

Februar 2023

Bruksanvisning (håndbok) for QIASymphony[®] PAXgene[®] Blood ccfDNA Kit



192

Versjon 1



Til in vitro-diagnostisk bruk



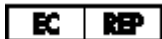
768566



PreAnalytiX GmbH

Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Sveits

1130770NB



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

PreAnalytiX Company

PreAnalytiX GmbH

8634 Hombrechtikon

Sveits

www.PreAnalytiX.com

Varemerker: 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 eller dets datterselskaper).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

1130770NB HB-2866-003

© 2023 PreAnalytiX GmbH. Når annet ikke er angitt, tilhører PreAnalytiX, PreAnalytiX-logoen og alle andre varemerker PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

Begrenset lisensavtale for QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit

Bruk av dette produktet innebærer at en kjøper eller bruker av QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og denne håndboken, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i settet. PreAnalytiX® gir ingen lisens når det gjelder noen av sine åndsverk til å bruke eller innlemme komponenter i dette settet sammen med andre komponenter som ikke er inkludert i dette settet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet, denne håndboken og andre protokoller som er tilgjengelige på www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com.
2. PreAnalytiX gir ingen garantier for at dette settet og/eller bruksområdene ikke krenker rettighetene til tredjeparter bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Denne forbruksvaren og komponentene i den er lisensiert for engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. PreAnalytiX frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydnet, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av settet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan resultere i eller fremme handlinger som er forbudt over. PreAnalytiX kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolkostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller hvilke som helst av selskapets immaterielle rettigheter forbundet med settet og/eller komponentene.

For oppdaterte lisensvilkår, se www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com.

Forhandlere for PreAnalytiX

PreAnalytiX-produkter produseres og distribueres av QIAGEN og BD for PreAnalytiX.

Innhold

Innhold.....	3
Tiltenkt bruk.....	5
Tiltenkt bruker	5
Beskrivelse og prinsipp	6
Oppsummering og forklaring	6
Prosedyreprinsipper.....	7
Materialer som følger med	9
Settets innhold	9
Nødvendige materialer som ikke følger med	10
Utstyr	10
Advarsler og forholdsregler	11
Sikkerhetsinformasjon.....	11
Forholdsregler	12
Håndtering og oppbevaring av reagenser	14
Settkomponenter.....	14
Prøvetaking og -klargjøring.....	16
Prosedyre	20
Oversikt: Automatisert rensing av ccfDNA på QIASymphony SP-instrumentet	20
Protokolloversikt	25
Protokoll: Automatisert rensing av ccfDNA på QIASymphony SP-instrumentet.....	28
Kvalitetskontroll.....	31
Begrensninger	31

Feilsøkingsveiledning	32
Symboler	35
Vedlegg: Kvantifisering av ccfDNA	37
Bestillingsinformasjon	38
Dokumentets revisjonshistorikk	40

Tiltenkt bruk

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit som skal brukes sammen med QIASymphony SP-instrumentet, er beregnet til bruk til automatisk isolering og rensing av sirkulerende cellefritt DNA (ccfDNA) fra plasma generert fra humant venøst fullblod tatt i et PAXgene Blood ccfDNA Tube.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit benytter magnetpartikkelteknologi til automatisk isolering og rensing av ccfDNA fra humant plasma.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit er til *in vitro* diagnostisk bruk og skal brukes av fagpersoner, for eksempel teknikere og leger som har fått opplæring i molekylærbiologiske prosedyrer.

Tiltenkt bruker

Dette settet er beregnet for profesjonell bruk.

Produktet skal bare brukes av personell som har fått spesifikk instruksjon og opplæring i molekylærbiologiske teknikker, og som er kjent med denne teknologien.

Beskrivelse og prinsipp

Oppsummering og forklaring

Sirkulerende celledre DNA (ccfDNA) finnes i plasma, vanligvis som korte fragmenter (<1000 bp). Konsentrasjonen av ccfDNA i plasma er vanligvis lav (kan variere fra 1 til 100 ng/ml) og varierer betraktelig fra person til person. Den CE-merkede PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube i kombinasjon med QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit utgjør en standardisert arbeidsflyt for innsamling, lagring og transport av blod, stabilisering av DNA i et lukket rør og den påfølgende ccfDNA-isoleringen og rensingen fra human plasma ved hjelp av QIAGEN® QIASymphony SP-instrumentet.

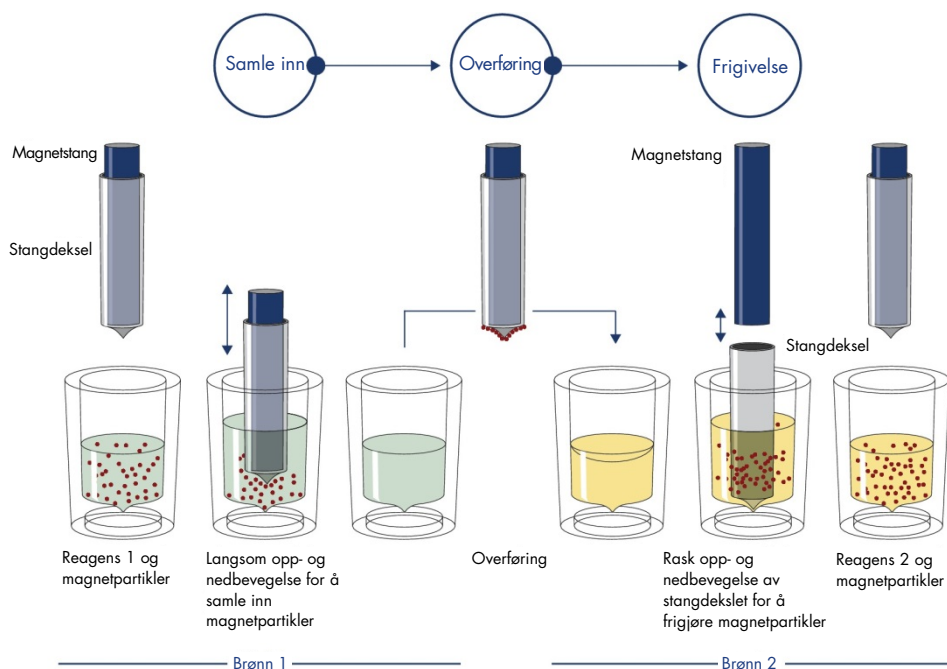
Det finnes protokoller på QIASymphony SP-instrumentet for ekstraksjon av ccfDNA fra 2,4 og 4,8 ml plasma generert fra PAXgene Blood ccfDNA Tubes gjennom dobbel sentrifugering. Plasma overføres og prosesseres i et sekundærrør på QIASymphony SP-instrumentet.

Alternativt er det tilgjengelig protokoller for håndtering av primærrør på QIASymphony SP-instrumentet for 2,4 og 4 ml plasmainngangsvolum. I så tilfelle er det ikke behov for et sentrifugeringstrinn nummer to eller plasmaoverføring til et sekundærrør.

Magnetpartikkelteknologien i QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit muliggjør rensing av ccfDNA av høy kvalitet som er fri for proteiner, nukleaser og andre urenheter. QIASymphony SP-instrumentet utfører alle trinn av rensingsprosedyren. Opptil 96 prøver, i partier på 24, behandles i en enkelt kjøring. For isolasjon av genomisk DNA (gDNA) fra den kjerneholdige fraksjonen av blod samlet inn i PAXgene Blood ccfDNA Tubes på QIASymphony SP-instrumentet, se instruksjonene i bruksanvisningen for PAXgene Blood ccfDNA Tube (www.PreAnalytiX.com).

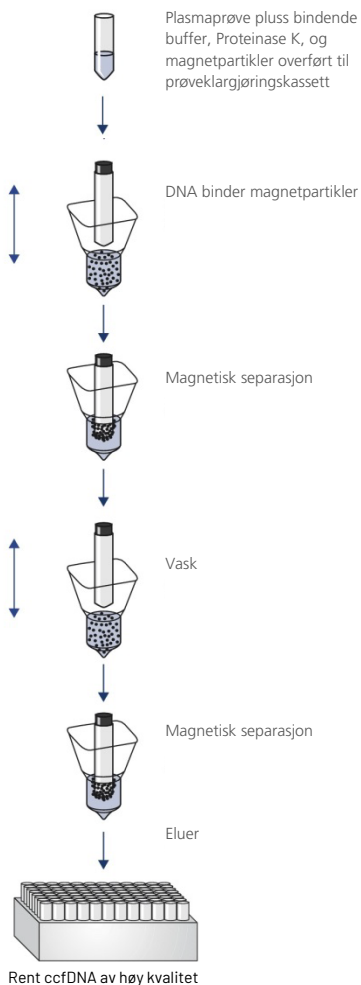
Prosedyreprinsipper

QIASymphony SP-instrumentets teknologi kombinerer hastigheten og effekten til anionutvekslingsbasert nukleinsyrerensning med den lettvinde håndteringen av magnetpartikler (figur 1). Rensingsprosedyren er konstruert for å gi sikker og reproduserbar håndtering av potensielt smittefarlige prøver og består av tre trinn: binde, vaske og eluere (figur 2). Brukeren kan velge mellom ulike prøveinngangsvolumer.



Figur 1. Skjematisk diagram over QIASymphony SP-instrumentets prinsipper. QIASymphony SP-instrumentet behandler en prøve som inneholder magnetpartikler på følgende måte: En magnetstang som er beskyttet av et stangdeksel går inn i en brønn som inneholder prøven og trekker til seg magnetpartiklene. Magnetstangdekslet posisjoneres over en annen brønn, og magnetpartiklene frigjøres. Disse trinnene gjentas flere ganger i løpet av prøvebehandlingen. QIASymphony SP-instrumentet benytter et magnethode som inneholder en samling av 24 magnetstenger, og kan derfor behandle opptil 24 prøver samtidig.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



Figur 2. Trinnene for ekstraksjon av ccfDNA med QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit. ccfDNA-fragmenter isoleres fra plasma generert fra humant venøst fullblod samlet i et PAXgene Blood ccfDNA Tube. I det første prosesseringstrinnet blir plasmaproteiner brutt ned av Proteinase K mens ccfDNA binder seg til overflaten av magnetpartikler. Tre vasketrinn garanterer at forurensende stoffer fjernes. Til slutt elueres ccfDNA fra magnetpartiklene og er klare til bruk i nedstrøms applikasjoner.

Materialer som følger med

Settets innhold

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) Katalognr. Antall reaksjoner		(192) 768566 192		
Forkortelse	ID	Antall	Virkestoffer	Konsentrasjon [%]**
RC	Reagent cartridge*† (Reagenskassett)	2	Ikke-ionisk vaskemiddel Magnetpartikkel med anionbytter NaOH Etanol	≥ 0,5 – < 10 [w/w] – ≥ 0,05 – < 0,1 [w/w] ≥ 70 – < 90 [v/v]
PROTK	Proteinase K†	5 × 10 ml	Proteinase K	≥ 1 – < 3 [w/w]
PL	Piercing Lid (Stikklokk)	2	–	–
RSS	Reuse Seal Set†	2	–	–
	Elution Microtubes CL, racked (Elution Microtubes CL, i stativ)#	2	–	–
	Caps for Elution Microtubes (Hetter til Elution Microtubes) #	1 × (55 × 8)	–	–
	Bruksanvisning (håndbok)	1	–	–
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	–	–

* Inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.

† Se side 35 for en liste med symboler og definisjoner.

§ Et Reuse Seal Set inneholder gjenbrukbare tetningsstrimler.

Også tilgjengelig separat, se Bestillingsinformasjon.

** Maksimal konsentrasjon i en enkelt brønn.

Nødvendige materialer som ikke følger med

Følg alltid generelle forholdsregler og bruk en egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller i henhold til institusjonens retningslinjer og prosedyrer ved arbeid med kjemikalier og biologiske prøver. For mer informasjon, se gjeldende sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) som er tilgjengelige fra leverandøren av produktet.

Se til at instrumentene er kontrollert og kalibrert i henhold til produsentens anbefalinger.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, kat.nr. 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, kat.nr. 997004)
- Filter-Tips, 200 µl og 1500 µl (QIAGEN, kat.nr. hhv. 990332 og 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, kat.nr. 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)(PreAnalytiX, kat.nr. 768165)
- Prøverør. Se listen over laboratorieutstyr for compatible primær- og sekundærrørformater. Du finner listen under fanene for Product Resource (produktressurser) og fanene for Resources (ressurser) på produktsidene på henholdsvis **www.qiagen.com** og **www.PreAnalytiX.com**.
- Se listen over laboratorieutstyr for compatible elusjonsrørformater. Du finner listen under fanene for Product Resource (produktressurser) og fanene for Resources (ressurser) på produktsidene på henholdsvis **www.qiagen.com** og **www.PreAnalytiX.com**.

Utstyr*

- Pipette (5 ml)
- QIASymphony SP-instrument (QIAGEN, kat.nr. 9001297)

* Før bruk må du forsikre deg om at instrumentene er kontrollert og kalibrert i henhold til produsentens anbefalinger.

Advarsler og forholdsregler

Til in vitro-diagnostisk bruk.

Les alle instruksjoner nøye før du bruker settet.

For kunder i EU: Vær oppmerksom på at alvorlige hendelser knyttet til enheten må rapporteres til produsenten og den relevante myndigheten i medlemslandet der brukeren og/eller pasienten er etablert.

Sikkerhetsinformasjon

Følg alltid generelle forholdsregler og bruk en egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller i henhold til institusjonens retningslinjer og prosedyrer ved arbeid med kjemikalier og biologiske prøver. Se gjeldende sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige på nett i PDF-format på www.qiagen.com/safety, der du kan finne, vise og skrive ut sikkerhetsdatablader for hvert PreAnalytiX-sett og hver settkomponent.

- Alle kjemikalier og biologiske materialer er potensielt farlige. Blodprøver kan være smittefarlige og må behandles som biologisk farlige materialer.
- Kast biologisk farlig material og settavfall i henhold til lokale sikkerhetsprosedyrer.

Informasjon ved nødstilfeller

CHEMTREC

USA og Canada 1-800-424-9300

Utenfor USA og Canada +1 703-527-3887

Forholdsregler

Bufrene i reagenskassetten (Reagent cartridge, RC) inneholder natriumazid. Dersom bufrene i settet blir sølt ut, rengjør med egnet laboratorievaskemiddel og vann. Dersom den utsølte væsken inneholder potensielt smittefarlige stoffer, rengjør det berørte området først med laboratorievaskemiddel og vann, og deretter med 1 % (v/v) natriumhypoklorittløsning (blekemiddel).

Følgende risiko- og sikkerhetssetninger gjelder for komponenter i QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit.

MBS3

Inneholder: Natriumazid. Advarsel! Kan være skadelig ved svelging. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

Proteinase K



Inneholder: Proteinase K. Fare! Forårsaker mild hudirritasjon. Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding. Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. Bruk åndedrettsvern. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Ta kontakt med GIFTINFORMASJONEN eller en lege. Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet.

QSE2



Inneholder: Natriumhydroksid. Fare! Gir alvorlige etseskader på hud og øyne. Innholdet/holderen må leveres til et godkjent anlegg for avfallshåndtering. **Ved kontakt med øynene:** Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. **Ved hudkontakt (eller håret):** Tilsølte klær må tas av / fjernes straks. Skyll [eller dusj] huden med vann. Ta kontakt med GIFTINFORMASJONEN eller en lege umiddelbart. Oppbevares innelåst. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

QSW9



Inneholder: Etanol. Fare! Meget brannfarlig væske og damp. Forårsaker alvorlig øyeirritasjon. Holdes vekk fra varme/gnister/åpen flamme/varme overflater. Røyking forbudt. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

Håndtering og oppbevaring av reagenser

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit skal oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C). Magnetpartiklene i reagenskassetten (Reagent cartridges, RC-er) forblir aktive ved oppbevaring innenfor dette temperaturområdet.

Merk: Etiketten på QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit-esken viser settets utløpsdato. Utløpsdatoen er for reagenskassetten.

Ikke bruk QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit etter utløpsdatoen.

Settkomponenter

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit inneholder ferdigblandet proteinase K-oppløsning som kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C).

Ikke oppbevar reagenskassetter (Reagent cartridge, RC) ved temperaturer under 15 °C.

Åpne QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit reagenskassetter (Reagent Cartridge, RC) kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C) i opptil 4 uker, hvilket muliggjør kostnadseffektiv gjenbruk av reagenser og mer fleksibel prøvebehandling, hvis de forsegles skikkelig etter bruk. Hvis en reagenskasset (Reagent cartridge, RC) er delvis brukt, må du erstatte dekslet på karet som inneholder magnetpartiklene og forsegle reagenskassetten (Reagent cartridge, RC) med de medfølgende gjenbrukbare tetningsstrimlene etter slutten av protokollkjøringen for å unngå fordampning.

For å unngå reagensfordampning skal reagenskassetten (Reagent cartridge, RC) være åpen i høyst 15 timer (inkludert kjøretider) ved en maksimal omgivelsestemperatur på 32 °C. Feilaktig oppbevaring av settets komponenter kan føre til raskere aldring av bufrene.

Kjøring av partier med få prøver (<24) øker både tiden som reagenskassetten er åpen og de nødvendige buffervolumene, og reduserer muligens det totale antallet prøveklargjøringer som er mulig per kassett.

Unngå at reagenskassetten (Reagent cartridge, RC) eksponeres for UV-lys (f.eks. brukt til dekontaminering), siden eksponering kan fremskynde aldringen av reagenskassetten (Reagent cartridge, RC) og bufrene.

Vær spesielt oppmerksom på utløpsdatoene og oppbevaringsbetingelsene angitt på komponentenes esker og etiketter. Ikke bruk komponenter som er gått ut på dato eller oppbevart feil.

Prøvetaking og -klargjøring

Rensingsprosedyren er optimalisert for bruk med plasma generert fra blod tatt i PAXgene Blood ccfDNA Tubes. For informasjon om blodprøvetaking, håndtering av disse rørene og plasmaforberedelser, se bruksanvisningen for PAXgene Blood ccfDNA Tube som du finner under fanene for Product Resource (produktressurser) og fanene for Resources (ressurser) på produktsidene på henholdsvis www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com.

Klargjøring av plasma kan gjøres ved hjelp av (A) standard dobbeltsentrifugeringsprotokoll eller (B) via håndtering av primærrør: direkte prosessering av engangssentrifugerte PAXgene Blood ccfDNA Tubes i QIASymphony SP-instrumentet.

A) Klargjøring av plasma fra blod for standardprotokoller

1. Sentrifuger PAXgene Blood ccfDNA Tube ved romtemperatur (15–25 °C) i 15 min ved 1600–3000 × g (første sentrifugering) ved å bruke en kurvsentrifuge med balansert roterende beholder. Hvis bremsing foretrekkes, anbefales bruk av middels kraftig bremsing, og bremsingen må være godkjent for den aktuelle arbeidsflyten.
Merk: Når det gjelder prøver som har vært nedkjølt før sentrifugering, vil resultatet bli best hvis du blander prøven på nytt ved å vende den tre ganger og la rørene oppnå romtemperatur før behandling.
2. Pipetter plasmaet i et 15 ml sentrifugerør med konisk bunn (følger ikke med). Pass på å ikke forstyrre cellekjernen.
3. Sentrifuger et 15 ml sentrifugerør med konisk bunn ved romtemperatur (15–25 °C) i 10 minutter ved 1600–3000 × g (andre sentrifugering) ved hjelp av en balansert sentrifuge.

Merk: Produsentens maksimale anbefalte sentrifugeringshastighet må ikke overskrides for sekundærrøret.

4. Pipetter det aktuelle plasmavolumet (se delen «Prøvevolum» på side 20) i et 14, 17 × 100 mm polystyrenrør med rund bunn, og pass på å ikke forstyrre eventuell resterende blodcellepellet.
5. Overfør røret med rund bunn som inneholder plasmaprøven, til rørholderen, og legg rørholderen i prøveinngangsskuffen på QIASymphony SP-instrumentet.

Merk: Best ccfDNA-utbytte oppnås ved å behandle maksimalt tilgjengelig plasmavolum.

Merk: Pass på at det ikke danner seg skum i eller på plasmaprøvene under pipetteringen. Skum eller luftbobler i prøvene kan føre til pipettering av feil prøvevolum.

Merk: Etter overføring av plasma til sekundærrøret er ccfDNA stabilt i plasma ved 15–25 °C i opptil 3 dager eller ved 2–8 °C i opptil 7 dager. Ved lengre oppbevaring anbefaler vi å fryse alikvoter ved –20 °C eller –80 °C.

Merk: Når du bruker tidligere lagrede plasmaprøver (f.eks. prøver som er oppbevart ved 2–8 °C eller har vært fryst ved –20 eller –80 °C), bør disse ekvilibreres til romtemperatur (15–25 °C) før du starter kjøringen. Nå det gjelder fryste prøver, se avsnittet «C) Frysing og tining av plasmaprøver behandlet fra PAXgene Blood ccfDNA Tube».

B) Plasma fra blod for håndtering i primærrør i QIASymphony SP-instrumentet

1. Sentrifuger PAXgene Blood ccfDNA Tube ved romtemperatur (15–25 °C) i 15 min ved 3000 × g ved å bruke en kurvsentrifuge med balansert roterende beholder. Hvis bremsing foretrekkes, anbefales bruk av middels kraftig bremsing, og bremsingen må være godkjent for den aktuelle arbeidsflyten.

Merk: Når det gjelder prøver som har vært nedkjølt før sentrifugering, vil resultatet bli best hvis du blander prøven på nytt ved å vende den tre ganger og la rørene oppnå romtemperatur før behandling.

2. Angi plasmavolumet i hvert rør etter at rørene er tatt ut av sentrifugebeholderen med PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool som følger med i settet (figur 3). Når røret tas ut fra sentrifugen, er den blågrønne pilen på verktøyet på linje med plasma/celle-grenseflaten. De blå linjene angir om plasmanivået er tilstrekkelig for å bruke protokollen for håndtering av primærrør på 2,4 eller 4,0 ml. En minste høyde på 2,3 cm plasma i kolonnen er påkrevet for 2,4 ml-protokollen, og en minste høyde på 3,4 cm er påkrevet for 4,0 ml-protokollen.

Merk: Hvis en klar separasjon av plasma og cellefraksjon ikke skjer, eller hvis faser ble blandet ved et uhell etter uttak fra sentrifugen, bør sentrifugeringen utføres på nytt.

Merk: Sjekk at det er en klar separasjon før røret settes i instrumentet.

3. Ta av Hemogard-hettene fra PAXgene Blood ccfDNA Tubes før du plasserer dem i QIASymphony SP-instrumentet for direkte ccfDNA-ekstraksjon.

Merk: Fjerning av rørlukkingen og håndtering av åpne rør må gjøres forsiktig for å redusere muligheten for å søle prøve, krysskontaminering mellom rør og blodeksponering.

4. Plasser åpne PAXgene Blood ccfDNA Tubes som inneholder tilstrekkelig plasma, i rørholderen, og sett inn rørholderen i prøveinngangsskuffen i QIASymphony SP-instrumentet.

C) Frysing og tining av plasmaprøver behandlet fra PAXgene Blood ccfDNA Tube

1. For frysing overføres plasmaet til egnede rør (f.eks. cryovials) og plasseres i et passende stativ.
 2. Plasma fryses og lagres ved -20°C . For oppbevaring under -20°C , frys plasmaprøvene først ved -20°C i minst 24 timer, før de overføres til -80°C .
 3. Tin plasmaet ved romtemperatur ($15-25^{\circ}\text{C}$).
4. Hvis det dannes kryopresipitater i plasmaen, virvle røret i 30 s etter tining og bruk prøven for QIASymphony SP-instrumentets ccfDNA isolasjonsprosedyre uten ytterligere behandling.

Merk: Skal ikke tines ved lav temperatur (f.eks. 4°C).

Merk: Det anbefales ikke å sentrifugere plasmaen for å fjerne kryopresipitater, fordi de kan inneholde ccfDNA.

Merk: For å unngå at det dannes kryopresipitater, kan plasma tines ved 30°C i 30 minutter i stedet for ved romtemperatur.

Prosedyre

Oversikt: Automatisert rensing av ccfDNA på QIASymphony SP-instrumentet

QIASymphony SP-instrumentet gjør automatisert prøveklargjøring enkelt og lett. Prøver, reagenser og forbruksvarer, og eluater er separert i ulike skuffer. Prøver, reagenser levert i spesielle kassetter, og forbruksvarer som er forhåndslestet i stativ, lastes rett og slett inn i den relevante skuffen før en kjøring. Start protokollen og fjern rensed ccfDNA fra skuffen «Eluate» (Eluat) etter behandling. Se brukerhåndbøkene som følger med instrumentene, for driftsinstruksjoner.

Merk: Valgfritt vedlikehold er ikke obligatorisk for instrumentfunksjon, men anbefales sterkt for å redusere risikoen for kontaminasjon.

Prøvevolum

For å sikre at 2,4 ml (PAXcircDNA_2400-protokoll) og 4,8 ml prøve (PAXcircDNA_4800-protokoll) overføres i instrumentet i en vanlig arbeidsflyt, kreves et dødvolum på hhv. 0,4 og 0,5 ml, noe som betyr at et prøvevolum på minst 2,8 og 5,3 ml må være tilgjengelig. Hvis plasmavolumet er lavere enn 2,8 eller 5,3 ml, gjør modusen **Less Sample** (mindre prøve), som er en integrert del av protokollen, det automatisk mulig å overføre et lavere plasmavolum enn angitt. I dette tilfellet overføres en mindre mengde prøve av instrumentet. Forskjellen i det pipetterte plasmavolumet vil bli registrert i resultatfilen. I tillegg blir de aktuelle prøvene flagget som **uklar** (feilkode 140043, modusen **Enable Less Sample** (Aktiver mindre prøve)). Minste plasmainngangsvolum som kreves for å aktivere modusen **Enable Less Sample** (Aktiver mindre prøve), er 1,6 ml og 4,1 ml. Prøver vil ikke bli behandlet og vil bli flagget som **ugyldig** hvis prøvevolumet er mindre. Når det gjelder arbeidsflyten for håndtering av primærrør, er et passende prøvevolum sikret ved hjelp av PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool som leveres sammen med settet, beskrevet i «Klargjøring av prøvematerialer» på side 24.

Laste reagenskassetter inn i «Reagents and Consumables»-skuffen (Reagenser og forbruksvarer-skuffen)

Reagenser for rensing av ccfdNA finnes i en innovativ reagenskassett (Reagent cartridge, RC) (se figur 3). Hvert kar i reagenskassetten inneholder en spesiell reagens, slik som magnetpartikler, bindende buffer, vaskebuffer eller elusjonsbuffer. Delvis brukte reagenskassetter kan lukkes igjen med gjenbrukbare tetningsstrimler for senere bruk, noe som forhindrer oppsamling av avfall på grunn av resterende reagenser på slutten av rensingsprosedyren.



Figur 3. QiAsymphony-reagenskassett (Reagent cartridge, RC). Reagenskassetten inneholder alle reagenser som kreves for protokollkjøringen.

Før prosedyren påbegynnes, må du sikre at magnetpartiklene er helt resuspendert. Fjern magnetpartikkelen gjennom reagenskassettenes ramme, virvle grundig i minst 3 minutter og sett den på plass i reagenskassettrammen før første bruk.

Merk: Magnetpartikler kan endre farge. Dette påvirker ikke ytelsen.

Plasser reagenskassetten i reagenskassettholderen. Før en reagenskassett (Reagent cartridge, RC) brukes for første gang, plasser stikklokket oppå reagenskassetten (Reagent cartridge, RC) (figur 3).

Merk: Stikklokket er skarpt. Vær forsiktig ved plassering på reagenskassetten. Se til å plassere stikklokket på reagenskassetten i riktig retning.

Etter at magnetpartikkelens kardeksel er fjernet, lastes reagenskassetten inn i «Reagents and Consumables»-skuffen (Reagenser og forbruksvarer-skuffen).

Delvis brukte reagenskassetter kan oppbevares til de trengs igjen (se «Håndtering og oppbevaring av reagenser» på side 14).

Merk: Det må tilsettes Proteinase K (se «Ting du må gjøre før du starter» på side 26).

Merk: Kontroller at reagenskassetter, magnetpartikkelkar og Proteinase K-flasker ikke byttes mellom forskjellige settloter.

Laste plastdeler inn i «Reagents and Consumables»-skuffen (Reagenser og forbruksvarer-skuffen)

Prøveklargjøringskassetter, 8-Rod Covers (begge forhåndsoppsatt i enhetsbokser) og Filter-Tips til engangsbruk (200 µl spisser levert i blå stativer, 1500 µl spisser levert i svarte stativer) lastes inn i skuffen «Reagents and Consumables» (Reagenser og forbruksvarer).

Merk: Sørg for at dekslene på enhetsboksene fjernes før lasting av enheten inn i «Reagents and Consumables»-skuffen (Reagenser og forbruksvarer-skuffen).

Merk: Spisser har filtre for å bidra til å forhindre krysskontaminering.

Spisstativåpninger på QIASymphony SP-instrumentarbeidsbordet kan fylles med begge spisstativtyper. QIASymphony SP-instrumentet vil identifisere typen spisser som lastes under inventarskanningen.

Merk: Ikke fyll på spisstativer eller enhetsesker for Sample Prep Cartridges eller 8-Rod Covers før en ny protokollkjøring startes. QIASymphony SP-instrumentet kan bruke delvis brukte spisstativer og enhetsesker.

For bestillingsinformasjon for plastdeler, se side 38.

Laste skuffen «Waste» (Avfall)

Sample Prep Cartridges og 8-Rod Covers som brukes under en kjøring er forhåndsplassert i tomme enhetsesker i «Waste»-skuffen (Avfallsskuffen). Se til at «Waste»-skuffen (Avfallsskuffen) inneholder tilstrekkelig med tomme enhetsesker for plastavfall som genereres under protokollkjøringen.

Merk: Se til at dekslene på enhetsboksene fjernes før lastning av enheten inn i «Waste»-skuffen (Avfallsskuffen). Hvis du bruker 8-Rod Cover-esker til å samle brukte prøveklargjøringskassetter og 8-Rod Covers, se til at eskeavstandsstykket har blitt fjernet.

En pose for brukte Filter-Tips må festes til framsiden av «Waste»-skuffen (Avfall).

Merk: Systemet kontrollerer ikke om det finnes en pose for brukte spisser. Kontroller at posen for brukte spisser sitter ordentlig fast før en protokollkjøring startes. For mer informasjon, se brukerhåndbøkene som leveres med instrumentet. Tøm spissposen når maksimalt 96 prøver har blitt behandlet for å unngå spissfastkjøring.

En avfallsbeholder samler væskeavfall som genereres under rensingsprosedyren. «Waste»-skuffen (Avfallsskuffen) kan kun lukkes hvis avfallsbeholderen er på plass. Bortskaff væskeavfallet ifølge de lokale sikkerhets- og miljøforskriftene. Ikke autoklaver den fylte avfallsflasken. Tøm avfallsflasken når maksimalt 96 prøver har blitt behandlet.

Laste skuffen «Eluate» (Eluat)

Last inn elusjonsstativet som skal brukes, i skuffen «Eluate» (Eluat). Siden langvarig oppbevaring av eluater i «Eluate»-skuffen (Eluatskuffen) kan føre til fordamping eller kondens, må nedkjølingsposisjonen brukes. Bruk kun «Elution slot 1» (Elusjonsspor 1) med tilhørende kjøleadapter.

Valgt elusjonsvolum (μl)*	Innledende elusjonsvolum (μl)†
60	75

* Dette er minimum tilgjengelig eluatvolum i det endelige elusjonsrøret for QIAGEN EMT-stativet (kat.nr. 19588) og 1,5 ml Sarstedt skruhetterør (kat.nr. 72.607). I enkelttilfeller kan det endelige eluatvolumet for enkeltprøver være inntil 5 μl mindre.

† Det innledende volumet av elusjonsbuffer som kreves for å sikre at det faktiske eluatvolumet er det samme som det valgte volumet.

Inventarskanning

Før du starter en kjøring kontrollerer instrumentet at det er lastet en tilstrekkelig mengde forbruksvarer for de ventende partiene i de tilhørende skuffene.

Klargjøring av prøvematerialer

Se «Prøvetaking og -klargjøring», på side 16.

Oppbevaring av ccfDNA

Etter prøveklargjøring kan ccfDNA-eluater oppbevares ved -20 eller -80 °C. Fryste eluater skal ikke tines mer enn tre ganger. For mest mulig oppdatert informasjon om ccfDNA-stabilitet i eluater, se produksiden på www.qiagen.com eller www.PreAnalytiX.com.

Protokolloversikt

Tabell 1. Protokolloversikt

Prøve	Behandling av PAXgene Blood ccfDNA Tube	Prøveinngangsvolum (inkl. dødsvolum) (ml)	Prøvevolum brukt til ccfDNA-ekstraksjon (ml)	Elusjonsvolum (µl)	QIASymphony SP-instrument-protokoll
Plasma generert fra humant venøst fullblod tatt i PAXgene Blood ccfDNA Tubes	2x sentrifugering, plasmaoverføring til sekundærrør	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	1x sentrifugering, direkte behandling på QIASymphony SP-instrumentet	I henhold til valgverktøy	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Viktige punkter før du starter

- Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier og biologiske prøver. Mer informasjon finnes i de aktuelle SDS-ene.
- Sørg for at du er kjent med bruken av QIASymphony SP-instrumentet. Se brukerhåndbøkene som følger med instrumentene, for driftsinstruksjoner.
Merk: Nødvendig programvarekonfigurasjon for IVD-bruk er **Default Profile 1** (Standardprofil 1).
- Før du starter prosedyren, les avsnittet «Prosedyreprinsipper».
- Sørg for at du er kjent med protokollarket og listen over laboratorieutstyr. (Du finner listen under fanene for Product Resource (produktressurser) og fanene for Resources (ressurser) på produktsidene på henholdsvis www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com).
- Ikke rist reagenskassetten for kraftig. Det kan gi skumdannelse, noe som kan føre til problemer med deteksjon av væskeniivå.

- Blod må tas i PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD; PreAnalytiX, kat. nr. 768165). For instruksjon om blodprøvetaking, håndtering og plasmaforberedelser, se bruksanvisningen for røret som du finner under fanene for **Product Resources** (produktressurser) og fanene for Resources (ressurser) på produksidene på henholdsvis www.qiagen.com eller www.PreAnalytiX.com.

Ting du må gjøre før du starter

- Før prosedyren påbegynnes, må du sikre at magnetpartiklene er helt resuspendert. Roter karet som inneholder magnetpartiklene, kraftig i minst 3 minutter før første gangs bruk.
- Kontroller at stikklokket plasseres på RC-en, og at lokket på karet med magnetpartiklene er fjernet eller, hvis du benytter en delvis brukt RC, sørg for at de gjenbrukbare tetningsremsene er fjernet.
- Proteinase K er ikke inkludert i reagenskassetten, men må skaffes av brukeren (prøveskuff, spor A, posisjon 1 og/eller 2). Forsikre deg om at riktig volum Proteinase K er tilgjengelig.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit inneholder bruksklar proteinase K-løsning. Proteinase K kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C). Vi foreslår at du oppbevarer enzymglassene med Proteinase K ved 2–8 °C ved oppbevaring i lengre perioder.

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

* For hver prøve må du bruke 110 µl (for 2400 µl plasma) eller 220 µl (for 4800/4000 µl plasma) i tillegg til et ekstra dødvolum på 1100 µl [(n × 110 eller 220 µl) + 1100 µl].

[†] Hvis det kreves mer enn 11 660 µl, må et rør nummer to benyttes (Corning, kat.nr. 352051). Til det andre røret kreves et ekstra dødvolum på 1100 µl.

Merk: Rør som inneholder proteinase K, plasseres i en rørholder. Rørholderen som inneholder proteinase K, skal plasseres i posisjon 1 og/eller 2 i spor A i skuffen «Sample» (Prøve). Vi anbefaler å bruke 14 ml 17 × 100 mm polystyrenrør med rund bunn (Corning, kat.nr. 352051) for Proteinase K.

- Hvis prøvene er strekkodet, plasser prøvene i rørholderen slik at strekkodene vender mot strekkodeleseren på venstre side av QIASymphony SP-instrumentet.
- For informasjon om prøverør og minste prøvevolum kompatibel med protokollene, se den tilsvarende listen over laboratoriestyr som du finner under fanene for Product Resource (produktressurser) og fanene for Resources (ressurser) på produktsidene på henholdsvis www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com.

Protokoll: Automatisert rensing av ccfDNA på QIASymphony SP-instrumentet

Detaljert informasjon for hver protokoll, inkludert volumer og rør, finnes i protokollarket og listen over laboratoriestyr som finnes under fanene for Product Resource (produktressurser) og fanene for Resources (ressurser) på produktsidene på henholdsvis www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com. For forberedelse av prøvematerialet (plasma generert fra humant venøst fullblod tatt i PAXgene Blood ccfDNA Tube), se avsnittene «Prøvetaking og -klargjøring» og «Klargjøring av prøvematerialer» i denne håndboken, samt bruksanvisningen for røret som du finner under fanene for **Product Resources** (produktressurser) og fanene for Resources (ressurser) på produktsidene på henholdsvis www.qiagen.com eller www.PreAnalytiX.com.

1. Lukke alle skuffer og hetten.
2. Slå PÅ QIASymphony SP-instrumentet, og vent til skjermbildet Sample Preparation (Prøveklargjøring) vises og initialiseringsprosedyren er fullført.
3. Strømbryteren er plassert nederst i venstre hjørne av QIASymphony SP-instrumentet.
4. Logg på instrumentet.

Last inn elusjonsstativet som skal brukes, i skuffen «Eluate» (Eluat).

Ikke last inn en plate med 96 brønner i «Elution slot 4» (Elusjonsspor 4). «Elution slot 1» (Elusjonsspor 1) med tilhørende nedkjølingsadapter skal brukes.

Ved bruk av en plate med 96 brønner må du påse at platen er riktig orientert, ettersom feil plassering kan føre til forveksling av prøver i nedstrømsanalyser.

Ved bruk av Elution Microtubes CL-stativet må du fjerne bunnen ved å rotere stativet til bunnen løsner.

5. Kontroller at skuffen «Waste» (Avfall) er klargjort riktig, og utfør en skanning av beholdningen i skuffen, inkludert rennen for spisser, parkeringsstasjonen for spisser, tøm beholderen for væskeavfall og tøm enhetsboksene. Bytt ut posen for brukte spisser om nødvendig.
6. Last inn den/de nødvendige reagenskassetten(e) og forbruksmaterialene i skuffen «Reagents and Consumables» (Reagenser og forbruksmaterialer).

- Utfør en skanning av beholdningen i skuffen «Reagents and Consumables» (Reagenser og forbruksmaterialer).
- Plasser prøvene i den riktige prøvebæreren og last dem inn i skuffen «Sample» (Prøve).

Merk: I tillegg til vanlig behandling, inkludert plasmaoverføring i et egnet sekundærrør (14 Falcon® polystyrenrør med rund bunn 17 × 100 mm) plassert i den riktige prøveholderen, lar arbeidsflyten med PAXgene Blood ccfDNA Tube primærrørhåndtering deg ekstrahere ccfDNA direkte fra PAXgene Blood ccfDNA Tube (10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube, 16 × 100 mm). Du finner mer informasjon om håndtering av primærrør i protokollarket, listen over laboratorieutstyr og bruksanvisningen for røret som du finner under fanene for Product Resources (Produktressurser) og fanene for Resources (Ressurser) på produktsidene på henholdsvis www.qiagen.com eller www.PreAnalytiX.com.

- Bruk berøringsskjermen og legg inn opplysningene som kreves for hvert parti med prøver og for Proteinase K som skal behandles.

Legg inn følgende informasjon:

- Prøveinformasjon (avhengig av anvendte prøvestativ, velg BD #352051 FalconPP 17 × 100 eller BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100)
- Protokoll som skal kjøres (Assay Control Set (Analysekontrollsett))
- Elusjonsvolum og utgangsposisjon

Etter at opplysningene om partiet er lagt inn, endres statusen fra LOADED (LASTET) til QUEUED (I KØ). Med en gang ett parti er satt i kø, vises knappen Run (Kjør).

- Plasser Proteinase K i egnet prøveholder på posisjon 1 og 2, og last dem i posisjon A i skuffen «Sample» (Prøve).
- Definer Proteinase K ved å trykke på **IC**-knappen.
- Trykk på knappen Run (Kjør) for å starte renseprosedyren. Alle behandlingstrinn er helautomatiserte. Mot slutten av kjøringen av protokollen endres statusen for partiet fra RUNNING (KJØRER) til COMPLETED (FULLFØRT).

13. Ta ut elusjonsstativet med rensed ccfDNA fra skuffen «Eluate» (Eluat). Bekreft at elusjonsstativet er fjernet i QIASymphony SP-instrumentets programvare.

14. ccfDNA er klart til bruk eller kan oppbevares ved -20°C eller -80°C i opptil 6 måneder. QIAGEN anbefaler at elueringsplaten fjernes fra skuffen «Eluate» (Eluat) umiddelbart etter at kjøringen er ferdig. Avhengig av temperatur og fuktighet kan elusjonsplater som blir værende i QIASymphony SP-instrumentet etter at kjøringen er fullført, bli utsatt for kondens eller fordamping.

Merk: Ved å bruke kjølefunksjonen i QIASymphony SP-instrumentet er det mulig med kjøringer over natten.

Generelt overføres ikke magnetpartikler til eluater. Hvis det skjer medrivning, vil magnetpartikler i eluatene ikke påvirke de fleste nedstrømsanvendelser.

Hvis det er nødvendig å fjerne magnetpartikler før applikasjoner nedstrøms utføres, skal rør eller plater som inneholder eluater først plasseres i en passende magnet og eluatene overføres til et rent rør (se «Vedlegg: Kvantifisering av ccfDNA»). Resultatfiler genereres for hver elusjonsplate.

15. Hvis en reagenskasset (Reagent cartridge, RC) kun er delvis brukt, må du forsegle den med de medfølgende gjenbrukbare tetningsstrimlene etter protokollkjøringen for å unngå fordamping.

Merk: For mer informasjon om oppbevaring av delvis brukte reagenskassetter, se «Håndtering og oppbevaring av reagenser».

16. Kast brukte prøverør og avfall i henhold til lokale sikkerhetsprosedyrer. Se «Advarsler og forholdsregler» for sikkerhetsinformasjon.

17. Rengjør QIASymphony SP-instrumentet.

Følg vedlikeholdsinstruksjonene i brukerhåndbøkene som følger med instrumentet. Vær nøye med å rengjøre spissbeskyttelsene regelmessig for å redusere faren for krysskontaminering.

18. Lukk instrumentskuffene og slå AV QIASymphony SP-instrumentet.

Kvalitetskontroll

I henhold til QIAGENs ISO-sertifiserte kvalitetsstyringssystem testes hvert parti med QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit mot forhåndsbestemte spesifikasjoner for å sikre konsekvent produktkvalitet.

Begrensninger

Systemets ytelse har blitt etablert gjennom ytelsesvurderingsstudier med rensing av ccfDNA fra plasma generert fra humant venøst fullblod tatt i PAXgene Blood ccfDNA Tube.

Ytelsesegenskapene til QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit er etablert med 18S ribosomal og DYS14 Y-chromosomal ccfDNA-fragmenter i plasma.

Det er brukerens ansvar å verifisere systemytelsen for alle prosedyrer anvendt i laboratoriet som ikke dekkes av QIAGENs og PreAnalytiX' ytelseevalueringstudier.

For å redusere risikoen for negativ innvirkning på de diagnostiske resultatene skal det brukes egnede kontroller for nedstrømsapplikasjoner. Alle diagnostiske resultater som genereres, må tolkes i sammenheng med andre kliniske funn eller laboratoriefunn.

Feilsøkingsveiledning

Denne feilsøkingsveiledningen kan være nyttig for å løse problemer som kan oppstå. For kontaktopplysninger og en liste over Ofte stilte spørsmål, gå til den aktuelle produktsiden på www.PreAnalytiX.com eller www.qiagen.com.

Kommentarer og forslag	
Generell håndtering	
a) Feilmelding vist på berørings skjermen	Hvis det vises en feilmelding under en protokollkjøring, se brukerhåndbøkene som leveres med instrumentet.
b) Varierende eluatvolum etter kjøring over natten	For å optimalisere gjennomstrømningen støtter QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit behandling av prøver gjennom natten ved nedkjøling av eluater på QIASymphony SP-instrumentet. Under lange nedkjølingsperioder, kan eluatvolumer endre seg avhengig av temperaturen og luftfuktigheten i laboratoriet. Hvis det valgte volumet var for eksempel 60 µl ved 15–25 °C og 30–60 % luftfuktighet, kan volumet være i området 50–85 µl etter 12 timers lagring på instrumentet.
Kryopresipitater etter tining av plasmaprøver	
a) Kryopresipitater dannes i plasmaen	For å unngå at det dannes kryopresipitater, kan plasmaen tines ved 30 °C i 30 minutter i stedet for ved romtemperatur. Skal ikke tines ved lav temperatur (f.eks. 4 °C). Virvelblende røret i 30 sekunder etter tining
b) Lavt utbytte av ccfDNA fra plasma etter fjerning av kryopresipitatet	Ikke sentrifugere plasmaen for å fjerne kryopresipitater, fordi de kan inneholde ccfDNA.
Utilstrekkelig plasmavolum fra PAXgene Blood ccfDNA Tubes	
a) Mindre enn 10 ml blod tappet i PAXgene Blood ccfDNA Tube	Pass på at 10 ml blod er tappet i PAXgene Blood ccfDNA Tube. Se bruksanvisningen for PAXgene Blood ccfDNA Tube.
b) Høy cellefraksjon	Høyt cellefraksjonsnivå (hematokritt) i humant fullblod (f.eks. over 51 % for menn eller 47 % for kvinner) kan føre til reduserte plasmavolum.
c) Lavt utbytte av plasma etter sentrifugering	Lengre lagrings- og transporttid for blod eller andre sentrifugeringsbetingelser enn spesifisert kan ha en virkning på plasmamengden.
Presipitat i kar til åpnet reagenskasset på QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit	
a) Bufferfordampning	Kraftig fordampning kan føre til økt saltkonsentrasjon i bufrene. Kasser reagenskassetten. Sørg for å forsegle bufferkarene til delvis brukte reagenskassetter med gjenbrukbare tetningsstrimler når de ikke brukes til rensing.

Kommentarer og forslag	
b) Oppbevaring av reagenskassetter	Oppbevaring av reagenskassetter under 15 °C kan føre til at det dannes presipitater.
Lavt utbytte av ccfDNA	
a) De magnetiske partiklene ble ikke helt resuspendert	Før prosedyren påbegynnes, må du sikre at magnetpartiklene er helt resuspendert. Roter i minst 3 min. før bruk. Ufullstendig resuspensjon kan føre til pipetteringsfeil.
b) Tilstopping av pipettespissen på grunn av uoppløselig materiale	Uoppløselig materiale ble ikke fjernet fra prøven før start av QIASymphony SP-instrumentets rensingsprosedyre.
c) Prøvematerialet inneholder lave konsentrasjoner av ccfDNA	For di det er svært små mengder ccfDNA i plasmaprøver, kan måling av ccfDNA-konsentrasjonen være utfordrende avhengig av kvantifiseringsmetoden som brukes. Bruk av følsom qPCR anbefales for å kontrollere ccfDNA-konsentrasjonen i eluater.
d) Ufullstendig ny forsegling av reagenskassetter	Utveksling med omgivelsesluft kan føre til redusert stabilitet på bufrene og føre til redusert effektivitet på ccfDNA-ekstraksjonen med en delvis bruk reagenskasset. Sørg for å omhyggelig forsegle bufferkarene til delvis brukte reagenskassetter med Reuse Seal Strips når de ikke brukes til rensing.
Lav ccfDNA-ytelse i nedstrømsanvendelser	
a) Eluat konsentrert med vakuumsentrifugering	Ikke konsentrer eluatet med vakuumsentrifugering (f.eks. i en SpeedVac® eller lignende instrument). Dette kan føre til degradering på grunn av høy temperatur og konsentrerte salter i eluatet, som kan forstyrre nedstrøms anvendelser.
b) Kulemedring	Generelt overføres ikke magnetpartikler til eluater. Hvis det skjer medring, vil magnetpartikler i eluatene ikke påvirke de fleste nedstrømsanvendelser. Hvis det trengs svært høye porsjoner med eluater for spesifikke nedstrømsanalyser, kan eluater spinnes ned og overføres til et rent rør.












Kommentarer og forslag

Ingen/ufullstendig prøveoverføring

a)	Feil prøvevolum er lastet inn for standardprotokoller	Hvis det lastes inn mindre prøvevolum enn spesifisert, er det en økt risiko for uklar flagging av prøven, eller at prøven ikke overføres (ugyldig flagging). Last inn det riktige prøvevolumet som beskrevet i det tilsvarende protokollarket og listen over laboratorieutstyr.
b)	Bobler og/eller skum i prøverøret	Bobler eller skum i prøven og/eller prøveinngangsrøret kan føre til feilaktig deteksjon av væsknivå og påfølgende ufullstendig overføring av prøven. Fjern boblene fra prøverøret.

Symboler

Følgende symboler kan vises i bruksanvisningen eller på emballasjen og merkingen. Ytterligere symboler er forklart i Settets innhold (side 9).

Symbol	Symboldefinisjon
	Inneholder reagenser som er tilstrekkelig til <N> tester Indikerer det totale antallet IVD-tester som kan utføres med IVD-en.
	Brukes innen
	In vitro-diagnostisk medisinsk enhet
	CE-merke. Dette produktet oppfyller kravene i den europeiske bestemmelsen 2017/746 for in vitro-diagnostiske medisinske enheter.
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialnummer (dvs. komponentmerking)
	Komponenter (dvs. en liste over hva som er inkludert)
	Inneholder (innhold)
	Antall (dvs. hetteglass, flasker)
	Globalt handelsvarenummer
Rn	R står for revisjon av bruksanvisningen (håndboken), og n er revisjonsnummeret



Temperaturbegrensning



Produsent



Se bruksanvisningen



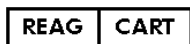
Forsiktig



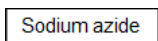
Proteinase K



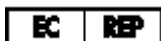
Brønnummer (dvs. reagenskassetbrønn)



Reagenskasset



Natriumazid



Europeisk autorisert representant i henhold til forordning (EU) 2017/746

Vedlegg: Kvantifisering av ccfDNA

På grunn av de svært lave konsentrasjonen av ccfDNA i prøvematerialer, anbefales det ikke å måle DNA med et spektrofotometer. For å bestemme konsentrasjonen av ccfDNA, skal det brukes en følsom og nøyaktig fluorescensbasert kvantitierungsanalyse eller et real-time PCR-analyse.

Hvis det er nødvendig å fjerne magnetpartikler, sett røret som inneholder DNA-et i en egnet magnetseparator (f.eks. QIAGEN 12-Tube Magnet, kat.nr. 36912) til magnetpartiklene er separert.

Hvis DNA er i mikroplater, sett mikroplaten i en egnet magnetseparator (f.eks. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, kat.nr. 36915) til magnetpartiklene er separert. Hvis en egnet magnetisk separator ikke er tilgjengelig, må røret som inneholder DNA-et sentrifugeres i 1 minutt ved full hastighet i en mikrosentrifuge for å pelletere gjenværende magnetpartikler.

Bestillingsinformasjon

Produkt	Innhold	Kat.nr.
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Inkluderer to reagenskassetter, Proteinase K-rør og tilbehør	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)(100)	100 rør: 16 × 100 mm, 1,5 ml tilsetning, 10 ml blodprøvetakingsvolum	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	QIASymphony-prøveklargjøringsmodul, 1 års garanti på deler og arbeid	9001297
Relaterte QIAGEN-produkter		
Proteinase K (10 mL)	1 × 10 ml flaske	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	Reagenskassettholder til bruk med QIASymphony SP-instrument	997008
Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym	Nedkjølingsadapter for 2 ml skruhetterør. Til bruk i QIASymphony SP-instrumentets «Eluate»-skuff (Eluatskuff)	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Nedkjølingsadapter for EMT-stativ. Til bruk i QIASymphony SP-instrumentets «Eluate»-skuff (Eluatskuff)	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Kjøleadapter for 1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock-rør. Til bruk i QIASymphony SP-instrumentets «Eluate»-skuff (Eluatskuff)	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Prøveklargjøringskassetter med 8 brønner for bruk med QIASymphony SP-instrumentet	997002
8-Rod Covers (144)	8-Rod Covers til bruk med QIASymphony SP-instrumentet	997004

Produkt	Innhold	Kat.nr.
Filter-Tips, 200 µL (1024)	Disposable Filter-Tips, i stativ, (8 × 128). Til bruk med QIAcube®- og QIASymphony SP/AS-instrument	990332
Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024)	Disposable Filter-Tips, i stativ, (8 × 128). Til bruk med QIASymphony SP/AS-instrument	997024
Tip Disposal Bags (15)	Tip disposal bags til bruk med QIASymphony SP-instrumentet	9013395
12-Tube Magnet	Magnet for separasjon av magnetpartikler i 12 × 1,5 ml eller 2 ml rør	36912
96-Well Magnet Type A	Magnet for separasjon av magnetpartikler i brønner med 96-brønners plater, 2 × 96-Well Microplates FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Tetningssett til gjenbruk for forsegling av delvis brukte QIASymphony-reagenskassetter	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Usterile polypropylenrør (0,85 ml maksimumskapasitet, mindre enn 0,7 ml oppbevaringskapasitet, 0,4 ml elusjonskapasitet), 2304 i stativ på 96, inkludert hetteremser	19588
Caps for Elution Microtubes (50 × 8)	Hetter til Elution Microtubes (50 × 8)	19591
14 mL Falcon Tube	Rundbunnet rør i polystyren 17 × 100 mm brukt som prøveholder for QIASymphony SP-instrumentet	Corning, 352051

Dokumentets revisjonshistorikk

Revisjon	Beskrivelse
R1, mai 2021	Første versjon
R2, mai 2022	Fjernet «(CE-IVD)» i noen sammenhenger. Oppdatert settinnholdtabellen. Inkludert www.PreAnalytiX.com når det gjelder hvor relaterte ressurser kan finnes. Spesifisert «prøvematerialer» som «blodprøvematerialer» under avsnittet Sikkerhetsinformasjon. Endret «Kast prøve- og analyseavfall» til «Kast biologisk farlig material og settavfall» under avsnittet med sikkerhetsinformasjon. Oppdatert avsnittene «A) Klargjøring av plasma fra blod for standardprotokoller» og «B) Plasma fra blod for håndtering i primærrør i QIASymphony SP-instrumentet».
R3, februar 2023	Endret adresse for PreAnalytiX GmbH fra «Feldbachstrasse» til «Garstligweg 8». Oppdatert avsnittet Forholdsregler. Lagt til nødsinformasjon i avsnittet Sikkerhetsinformasjon. Korrigert katalognummer for Proteinase K (100 ml) i Bestillingsinformasjon. Endringer i oppsett og redigering.

Merknader

Merknader



Du finner oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser i håndboken eller bruksanvisningen for det aktuelle PreAnalytiX®- eller QIAGEN®-settet. Håndbøker og bruksanvisninger for PreAnalytiX- og QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENS tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Du finner mer på: www.PreAnalytiX.com

HB-2866-003 02/2023

