl)*	Pradinis eliuavimo tūris (μl) [†]
60	75

* Tai yra mažiausias pasiekiamas eliuato tūris paskutiniame eliuavimo mėgintuvėlyje, naudojant QIAGEN EMT stovėlį (kat. nr. 19588) ir 1,5 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlius su užsukamais kamšteliais (kat. nr. 72.607). Atskirais atvejais atskiro mėginio galutinis eliuato tūris gali būti iki 5 μl mažesnis.

[†] Pradinis eliuavimo buferinio tirpalo tūris yra reikalingas tam, kad faktinis eliuato tūris sutaptu su pasirinktu tūriu.

Atsargų nuskaitymas

Prieš pradėdamas procedūrą prietaisas tikrina, ar į atitinkamus stalčius įdėta tiek eksploatacinių reikmenų, kiek reikia suplanuotai (-oms) partijai (-oms).

Mėginio medžiagos paruošimas

Žr. „Mėginių paėmimas ir paruošimas“, 16 psl.

ccfDNR laikymas

Paruošus mėginį, ccfDNR eliuatai gali būti laikomi -20 arba -80 °C temperatūroje. Užšaldytų eliuatų negalima atšildyti daugiau nei tris kartus. Naujausią informaciją apie ccfDNR stabilumą eliuatuose rasite produkto puslapyje www.qiagen.com arba www.PreAnalytiX.com.

Protokolo apžvalga

1 lentelė. Protokolo apžvalga

Mėginys	Mėgintuvėlio „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ apdorojimas	Mėginio įvesties tūris (jšk. neveikos tūrį) (ml)	ccfDNR išskirti naudojamas mėginio tūris (ml)	Eliuavimo tūris (μl)	„QIASymphony SP“ instrumento protokolas
Plazma, gauta iš žmogaus viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“	2x centrifugavimas, plazmos perkėlimas į antrinį mėgintuvėlį	2,8	2,4	60	„PAXcircDNA_2400“
		5,3	4,8	60	„PAXcircDNA_4800“
	1 k. centrifugavimas, tiesioginis apdorojimas „QIASymphony SP“ instrumentu	Pagal pasirinkimo įrankį	2,4	60	„PAXcircDNA PrimaryTube_2400“
			4,0	60	„PAXcircDNA PrimaryTube_4000“

Svarbi informacija prieš pradėdant

- Dirbdami su cheminėmis medžiagomis ir biologiniais mėginiais, būtina dėvėti tinkamą laboratorinį chalata, mėvėkite vienkartinės pirštines ir užsidėkite apsauginius akinius. Daugiau informacijos pateikta atitinkamuose SDL.
- Būtina išmokyti eksploatuoti „QIASymphony SP“ instrumentą. Darbo instrukcijas žr. su instrumentu pateiktuose naudotojo vadovuose.

Pastaba. IVD reikalinga programinės įrangos konfigūracija yra **Default Profile 1** (1-as numatytasis profilis).

- Prieš pradėdami procedūrą, paskaitykite skyrių „Procedūros principai“.
- Būtina susipažinkite su protokolo lapu ir laboratorinių reikmenų sąrašu (juos rasite svetainėse www.qiagen.com ir www.PreAnalytiX.com pateiktuose produktų puslapių skirtukuose „Product Resources“ (produktų ištekliai) ir „Resources“ (ištekliai).
- Stenkitės nekratyti RC smarkiai, nes gali susidaryti putų, dėl kurių gali kilti skysčio lygio aptikimo problemų.

- Kraują reikia paimti į mėgintuvėlius „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“ (CE-IVD; „PreAnalytiX“, kat. nr. 768165). Kraujo paėmimo ir tvarkymo bei plazmos apdorojimo instrukcijas rasite mėgintuvėlio naudojimo instrukcijose, kurias atitinkamai rasite svetainėje www.qiagen.com arba www.PreAnalytiX.com pateiktame produkto puslapyje skirtuke „Product Resources“ (produktų ištekčiai) arba „Resources“ (ištekčiai).

Ką reikia atlikti prieš pradėdant

- Prieš pradėdami procedūrą įsitikinkite, kad magnetinės dalelės visiškai suspenduotos. Prieš naudodami pirmą kartą smarkiai purtykite lovelį su magnetinėmis dalelėmis bent 3 min.
- Įsitikinkite, kad pradūrimo dangtelis yra uždėtas ant RC, o magnetinių dalelių lovelio dangtelis nuimtas, arba, jei naudojate iš dalies panaudotą RC, būtinai nuimkite sandarinimo pakartotinai naudojant juosteles.
- Proteinazė K nėra įtraukta į RC, ją turi įkelti naudotojas (mėginių stalčius, A lizdas, 1 ir (arba) 2 padėtis). Įsitikinkite, kad yra tinkamas proteinazės K kiekis.

Rinkinyje „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ yra paruoštas naudoti proteinazės K tirpalas. Proteinazę K galima laikyti kambario temperatūroje (15–25 °C). Norint laikyti ilgą laiką, siūlome laikyti fermento buteliukus su proteinaze K 2–8 °C temperatūroje.

Mėginio numeris	„PAXcircDNA_2400“ / „PAXcircDNA PrimaryTube_2400“** (µl)	„PAXcircDNA_4800“ / „PAXcircDNA PrimaryTube_4000“** (µl)
8	1 980	2 860
24	3 740	6 380
48	6 380	11 660 [†]
96	11 660 [†]	23 320 [†]

* Kiekvienam mėginiui reikia 110 µl (2 400 µl plazmos) arba 220 µl (4 800/4 000 µl plazmos) ir papildomo 1 100 µl [(n × 110 arba 220 µl) + 1 100 µl] neveikos tūrio.

[†] Jeigu reikia daugiau nei 11 660 µl, naudokite antrą mėgintuvėlį („Corning“, kat. nr. 352051). Antrajam mėgintuvėliui reikia 1 100 µl papildomo neveikos tūrio.

Pastaba. Mėgintuvėliai su proteinaze K įdedami į mėgintuvėlių laikiklį. Mėgintuvėlių laikiklį su proteinaze K reikia įstatyti į „Sample“ (mėginių) stalčiaus A lizdo 1 ir 2 pozicijas. Proteinazei K rekomenduojame naudoti 14 ml 17 × 100 mm polistireno apvaliadugnius mėgintuvėlius („Corning“, kat. nr. 352051)

- Jei mėginiai pažymėti brūkšniniais kodais, atsukite mėginius mėgintuvėlių laikiklyje taip, kad brūkšniniai kodai būtų atsukti į brūkšninių kodų skaitytuvą, esantį kairiojoje „QIASymphony SP“ instrumento pusėje.
- Norėdami gauti informacijos apie mėginių mėgintuvėlius ir minimalius mėginių tūrius, suderinamus su protokolais, žr. atitinkamą laboratorinių reikmenų sąrašą, kurį atitinkamai rasite svetainėse www.qiagen.com ir www.PreAnalytiX.com pateiktuose produktų puslapių skirtukuose „Product Resources“ (produktų ištekliai) ir „Resources“ (ištekliai).

Protokolas: automatinis ccfDNR gryninimas naudojant „QIASymphony SP“ instrumentą

Išsami informacija apie kiekvieną protokolą, įskaitant tūrius ir mėgintuvėlius, pateikiama protokolo lape ir laboratorinių reikmenų sąrašė, kuriuos atitinkamai rasite svetainėse www.qiagen.com ir www.PreAnalytiX.com pateiktuose produktų puslapių skirtukuose „Product Resources“ (produktų ištekliai) ir „Resources“ (ištekliai). Kaip paruošti mėginio medžiagą (plazmą, gautą iš žmogaus viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“), žr. šio vadovo skyriuose „Mėginių paėmimas ir paruošimas“ ir „Mėginio medžiagos paruošimas“, taip pat naudojimo instrukcijose, kurias atitinkamai galite rasti svetainėje www.qiagen.com arba www.PreAnalytiX.com pateiktame produkto puslapio skirtuke **Product Resources** (produktų ištekliai) arba „Resources“ (ištekliai).

1. Uždarykite visus stalčius ir gaubtą.
2. Įjunkite „QIASymphony SP“ instrumentą ir palaukite, kol atsidarys ekranas „Sample Preparation“ (mėginio paruošimas) ir baigsis inicijavimo procedūra.
3. Maitinimo jungiklis yra apatiniame kairiajame „QIASymphony SP“ instrumento kampe.
4. Prisiregistruokite instrumente.

Įdėkite reikiamą eliuavimo stovėlį į „Eluate“ (eliuato) stalčių.

Nedėkite 96 šulinėlių plokštelės į lizdą „Elution slot 4“ (4 eliuavimo lizdas). Turi būti naudojamas „Elution slot 1“ (1 eliuavimo lizdas) su atitinkamu aušinimo adapteriu.

Jei naudojate 96 šulinėlių plokštelę, įsitikinkite, kad jos orientacija tinkama, nes netinkamai padėję galite supainioti mėginius atlikdami tolesnę analizę.

Jei naudojate „Elution Microtubes CL“ stovėlį, nuimkite dugną sukdami stovėlį, kol dugnas nusiims.

5. Įsitinkinkite, kad „Waste“ (atliekų) stalčius tinkamai paruoštas, ir nuskaitykite „Waste“ (atliekų) stalčiaus atsargas, įskaitant antgalių lataką, antgalių laikymo vietą, tuščią skystųjų atliekų talpyklą ir tuščias elementų dėžutes. Pakeiskite antgalių išmetimo maišelį, jei reikia.
6. Įdėkite reikiamą RC (kasetes) ir eksploatacinius reikmenis į „Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčių.
7. Nuskaitykite „Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčiaus atsargas.
8. Įdėkite mėginius į atitinkamą mėginių laikiklį, o tada įkelkite į „Sample“ (mėginių) stalčių.

Pastaba. Be reguliaraus apdorojimo, įskaitant plazmos perkėlimą į atitinkamą antrinį mėgintuvėlį (14 ml „Falcon[®]“ polistireno apvaliadugnis mėgintuvėlis, 17 × 100 mm), įdėtą į atitinkamą mėginių laikiklį, „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ pirminio mėgintuvėlio tvarkymo darbo eiga leidžia išskirti ccfDNR tiesiai iš mėgintuvėlio „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ (10 ml „PAXgene Blood ccfDNA Tube“, 16 × 100 mm). Norėdami gauti daugiau informacijos apie pirminio mėgintuvėlio tvarkymą, žr. protokolo lapą, laboratorinių reikmenų sąrašą ir mėgintuvėlio naudojimo instrukcijas, kuriuos atitinkamai rasite svetainėje **www.qiagen.com** arba **www.PreAnalytiX.com** pateiktame produkto puslapio skirtuke „Product Resources“ (produktų ištekliai) arba „Resources“ (ištekliai).

9. Jutikliniame ekrane įveskite reikiamą informaciją apie kiekvieną apdorotiną mėginių partiją ir proteinazę K.

Įveskite toliau nurodytą informaciją.

- Mėginio informacija (priklauso nuo naudojamų mėginių stovelių, pasirinkite BD #352051 „FalconPP“ 17 × 100 arba BD_#768165 „PAXgene ccfDNA“ 16 × 100)
- Vykdytinas protokolas (tyrimo kontrolės rinkinys)
- Eliuavimo tūris ir išvesties vieta

Įvedus informaciją apie partiją, būsena pakinta iš LOADED (įdėta) į QUEUED (laukia eilėje). Vos tik viena partija įtraukiama į eilę, pasirodo mygtukas „Run“ (vykdyti).

- Įdėkite proteinazę K į atitinkamą 1 ir 2 padėtyse nustatytą mėginių laikiklį, o tada įkelkite į „Sample“ (mėginių) stalčiaus A lizdą.
- Apibrėžkite proteinazę K paspausdami **IC** mygtuką.
- Paspausdami mygtuką „Run“ (vykdyti), pradėkite gryninimo procedūrą. Visi apdorojimo veiksmai atliekami visiškai automatiškai. Protokolo vykdymo pabaigoje partijos būsena pasikeičia iš RUNNING (vykdoma) į COMPLETED (baigta).
- Išimkite eliuavimo stovėlį su išgryninta ccfDNR iš „Eluate“ (eliuato) stalčiaus. Patvirtinkite eliuavimo stovelio išėmimą naudodami „QIASymphony SP“ instrumento programinę įrangą.
- ccfDNR paruošta naudoti arba gali būti laikoma -20°C arba -80°C temperatūroje iki 6 mėnesių. QIAGEN rekomenduoja eliuato plokštelę iš „Eluate“ (eliuato) stalčiaus išimti vos baigus apdorojimą. Atsižvelgiant į temperatūrą ir drėgnumą, palikus eliuavimo plokšteles „QIASymphony SP“ instrumente po apdorojimo pabaigos, gali prasidėti kondensacija arba garavimas.

Pastaba. Naudojant „QIASymphony SP“ aušinimo funkciją, instrumentą galima naudoti per naktį.

Paprastai magnetinės dalelės nepernešamos į eliuatus. Jei įvyks pernešimas, eliuatuose esančios magnetinės dalelės neturės įtakos daugeliui tolesnių veiksmų.

Jei prieš atliekant tolesnius veiksmus reikia pašalinti magnetines daleles, mėgintuvėliai arba plokštelės su eliuatais pirmiausia turi būti įdėti į tinkamą magnetą ir eliuatai turi būti perkelti į švarų mėgintuvėlį (žr. „Priedas: ccfDNR kiekybinis nustatymas“). Sukuriami kiekvienos eliuavimo plokštelės rezultatų failai.

15. Jei RC panaudojama tik iš dalies, baigę vykdyti protokolą užsandarinkite ją pateiktomis sandarinimo pakartotinai naudojant juostelėmis, kad būtų išvengta garavimo.

Pastaba. Daugiau informacijos apie iš dalies panaudotų RC laikymą žr. „Reagentų laikymas ir naudojimas“.

16. Išnaudotus mėginių mėgintuvėlius ir atliekas išmeskite vadovaudamiesi vietinėmis saugos taisyklėmis. Saugos informaciją žr. „Įspėjimai ir atsargumo priemonės“.

17. Išvalykite „QIASymphony SP“ instrumentą.

Laikykites techninės priežiūros instrukcijų, pateiktų su instrumentu gautose naudotojo vadovuose. Reguliariai valykite antgalių apsaugos įtaisus, kad sumažintumėte kryžminio užkrėtimo pavojų.

18. Uždarykite instrumento stalčius ir išjunkite „QIASymphony SP“ instrumentą.

Kokybės kontrolė

Vadovaujantis QIAGEN ISO sertifikuota kokybės valdymo sistema, kiekviena rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ partija išbandoma pagal nustatytas specifikacijas, siekiant nuolat išlaikyti produktų kokybę.

Apribojimai

Sistemos efektyvumas buvo nustatytas atliekant efektyvumo vertinimo tyrimus, jų metu buvo gryninama ccfDNR iš plazmos, gautos iš žmogaus viso veninio kraujo, paimto į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“.

Rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ efektyvumo charakteristikos nustatytos naudojant 18S ribosomų ir DYS14 Y chromosomų ccfDNR fragmentus plazmoje.

Naudotojas privalo pats patvirtinti sistemos efektyvumą atliekant bet kokias laboratorines procedūras, neaprašytas QIAGEN ir „PreAnalytiX“ efektyvumo vertinimo tyrimuose.

Siekiant sumažinti neigiamo poveikio diagnostiniams rezultatams riziką, atliekant tolesnius tyrimus reikia naudoti tinkamas kontrolės priemones. Visi gauti diagnostikos rezultatai turi būti vertinami kartu su kitais klinikiniais ar laboratoriniais rezultatais.

Trikčių šalinimo vadovas












Šis trikčių šalinimo vadovas gali būti naudingas šalinant atsiradusias problemas. Norėdami gauti kontaktinę informaciją ir dažniausiai užduodamų klausimų sąrašą, apsilankykite atitinkamo produkto puslapyje www.PreAnalytiX.com arba www.qiagen.com.

Pastabos ir pasiūlymai	
Bendrasis naudojimas	
a) Jutikliniame ekrane rodomas klaidos pranešimas	Jei vykdant protokolą rodomas klaidos pranešimas, žr. su instrumentu pateiktus naudotojo vadovus.
b) Skirtingas eliuato tūris po per naktį vykdytų procedūrų	Siekiant optimizuoti našumą, rinkinyje „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ yra galimybė apdoroti mėginius per naktį, aušinant eliuatus „QIASymphony SP“ instrumentu. Aušinant ilgą laiką, eliuato tūris gali pasikeisti priklausomai nuo temperatūros ir drėgmės laboratorijoje. Pavyzdžiui, jei pasirinktas tūris buvo 60 µl esant 15–25 °C temperatūrai ir 30–60 % drėgmei, po 12 valandų laikymo instrumente tūris gali būti 50–85 µl.
Krioprecipitai po plazmos mėginių atšildymo	
a) Plazmoje susidaro krioprecipitai	Kad nesusidarytų krioprecipitai, plazmą galima 30 min. atšildyti 30 °C temperatūroje, o ne kambario temperatūroje. Neatšildykite žemesnėje temperatūroje (pvz., 4 °C). Po atšildymo pamaišykite mėgintuvėlį sukūrinėje maišyklėje 30 sekundžių.
b) Maža ccfDNR išeiga iš plazmos po krioprecipitų pašalinimo	Necentrifuguokite plazmos krioprecipitams pašalinti, nes juose gali būti ccfDNR.
Nepakankamas plazmos tūris mėgintuvėliuose „PAXgene Blood ccfDNA Tubes“	
a) Į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ paimta mažiau nei 10 ml kraujo	Įsitikinkite, kad į mėgintuvėlį „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ paimta 10 ml kraujo. Žr. mėgintuvėlio „PAXgene Blood ccfDNA Tube“ naudojimo instrukcijas.
b) Didelė ląstelių frakcija	Dėl didelės ląstelių frakcijos (hematokrito) koncentracijos žmogaus kraujyje (pvz., daugiau nei 51 % vyrų atveju arba 47 % moterų atveju) gali sumažėti plazmos tūris.
c) Maža plazmos išeiga po centrifugavimo	Ilgesnis kraujo laikymo ir gabenimo laikas arba kitokios centrifugavimo sąlygos nei nurodyta gali turėti įtakos plazmos išeigai.

Pastabos ir pasiūlymai	
Nuosėdos atidarytos rinkinio „QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit“ reagento kasetės („Reagent Cartridge“, RC) lovelyje	
a) Buferinio tirpalo gavimas	Dėl per didelio garavimo buferiniuose tirpaluose gali padidėti druskų koncentracija. Išmeskite RC. Iš dalies panaudotos RC buferinio tirpalo lovelius būtina uždarykite sandarinimo pakartotinai naudojant juostelėmis, kai tirpalas nenaudojamas gryninant.
b) RC laikymas	Laikant RC žemesnėje nei 15 °C temperatūroje, gali susidaryti nuosėdų.
Maža ccfDNR išeiga	
a) Magnetinės dalelės nebuvo iki galo suspenduotos	Prieš pradėdami procedūrą įsitikinkite, kad magnetinės dalelės visiškai suspenduotos. Prieš naudodami purtykite bent 3 min. Jei daleles nebus visiškai suspenduotos, gali kilti lašinimo pipetės klaidų.
b) Dėl netirpios medžiagos užsikimšo pipetės antgalis	Netirpi medžiaga nebuvo pašalinta iš mėginio prieš pradėdant „QIASymphony SP“ instrumento gryninimo procedūrą.
c) Mėginio medžiagoje yra maža ccfDNR koncentracija	Dėl labai mažo ccfDNR kiekio plazmos mėginiuose ccfDNR koncentraciją gali būti sudėtinga išmatuoti, priklausomai nuo naudojamo kiekybinio nustatymo metodo. Norint patikrinti ccfDNR koncentraciją eliuatuose, rekomenduojama naudoti jautrų qPGR.
d) RC iki galo neužsandarinta	Dėl aplinkinio oro poveikio gali sumažėti buferinių tirpalų stabilumas ir ccfDNR išskyrimo efektyvumas naudojant iš dalies panaudotą RC. Iš dalies panaudotos RC buferinio tirpalo lovelius būtina kruopščiai uždarykite sandarinimo pakartotinai naudojant juostelėmis, kai tirpalas nenaudojamas gryninant.
Mažas ccfDNR efektyvumas vykdant tolesnius veiksmus	
a) Vakuuminio centrifugavimo koncentruotas eliuatas	Nekoncentruokite eliuato vakuuminio centrifugavimu (pvz., „SpeedVac“ ar panašiu instrumentu). Dėl to esant didelai temperatūrai gali įvykti skilimas ir eliuate gali koncentruotis druskos, o tai gali trukdyti tolesniems veiksams.
b) Rutuliukų pernešimas	Paprastai magnetinės dalelės nepernešamos į eliuatus. Jei įvyks pernešimas, eliuatuose esančios magnetinės dalelės neturės įtakos daugeliui tolesnių veiksmų. Jei konkreitiems tolesniems tyrimams reikia naudoti labai didelius eliuatų kiekius, eliuatai gali būti pasukti žemyn ir perkelti į švarų mėgintuvėlį.
Neperkeltas / ne iki galo perkeltas mėginys	
a) Vykdamas standartinius protokolus įkeliamas netinkamas mėginio tūris	Jei įkeliamas mažesnis mėginio tūris nei nurodyta, padidėja rizika, kad mėginys bus neaiškiai pažymėtas arba nebus perkeltas (netinkamas žymėjimas). Įkelkite tinkamą mėginio tūrį, kaip aprašyta atitinkame protokolo lape ir laboratorinių reikmenų sąrašė.
b) Mėginio mėgintuvelyje yra burbuliukų ir (arba) putų	Dėl mėginyje ir (arba) mėginio įkėlimo mėgintuvelyje esančių burbuliukų arba putų gali būti netinkamai aptinkamas skysčių lygis ir dėl to gali būti perkeliamas ne visas mėginys. Pašalinkite burbuliukus iš mėginio mėgintuvėlio.

Simboliai

Naudojimo instrukcijose arba ant pakuočių ir etiketėse gali būti pateikti toliau nurodyti simboliai. Papildomi simboliai paaiškinti skyriuje „Rinkinio turinys“ (9 psl.).

Simbolis	Simbolio apibrėžimas
	Sudėtyje yra pakankamas reagentų kiekis <N> tyrimams (-ų) atlikti Nurodomas bendras IVD tyrimų, kuriuos galima atlikti naudojant IVD, skaičius.
	Tinka naudoti iki
	In vitro diagnostikos medicinos prietaisas
	CE ženklas. Šis produktas atitinka Europos reglamento 2017/746 dėl <i>in vitro</i> diagnostikos medicinos prietaisų reikalavimus.
	Katalogo numeris
	Partijos numeris
	Medžiagos numeris (t. y. komponento ženklavimas etikete)
	Komponentai (t. y. pakuotės medžiagų sąrašas)
	Sudėtyje yra (turinys)
	Skaičius (t. y. mėgintuvėlių, buteliukų)
	Visuotinis prekės numeris
Rn	R yra naudojimo instrukcijų (vadovo) peržiūrėtas leidimas, n yra peržiūrėto leidimo numeris



Temperatūros ribos



Gamintojas



Žr. naudojimo instrukcijas



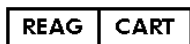
Dėmesio



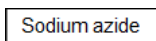
Proteinazė K



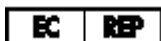
Šulinėlių skaičius (t. y. RC šulinėlių)



Reagentų kasetė



Natrio azidas



Įgaliotasis atstovas Europoje pagal Reglamentą (ES) 2017/746

Priedas: ccfDNR kiekybinis nustatymas

Kadangi mėginių medžiagose yra labai mažos ccfDNR koncentracijos, DNR matuoti spektrofotometru nerekomenduojama. Norint nustatyti ccfDNR koncentraciją, reikia naudoti jautrų ir tikslų fluorescencija pagrįstą kiekybinio nustatymo tyrimą arba „real-time PCR“ tyrimą.

Jei reikia pašalinti magnetines daleles, mėgintuvėlį su DNR įdėkite į tinkamą magnetinio atskyrimo priemonę (pvz., „QIAGEN 12-Tube Magnet“, kat. nr. 36912) ir laikykite tol, kol magnetinės dalelės bus atskirtos.

Jei DNR yra mikroplokštelėse, įdėkite mikroplokštelę į tinkamą magnetinio atskyrimo priemonę (pvz., į „QIAGEN 96-Well Magnet Type A“, kat. nr. 36915) ir laikykite tol, kol magnetinės dalelės bus atskirtos. Jei tinkamos magnetinio atskyrimo priemonės nėra, mėgintuvėlį, kuriame yra DNR, 1 minutę visu greičiu centrifuguokite mikrocentrifugoje, kad nusėstų likusios magnetinės dalelės.

Užsakymo informacija

Produktas	Turinys	Kat. nr.
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Įtrauktos 2 RC, proteinizės K mėgintuvėliai ir priedai	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)(100)	100 mėgintuvėlių: 16 × 100 mm, 1,5 ml pridedamos medžiagos, 10 ml paimamo kraujo kiekis	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	„QIASymphony“ mėginių ruošimo modulis, 1 metų garantija dalių ir darbo kokybei	9001297
Susiję QIAGEN produktai		
Proteinase K (10 mL)	1 × 10 ml buteliukas	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	RC laikiklis, skirtas naudoti su „QIASymphony SP“ instrumentu	997008
Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym	Aušinimo adapteris, skirtas 2 ml mėgintuvėliams su užsukamu kamšteliu. Skirtas naudoti „QIASymphony SP“ instrumento „Eluate“ (eliuato) stalčiuje.	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	EMT stovelių aušinimo adapteris. Skirtas naudoti „QIASymphony SP“ instrumento „Eluate“ (eliuato) stalčiuje.	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Aušinimo adapteris, skirtas 1,5 ml „Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock“ mėgintuvėliams. Skirtas naudoti „QIASymphony SP“ instrumento „Eluate“ (eliuato) stalčiuje.	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8 šulinėlių mėginio paruošimo kasetės, skirtos naudoti su „QIASymphony SP“ instrumentu	997002

Produktas	Turinys	Kat. nr.
8-Rod Covers (144)	„8-Rod Covers“, skirti naudoti su „QIASymphony SP“ instrumentu	997004
Filter-Tips, 200 µL (1024)	Vienkartiniai filtrų antgaliai stovelyje (8 × 128). Skirti naudoti su „QIACube SM “ ir „QIASymphony SP/AS“ instrumentu	990332
Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024)	Vienkartiniai filtrų antgaliai stovelyje (8 × 128). Skirti naudoti su „QIASymphony SP/AS“ instrumentu	997024
Tip Disposal Bags (15)	„Tip disposal bags“, skirti naudoti su „QIASymphony SP“ instrumentu	9013395
12-Tube Magnet	Magnetas, skirtas magnetinėms dalelėms atskirti 12 × 1,5 ml arba 2 ml mėgintuvėliuose	36912
96-Well Magnet Type A	Magnetas, skirtas magnetinėms dalelėms atskirti 96 šulinėlių plokštelių šulinėliuose, 2 × „96-Well Microplates FB“	36915
Reuse Seal Set (20)	Rinkiniai „Reuse Seal Sets“, skirti iš dalies panaudotoms „QIASymphony“ RC užsandarinti	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Nesterilūs polipropileno mėgintuvėliai (0,85 ml maksimali talpa, mažesnė nei 0,7 ml laikymo talpa, 0,4 ml eliuavimo talpa), 2 304 stoveliuose po 96, su dangtelių juostelėmis	19588
Caps for Elution Microtubes (50 × 8)	„Caps for Elution Microtubes“ (50 × 8)	19591
14 mL Falcon Tube	17 × 100 mm polistireno apvaliadugnis mėgintuvėlis, naudojamas kaip mėginių laikiklis „QIASymphony SP“ instrumente	„Corning“, 352051

Dokumento peržiūrų istorija

Peržiūrėtas leidimas	Aprašas
R1, 2021 m. gegužė	Pradinis leidimas
R2, 2022 m. gegužė	Tam tikrose vietose pašalintas užrašas „(CE-IVD)“. Atnaujinta lentelė „Rinkinio turinys“. Pridėta svetainė www.PreAnalytiX.com , kurioje galima rasti susijusių išteklių. Skyriuje „Saugos informacija“ patikslinta, kad „mėginiai“ yra „kraujo mėginiai“. Skyriuje „Saugos informacija“ frazė „Mėginių ir tyrimų atliekas išmeskite“ pakeista į „Biologiškai pavojingas medžiagas ir rinkinio atliekas išmeskite“, Atnaujinti skyriai „A) Plazmos paruošimas iš kraujo, taikant standartinius protokolus“ ir „B) Plazmos paruošimas iš kraujo, naudojant pirminiame mėgintuvėlyje „QIASymphony SP“ instrumente“.
R3, 2023 m. vasaris	„PreAnalytiX GmbH“ adresas pasikeitė iš „Feldbachstrasse“ į „Garstligweg 8“. Atnaujintas skyrius „Atsargumo priemonės“ Pridėti skubios pagalbos telefono numeriai skyriuje „Saugos informacija“. Įstaitytas „Proteinase K“ (100 ml) katalogo numeris dalyje „Užsakymo informacija“. Maketavimo ir redagavimo pakeitimai.

Pastabos

Pastabos



Norėdami gauti naujausios informacijos apie licencijavimą ir atsakomybės už produktus apribojimus, žr. atitinkamą „PreAnalytiX®“ arba QIAGEN® rinkinio vadovą arba naudotojo vadovą. „PreAnalytiX“ ir QIAGEN rinkinio vadovai ir naudotojo vadovai pateikti svetainėje www.qiagen.com; jų taip pat galite paprašyti QIAGEN techninių tarnybų ar vietinio platintojo.

Sužinokite daugiau apsilankę svetainėje:

www.PreAnalytiX.com

HB-2866-003, 2023 m. vasaris



A QIAGEN / BD Company