

# Bruksanvisning till QIASymphony® DSP Circulating DNA Kit (Protokollblad)

circDNA\_1000\_DSP\_V1, circDNA\_2000\_DSP\_V3 och circDNA\_4000\_DSP\_V3

Version 2



För in vitro-diagnostisk användning

För användning med QIASymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R2

Protokollbladet är tillgängligt elektroniskt och finns på resursfiken på  
produkt sidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Allmän information

För in vitro-diagnostisk användning.

Detta protokoll är avsett för rening av humant cirkulerande cellfritt DNA från färsk eller fryst human plasma och urin med hjälp av QIASymphony DSP Circulating DNA Kit och QIASymphony SP

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		
Katalognr.	937556		
Provmaterial	Human plasma: <ul style="list-style-type: none"><li>Från blodprovtagningsrör med ccfDNA-profilstabilisatorer (t.ex. Cell-Free DNA BCT®, Streck®)</li><li>från blodprovtagningsrör utan ccfDNA-profilstabilisatorer (t.ex. EDTA)</li></ul> Human urin: <ul style="list-style-type: none"><li>Med cfDNA-profilstabilisatorer</li><li>Utan cfDNA-profilstabilisatorer</li></ul>		
Protokollnamn	circDNA_1000_DSP_V1	circDNA_2000_DSP_V3	circDNA_4000_DSP_V3
Förvald analyskontrolluppsättning	ACS_circDNA_1000_DSP_V1	ACS_circDNA_2000_DSP_V3	ACS_circDNA_4000_DSP_V3
Elueringsvolym	60 µl	60 µl	60 µl
Nödvändig programversion	Version 5.0 eller senare	Version 4.0 eller senare	Version 5.0 eller senare
Nödvändig programvarukonfiguration för IVD-användning	Default profile 1 (standardprofil 1)	Default profile 1 (Standardprofil 1)	Default profile 1 (Standardprofil 1)

Använd alltid en lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) som kan erhållas av respektive tillverkare.

## Lådan "Sample" (Prov)

<b>Provtyp</b>	Human plasma och urin (se "Förberedelse av provmaterial")
Provvoly	Beror på typ av provrör som används Mer information finns i labbmateriellistan, som finns på resursfliken på produktsidan på <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
Primära provrör	Ej tillämpligt
Sekundära provrör	Mer information finns i labbmateriellistan, som finns på resursfliken på produktsidan på <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
Insatser	Beror på typ av provrör som används Mer information finns i labbmateriellistan, som finns på resursfliken på produktsidan på <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a>
Annat	Proteinas K måste fyllas på i fack A (position 1, 2 och/eller 3)

n/a = ej tillämpligt.

## Förberedelse av proteinas K i lådan "Sample" (Prov)

QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit innehåller bruksfärdig proteinas K-lösning som kan förvaras i rumstemperatur.

OBS! Byt inte ut Proteinase K- flaskor mellan olika kitnummer. Använd endast Proteinase K- lösningen som ingår i motsvarande kit.

OBS! Provrör som innehåller proteinas K placeras i en provrörshållare. Röret som innehåller proteinas K måste placeras företrädesvis på position 1. Om flera rör måste laddas ska de placeras i position 1, 2 och/eller 3 i luckan A i "Sample" drawer (Prov-lådan).

Provrörstyp som behövs visas i labbmateriellistan, som finns på resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Antal prover*	circDNA_1000_DSP (µl)	circDNA_2000_DSP (µl)	circDNA_4000_DSP (µl)
8	1 580	1 980	2 860
24	2 540	3 740	6 380
48	3 980	6 380	11 660
72	5 420	9 020	18 040†
96	6 860	11 660	23 320†

\* För varje prov behövs 60 µl för circDNA\_1000\_DSP, 110 µl för circDNA\_2000\_DSP, eller 220 µl för circDNA\_4000\_DSP, plus en extra tom volym på 1 100 µl [(n x 60, 110, eller 220 µl) + 1 100 µl].

† För circDNA\_4000\_DSP: Om fler än 48 prover ska bearbetas använder du ett andra rör. Maximal provladdningsvolym per rör är 11 660 µl. För det andra röret behövs ytterligare en tom volym på 1 100 µl.

## Lådan "Reagents and Consumables" (Reagenser och förbrukningsvaror)

Position A1 och/eller A2	Reagent cartridge (Reagenskasset) (RC)
Position B1	ej tillämpligt
Spetsställhållare 1–18	Engångsfilterspetsar, 200 µl eller 1 500 µl
Hållare för enhetsaskar 1–4	Enhetsaskar som innehåller provberedningskassetter eller 8-Rod Covers

n/a = ej tillämpligt.

## Lådan "Waste" (Avfall)

Hållare för enhetsaskar 1–4	Tomma enhetsaskar
Avfallspåshållare	Avfallspåse
Hållare för flaska för flytande avfall	Flaska för flytande avfall

## Lådan "Eluate" (Eluat)

Elueringsställ (vi rekommenderar att fack 1, kylpositionen, används)	Mer information finns i labbmateriellistan, som finns i resursfliken på produktsidan på <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
--	--

## Erforderliga plastartiklar

### Protokoll circDNA\_1000\_DSP

Plastartiklar	En sats 24 prover*	Två satser 48 prover*	Tre satser 72 prover*	Fyra satser 96 prover*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	64	120	176	232
Provberedningskassetter§	15	30	45	60
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

\* Use of fewer than 24 samples per batch decreases the number of disposable filter-tips required per run.

† Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

‡ Antalet filterspetsar som behövs omfattar filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset (RC).

§ Det finns 28 provberedningskassetter/enhetsask.

¶ Det finns 8-Rod Covers/enhetsask.

### Protokoll circDNA\_2000\_DSP

Plastartiklar	En sats 24 prover*	Två satser 48 prover*	Tre satser 72 prover*	Fyra satser 96 prover*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	64	120	176	232
Provberedningskassetter§	15	30	45	60
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

\* Om du använder färre än 24 prover per batch minskas antalet engångsfilterspetsar som krävs per körning.

† Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

‡ Antalet filterspetsar som behövs omfattar filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset (RC).

§ Det finns 28 provberedningskassetter/enhetsask.

¶ Det finns 8-Rod Covers/enhetsask.

### Protokoll circDNA\_4000\_DSP

Plastartiklar	En sats 24 prover*	Två satser 48 prover*	Tre satser 72 prover*	Fyra satser 96 prover*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	104	200	298	394
Provberedningskassetter§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

\* Om du använder färre än 24 prover per batch minskas antalet engångsfilterspetsar som krävs per körning.

† Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

‡ Antalet filterspetsar som behövs omfattar filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset (RC).

§ Det finns 28 provberedningskassetter/enhetsask.

¶ Det finns 8-Rod Covers/enhetsask.

OBS! Antalet filterspetsar kan skilja sig från det antal som visas på pekskärmen beroende på inställningarna (till exempel det antal interna kontroller som används per sats).

## Elueringsvolym

Vald elueringsvolym

60  $\mu$ l

Initial elueringsvolym

75  $\mu$ l

Elueringsvolymen väljs på pekskärmen. Genomsnittlig tillgänglig elueringsvolym är  $\geq 60 \mu$ l. I enskilda fall kan slutlig eluatvolym för enskilda prover vara upp till 5  $\mu$ l mindre än den valda volymen (t.ex. 55  $\mu$ l). Vi rekommenderar att du kontrollerar den faktiska eluatvolymen vid användning av ett automatiserat analysinställningssystem som inte verifierar eluatvolymen innan överföringen.

## Förvaring av eluat

OBS! Eluatstabiliteten är väldigt beroende av olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsapplikationen. Den har fastställts för QIASymphony DSP Circulating DNA Kit tillsammans med exempel på nedströmstillämpningar. Det är användarens ansvar att läsa bruksanvisningen till den specifika nedströmstillämpning som används vid laboratoriet och/eller att validera hela arbetsflödet för att fastställa lämpliga förvaringsförhållanden.

Vi rekommenderar att du tar ut eluatplattan från lådan "Eluate" (eluat) omedelbart efter att körningen är slutförd. Elueringsplattor kan lämnas kvar i QIASymphony SP när körningen slutförs på natten (maximalt 16 timmar inklusive körningstiden; rekommenderade miljöförhållanden: 18–26 °C och 20–75 % relativ luftfuktighet). Beroende på temperatur och luftfuktighet kan eluat kondensera eller avdunsta.

Efter provberedning kan eluat förvaras i 2–8 °C i upp till 1 månad och i –20 °C eller –80 °C i upp till 2 månader. Fryst eluat får inte tinas upp mer än 3 gånger.

## Förberedelse av provmaterial

OBS! Provstabiliteten är väldigt beroende av olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsapplikationen. Den har fastställts för QIASymphony DSP Circulating DNA Kit tillsammans med exempel på nedströmstillämpningar. Det är användarens ansvar att läsa bruksanvisningen till den specifika nedströmstillämpning som används vid laboratoriet och/eller att validera hela arbetsflödet för att fastställa lämpliga förvaringsförhållanden.

## Human plasma

Vi användning av blodprovtagingsrör med ccfDNA-profilstabilisatorer ska tillverkarens anvisningar för att utföra plasmaberedning, förvaring, transport och allmän hantering följas. Vid användning av blodprovtagingsrör utan ccfDNA-profilstabilisatorer och om anvisningar för plasmaberedning, förvaring, transport och allmän hantering är tillgängliga från tillverkaren av den särskilda undersökningsproceduren, ska dessa följas. Mer information finns i *ISO 20186-3:2019 (E) Molekylärbiologiska in vitro-diagnostiska undersökningar – Riktlinjer för pre-analytiska processer för venöst helblod – Del 3: Isolerat cirkulerande cellfritt DNA från plasma*.

Oberoende av anvisningarna från tillverkaren av blodprovtagingsröret ska följande aspekter beaktas i enlighet med ISO 20186-3:2019 (E) för automatiserad ccfDNA-extrahering från plasma med QIASymphony DSP Circulating DNA Kit och QIASymphony SP-instrumentet.

Blodprover utan ccfDNA-profilstabilisatorer kan användas för plasmaberedning (till exempel EDTA-blodprovtagingsrör). Plasma som beretts från rör med ccfDNA-profilstabilisatorer kan också användas (till exempel, Cell-Free DNA BCT från Streck).

Vi rekommenderar att separation av plasma genomförs omedelbart efter bloddonationen när EDTA eller citrat används som antikoagulantia.

För vissa nedströmstillämpningar kan det hända att vissa nukleinsyror måste exkluderas eller minimeras från vesiklar. I sådana fall rekommenderar vi att genomföra ett centrifugeringssteg med hög hastighet i 16 000 x g i 10 minuter i rumstemperatur (15–25 °C) efter initial plasmageneration.

Efter provtagning och centrifugering kan plasma förvaras i rumstemperatur i upp till 7 dagar eller i 2–8 °C i upp till 14 dagar. För längre förvaring på upp till 24 månader rekommenderar vi frysning av alikvoter vid –20 °C eller –80 °C. Fryst plasma får inte tinas upp mer än 3 gånger. Upprepad frysning och upptining leder till denaturering och precipitat av proteiner, vilket potentiellt sett kan resultera i minskat utbyte av cirkulerande cellfria nukleinsyror. Det rekommenderas att plasma tinas i ett vattenbad vid 30 °C i 30 minuter. Om kryoprecipitat är synliga i proverna ska de tas bort innan provet laddas på instrumentet. Kryoprecipitat kan lösas upp genom att vortexblanda provet (säkerställ att eventuellt synligt skum ovanpå provet avlägsnas innan provet laddas på instrumentet). Kryoprecipitat kan även avlägsnas genom centrifugering och överföring av supernatanten utan att störa pelleten till ett sekundärt provrör (se labbmateriellista på resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)). Starta reningsproceduren omedelbart.

## Human urin

På grund av snabb nedbrytning av ccfDNA efter urininsamling rekommenderas det starkt att urinprover stabiliseras omedelbart. Olika nedströmstillämpningar användes för QIASymphony DSP Circulating DNA Kit för att fastställa rekommendationer för urinhantering och stabilisering. Även om kitet används som inledning till flera nedströmstillämpningar behöver urinhanteringen fastställas för alla sådana arbetsflöden för som en del i utvecklingen av nedströmstillämpningen. Vid användning av en kommersiellt tillgänglig cfDNA-profilstabilisator för urin ska även tillverkarens anvisningar följas.

### Stabiliserat human urin

Stabiliserat urin kan förvaras i rumstemperatur (15–25 °C) eller vid 2–8 °C i upp till 7 dagar. För längre förvaring på upp till 24 månader rekommenderar vi frysning av alikvoter vid –20 °C eller –80 °C.

Stabiliserade urinprover behöver ingen provförbehandling. Efter stabilisering rekommenderar vi att urinprover centrifugeras vid låg hastighet (1 900 x g) i 10 minuter i rumstemperatur (15–25 °C) för att avlägsna celler före extrahering av ccfDNA. Om precipitat är synliga i supernatanter efter centrifugering ska proverna värmas till 25 °C i ett vattenbad för att lösa upp precipitaterna. Innan en körning startas ska stabiliserade urinprover överföras till ett sekundärt provrör och det här röret ska sedan laddas i en provhållare (se labbmateriellista, som finns på resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Icke-stabiliserat human urin

Innan du startar ett protokoll som kräver Buffer ATL kontrollerar du att det inte har bildats ett precipitat i Buffer ATL. Vid behov kan du lösa upp det genom upphettning vid 70 °C med försiktig omskakning i ett vattenbad. Aspirera bubblor från ytan på Buffer ATL.

**OBS!** Buffer ATL (4 x 50, kat.nr 939016) är inte en del av QIASymphony DSP Circulating DNA Kit och måste beställas separat.

Vi rekommenderar att urinprover centrifugeras omedelbart efter provtagning vid låg hastighet (1 900 x g) i 10 minuter i rumstemperatur (15–25 °C) för att avlägsna celler. Icke-stabiliserade urinprover behöver provförbehandling.

**Viktigt:** Ekvilibrera proverna till rumstemperatur (15–25 °C) innan förbehandlingen startas.

**Viktigt:** Centrifugering och förbehandling ska genomföras inom 4 timmar av urinprovtagningen.

- Blanda 1500 µl urine (circDNA\_1000\_DSP), 2500 µl urin (circDNA\_2000\_DSP), or 4500 µl urin (circDNA\_4000\_DSP) med respektive 150 µl, 250 µl eller 450 µl Buffer ATL.
- Inkubera proverna vid rumstemperatur (15–25 °C) i 1 timme.

- Centrifugera proverna vid 1 900 x g i 10 minuter i rumstemperatur (15–25 °C).
- Om precipitat är synliga i supernatanter efter centrifugering ska proverna värmas till 25 °C i ett vattenbad för att lösa upp precipitaterna.
- Överför supernatanter till ett sekundärt provrör och ladda sedan det här röret i provhållaren (se labbmateriellista, som finns på resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

**Viktigt:** Stabilitet och integritet hos ccfDNA är begränsade i icke-stabiliserad urin. Vi rekommenderar att ladda högst en batch på 24 prover per QIASymphony-körning för att minimera tiden i systemet för urinprover.

### Viktiga anmärkningar innan du laddar prover

- Undvik skumbildning i eller på proven.
- Prover måste uppnå rumstemperatur (15-25 °C) innan du startar körningen.


















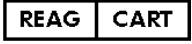
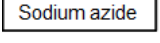


### Interfererande ämnen

Plasmaprover med hög koncentration av gammaglobulin (> 30 g/l/) kan leda till minskad insamling av cirkulerande cellfritt DNA.



## Symboler

Nedanstående symboler finns i användningsinstruktionerna eller på förpackningar och etiketter:

Symbol	Symbolförklaring
	Innehåller reagens som räcker till <N> reaktioner
	Utgångsdatum
	Denna produkt uppfyller kraven i den europeiska förordningen 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.
	In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet
	Katalognummer
	Partinummer
	Materialnummer (dvs. komponentetikett)
	Komponenter
	Innehåller
	Antal
	GTIN-artikelnummer (Global Trade Item Number)
Rn	R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret
	Temperaturbegränsning
	Tillverkare
	Läs bruksanvisningen för användning
	Varning/försiktighet
	Proteinas K
	Brunnsnummer (dvs. reagenskassetbrunn)
	Reagenskasset
	Natriumazid
	Etanol
	Unik enhetsidentifierare

## Revisionshistorik

Revision	Beskrivning
R1, juni 2022	Version 2, Revision 1 <ul style="list-style-type: none"><li>Uppdatera till version 2 för överensstämmelse med IVDR</li><li>Formulering av provhantering uppdaterad för att ta hänsyn till ISO 20186-3:2019 (E) Molekylärbioologiska in vitro-diagnostiska undersökningar – Riktlinjer för pre-analytiska processer för venöst helblod – Del 3: Isolerat cirkulerande cellfritt DNA från plasma</li></ul>
R2, januari 2023	Version 2, Revision 2 <ul style="list-style-type: none"><li>Uppdatering för att lägga till BioScript för 1 ml provvolym (circDNA 1000 DSP)</li><li>Uppdatering till V3 för circDNA_2000 och circDNA_4000</li></ul>

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive QIAGEN® kit-handbok eller -bruksanvisning. QIAGEN kit-handböcker och bruksanvisningar finns att tillgå på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGEN tekniska service eller lokal återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Registrerade namn, varumärken med mera som används i detta dokument ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade.

01/2023 HB-3034-S01-002© 2022 QIAGEN, med ensamrätt.