

Brugsanvisning til QIASymphony® DSP Circulating DNA Kit (protokolark)

circDNA_2000_DSP_V2 og circDNA_4000_DSP_V2

Version 2



Til in vitro-diagnostisk brug

Til brug med QIASymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Protokolarket er tilgængeligt i digital form og kan findes på fanen Resource (ressourcer) på siden Product på www.qiagen.com.

Generelle oplysninger

Til in vitro-diagnostisk brug.

Denne protokol vedrører oprensning af humant cirkulerende cellefrit DNA fra frisk eller frossen humant plasma og human urin ved hjælp af QIASymphony DSP Circulating DNA Kit og QIASymphony SP-instrumentet.

| | | |
|--|--|--------------------------|
| Kit | QIASymphony DSP Circulating DNA Kit | |
| Katalognr. | 937556 | |
| Prøvemateriale | Humant plasma: <ul style="list-style-type: none">Fra blodprøvetagningsrør med ccfDNA-profilstabilisatorer (f.eks. Cell-Free DNA BCT®, Streck®)fra blodprøvetagningsrør med ccfDNA-profilstabilisatorer (f.eks. EDTA) Human urin: <ul style="list-style-type: none">Med cfDNA-profilstabilisatorerUden cfDNA-profilstabilisatorer | |
| Protokolnavn | circDNA_2000_DSP_V2 | circDNA_4000_DSP_V2 |
| Standardanalysekontrolsæt | ACS_circDNA_2000_DSP_V2 | ACS_circDNA_4000_DSP_V2 |
| Elueringsmængde | 60 µl | 60 µl |
| Påkrævet softwareversion | Version 4.0 eller højere | Version 5.0 eller højere |
| Nødvendig softwarekonfiguration til IVD-brug | Standardprofil 1 | Standardprofil 1 |

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er), som kan fås hos produktets leverandør.

Skuffen "Sample" (prøve)

| | |
|---------------------|---|
| Prøvetype | Humant plasma og human urin (se "Klargøring af prøvemateriale") |
| Prøvevolumen | Afhænger af det anvendte prøveglas Vedr. yderligere information henvises til listen over laboratorieartikler på fanen Resource (ressourcer) på siden Product på www.qiagen.com . |
| Primære prøveglas | i/r |
| Sekundære prøveglas | Vedr. yderligere information henvises til listen over laboratorieartikler på fanen Resource (ressourcer) på siden Product på www.qiagen.com . |
| Indsatser | i/r |
| Andet | Proteinase K skal tilsættes i position A (position 1, 2 og/eller 3) |

i/r = ikke relevant.

Klargøring af proteinase K i Skuffen "Sample" (prøve)

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit indeholder brugsklar Proteinase K-opløsning, der kan opbevares ved stuetemperatur.

Bemærk: Rørene med proteinase K er anbragt i en rørholder. Røret/rørene med proteinase K skal anbringes i position 1, 2 og/eller 3 i plads A i skuffen "Sample" (prøve). Vedrørende den påkrævede glastype henvises til listen over laboratorieartikler på fanen Resource (ressourcer) på siden Product på www.qiagen.com.

| Antal prøver* | circDNA_2000_DSP (µl) | circDNA_4000_DSP (µl) |
|---------------|-----------------------|-----------------------|
| 8 | 1980 | 2860 |
| 24 | 3740 | 6380 |
| 48 | 6380 | 11 660 |
| 72 | 9020 | 18 040† |
| 96 | 11 660 | 23 320† |

* Til hver prøve skal der anvendes 110 µl til circDNA_2000_DSP eller 220 µl til circDNA_4000_DSP plus en yderligere tom mængde på 1100 µl [(n x 110 eller 220 µl) + 1100 µl].

† Til circDNA_4000_DSP: Brug endnu et glas, hvis der behandles flere end 48 prøver. Den maksimale fyldningsmængde pr. glas er 11.660 µl. Til det andet glas skal der anvendes endnu en tom volumen på 1100 µl.

Skuffen "Reagents and Consumables" (reagenser og forbrugsartikler)

| | |
|-------------------------|---|
| Position A1 og/eller A2 | Reagensbeholder (Reagent Cartridge, RC) |
| Position B1 | i/r |
| Spidsrackholder 1-18 | Engangsfilterspidser, 200 µl eller 1500 µl |
| Enhedsbokholder 1-4 | Enhedsboks med prøveklargøringskassetter eller 8-Rod Covers |

i/r = ikke relevant.

Skuffen "Waste" (affald)

| | |
|--------------------------|--------------------|
| Enhedsbokholder 1-4 | Tomme enhedsbokse |
| Affaldsposeholder | Affaldspose |
| Væskeaffaldsflaskeholder | Væskeaffaldsflaske |

Skuffen "Eluate" (eluat)

| | |
|---|---|
| Elueringsrack (vi anbefaler at anvende åbning 1, afkølingsposition) | Vedr. yderligere information henvises til listen over laboratorieartikler på fanen Resource (ressourcer) på siden Product på www.qiagen.com . |
|---|---|

Påkrævede plastikprodukter

Protokol circDNA_2000_DSP

| Plastemner | Et batch 24 prøver* | To batches 48 prøver* | Tre batches 72 prøver* | Fire batches 96 prøver* |
|---|------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Disposable filter-tips, 200 µl ^{††} | 28 | 56 | 84 | 112 |
| Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††} | 56 | 112 | 168 | 224 |
| Sample prep cartridges [§] | 15 | 30 | 45 | 60 |
| 8-Rod Covers [¶] | 3 | 6 | 9 | 12 |

* Anvendelse af mindre end 24 prøver pr. batch reducerer antallet af engangsfilterspidser påkrævet pr. kørsel.

[†] Der er 32 filterspidser/spidsrack.

[‡] Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. RC.

[§] Der er 28 prøveklargøringskassetter/enhedsboks.

[¶] Der er 12 8-Rod Covers/enhedsboks.

Protokol circDNA_4000_DSP

| Plastemner | Et batch 24 prøver* | To batches 48 prøver* | Tre batches 72 prøver* | Fire batches 96 prøver* |
|---|------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Disposable filter-tips, 200 µl ^{††} | 28 | 56 | 84 | 112 |
| Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††} | 96 | 192 | 288 | 384 |
| Sample prep cartridges [§] | 18 | 36 | 54 | 72 |
| 8-Rod Covers [¶] | 3 | 6 | 9 | 12 |

* Anvendelse af mindre end 24 prøver pr. batch reducerer antallet af engangsfilterspidser påkrævet pr. kørsel.

[†] Der er 32 filterspidser/spidsrack.

[‡] Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. RC.

[§] Der er 28 prøveklargøringskassetter/enhedsboks.

[¶] Der er 12 8-Rod Covers/enhedsboks.

Bemærk: Antallet af angivne filterspidser kan afvige fra det antal, der vises på berøringskærmen, afhængigt af indstillinger, for eksempel antal interne kontroller, der er anvendt pr. batch.

Elueringsmængde

| Valgt elueringsmængde | Initial elueringsmængde |
|-----------------------|-------------------------|
| 60 µl | 75 µl |

Elueringsmængde vælges på berøringskærmen. Den tilgængelige middel-elueringsmængde er ≥ 60 µl. I enkelte tilfælde kan den endelige eluatvolumen for enkelt prøver være op til 5 µl mindre end den valgte volumen (f.eks., 55 µl). Det anbefales at kontrollere den faktiske eluatvolumen, når der anvendes et automatisk analyseopsætningssystem, der ikke bekræfter eluatvolumen før overførsel.

Opbevaring af eluater

Bemærk: Eluatets stabilitet afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. Den er blevet fastlagt for QIASymphony DSP Circulating DNA Kit i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Det er brugerens ansvar at læse i brugsanvisningen om den specifikke efterfølgende anvendelse, der anvendes i det pågældende laboratorium, og/eller validere hele arbejdsgangen for at etablere passende opbevaringsbetingelser.

Det anbefales at fjerne eluatpladen fra skuffen "Eluate" (eluat), straks efter at kørslen er færdig. Elueringsplader kan blive siddende natten over i QIASymphony SP, efter at kørslen er færdig (maks. 16 timer, inkl. kørselstiden; anbefalede omgivende forhold: 18-26 °C og 20-75% relativ luftfugtighed). Afhængigt af temperatur og luftfugtighed kan eluatet kondensere eller fordampe.

Efter klargøring af prøve kan eluater opbevares ved 2-8 °C i op til 1 måned og ved -20 °C eller ved -80 °C i op til 2 måneder. Nedfrosne eluater må ikke tøs op mere end 3 gange.

Klargøring af prøvemateriale

Bemærk: Prøvens stabilitet afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. Den er blevet fastlagt for QIASymphony DSP Circulating DNA Kit i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Det er brugerens ansvar at læse i brugsanvisningen om den specifikke efterfølgende anvendelse, der anvendes i det pågældende laboratorium, og/eller validere hele arbejdsgangen for at etablere passende opbevaringsbetingelser.

Humant plasma

Ved brug af blodprøvetagningsrør med ccfDNA-profilstabilisatorer skal producentens instruktioner om at udføre klargøring, opbevaring, transport og generel håndtering af plasma følges. Ved brug af blodprøvetagningsrør uden ccfDNA-profilstabilisatorer, og hvis instruktioner for klargøring, opbevaring, transport og generel håndtering af plasma er tilgængelige fra udbyderen af den dedikerede undersøgelsesprocedure, skal disse følges. For flere detaljer henvises til ISO 20186-3:2019 (E) Molekylære in vitro-diagnostiske undersøgelser – Specifikationer for præanalytiske processer ved undersøgelse af venøst fuldblod – Del 3: Isoleret cirkulerende cellefri DNA fra plasma.

Uafhængigt af blodprøvetagningsrørsproducentens instruktioner bør følgende aspekter overvejes i henhold til ISO 20186-3:2019 (E) for automatisk ccfDNA-ekstraktion fra plasma ved hjælp af QIASymphony DSP Circulating DNA Kit og QIASymphony SP-instrumentet.

Blodprøver uden ccfDNA-profilstabilisator kan bruges til plasmapræparation (f.eks. EDTA-blodprøvetagningsrør). Plasma klargjort fra rør med ccfDNA-profilstabilisator kan også anvendes (i eksemplet Cell-Free DNA BCT fra Streck).

Det anbefales at udføre plasmaseparation straks efter bloddonation, når EDTA eller citrat anvendes som antikoagulan.

Til visse efterfølgende anvendelser kan det være nødvendigt at udelukke eller minimere nukleinsyrer fra vesikler. I disse tilfælde anbefales det at udføre et centrifugeringstrin ved høj hastighed ved 16.000 x g i 10 minutter ved stuetemperatur (15-25 °C) efter initial plasmageneration.

Efter opsamling og centrifugering kan plasma opbevares ved stuetemperatur i op til 7 dage og ved 2-8 °C i op til 14 dage. Ved længerevarende opbevaring op til 24 måneder anbefales det at nedfryse alikvoter ved -20 °C eller -80 °C. Nedfrosset plasma må ikke tøs op mere end 3 gange. Gentagne fryse-tø-cykler medfører denaturering og udfældning af proteiner, der kan medføre reducerede udbytte af cirkulerende cellefrie nukleinsyrer. Det anbefales at optø plasma i et vandbad ved 30 °C i 30 min. Hvis kryopræcipitater er synlige i prøverne, skal de fjernes, før prøven sættes på instrumentet. Kryopræcipitater kan opløses ved at vortexblende prøven (sørg for, at eventuelt synligt skum oven på prøven fjernes, før prøven sættes på instrumentet). Alternativt kan kryopræcipitater fjernes ved centrifugering og overførsel af supernatanten uden at forstyrre pelleten til et sekundært prøverør (se listen med laboratorieartikler, der kan findes på fanen Resources (ressourcer) på siden Product på www.qiagen.com). Start oprensingsproceduren med det samme.

Human urin

På grund af den hurtige nedbrydning af ccfDNA efter urinopsamling anbefales det kraftigt at stabilisere urinprøverne straks. Typiske efterfølgende anvendelser blev brugt til QIASymphony DSP Circulating DNA Kit til at etablere anbefalinger til urinhåndtering og -stabilisering. Selvom kittet bruges som front-end til flere efterfølgende anvendelser, skal urinhåndtering etableres for enhver sådan arbejdsgang som en del af udviklingen af efterfølgende anvendelser. Alternativt, når der bruges en kommercielt tilgængelig cfDNA-profilstabilisator til urin, skal producentens instruktioner følges.

Human urin stabiliseret

Stabiliseret urin kan opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C) eller ved 2-8 °C i op til 7 dage. Ved længerevarende opbevaring op til 24 måneder anbefales det at nedfryse alikvoter ved -20 °C eller -80 °C.

Stabiliserede urinprøver kræver ingen forbehandling af prøven. Efter stabilisering anbefales det at centrifugere urinprøver ved lav hastighed (1900 x g) i 10 minutter ved stuetemperatur (15-25 °C) for at fjerne celler før ekstraktion af ccfDNA. Hvis bundfald er synligt i supernatanter efter centrifugering, skal prøverne opvarmes til 25 °C i et vandbad for at opløse bundfaldet. Før en kørsel startes skal stabiliserede urinprøver overføres til et andet prøveglas, hvorefter dette glas sættes i prøveholderen (se listen over laboratorieartikler, der kan findes på fanen Ressource på siden Produkt på www.qiagen.com).

Human urin: "ustabiliseret"

Før der startes en protokol, der kræver Buffer ATL, skal det kontrolleres, om der er dannet bundfald i Buffer ATL. Opløs det evt. ved opvarmning til 70 °C og forsigtig omrøring i vandbad. Aspirer bobler fra overfladen af Buffer ATL.

Bemærk: Buffer ATL (4 x 50 ml, kat.nr. 939016) indgår ikke i QIASymphony DSP Circulating DNA Kit og skal bestilles for sig.

Det anbefales at centrifugere urinprøver straks efter indsamling ved lav hastighed (1900 x g) i 10 minutter ved stuetemperatur (15-25 °C) for at fjerne celler. Ustabiliserede urinprøver kræver forbehandling af prøven.

Vigtigt: Ekvilibrér prøver til stuetemperatur (15–25 °C), før forbehandlingen startes.

Vigtigt: Centrifugering og forbehandling skal udføres inden for 4 timer efter opsamling af urinprøven.

- Bland 2500 µl urin (circDNA_2000_DSP) eller 4500 µl urin (circDNA_4000_DSP) med hhv. 250 µl eller 450 µl Buffer ATL.
- Inkuber prøverne ved stuetemperatur (15-25 °C) i 1 time.

- Centrifuger prøverne ved 1900 x g i 10 minutter ved stuetemperatur (15-25 °C).
- Hvis buldfald er synligt i supernatanter efter centrifugering, skal prøverne opvarmes til 25 °C i et vandbad for at opløse buldfaldet.
- Overfør supernatanter til et andet prøveglas, hvorefter dette glas sættes i prøveholderen (se listen over laboratorieartikler, der kan findes på fanen Ressource på siden Produkt på www.qiagen.com).

Vigtigt: ccfDNA's stabilitet og integritet er begrænset i ustabiliseret urin. Det anbefales at isætte maks. én batch med 24 prøver pr. QIASymphony-kørsel for at minimere urinprøvernes tid i apparatet.

Vigtige punkter før isætning af prøverne


















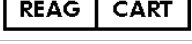
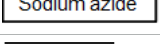


- Sørg for, at der ikke dannes skum i eller på prøverne.
- Prøverne skal ækvilibreres til stuetemperatur (15-25 °C), før kørslen startes.

Interfererende stoffer

Plasmaprøver med høje koncentrationer af gammaglobulin (>30 g/l) kan medføre reduceret restitution af cirkulerende cellefrit DNA.

Symboler

Følgende symboler findes i brugsanvisningen på emballagen og etiketten:

| Symbol | Symboldefinition |
|---|---|
|  | Indeholder tilstrækkeligt med reagenser til <N>-reaktioner |
|  | Holdbarhedsdato |
|  | Dette produkt opfylder kravene i EU-direktivet 2017/746 for medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik. |
|  | Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik |
|  | Katalognummer |
|  | Lotnummer |
|  | Materialenummer (dvs. etiketten på komponenten) |
|  | Komponenter |
|  | Indeholder |
|  | Antal |
|  | Globalt handelsvarenummer |
| Rn | R står for revision af brugsanvisningen, og n står for revisionsnummeret |
|  | Temperaturbegrænsning |
|  | Producent |
|  | Læs brugsanvisningen |
|  | Advarsel/forsigtig |
|  | Proteinase K |
|  | Brøndnummer (dvs. brønd i reagenspatron) |
|  | Reagenspatron |
|  | Natriumazid |
|  | Ethanol |
|  | Entydig instrumentidentifikator |

Revisionshistorik

| Revision | Beskrivelse |
|---------------|---|
| R1, juni 2022 | <p>Version 2, revision 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Opdatering til version 2 for overholdelse af IVDR• Ordlyden for prøvebehandling: er opdateret til at tage hensyn til ISO 20186-3:2019 (E) Molekylære in vitro-diagnostiske undersøgelser – Specifikationer for præanalytiske processer ved undersøgelse af venøst fuldblod – Del 3: Isoleret cirkulerende cellefri DNA fra plasma |

Vedrørende opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle håndbog eller brugermanual til QIAGEN® kit. QIAGEN kit-håndbøger og -brugermanualer kan fås via www.qiagen.com eller kan rekvireres hos QIAGENs tekniske service eller den lokale distributør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når de ikke er specifikt markeret som sådan.

06/2022 HB-3034-S01-001© 2022 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.