

Februar 2023

QIASymphony® PAXgene® Blood ccfDNA Kit Brugsanvisning (Håndbog)



192

Version 1



Til in vitro-diagnostisk brug



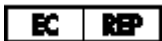
768566



PreAnalytiX GmbH

Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Schweiz

1130770DA



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

PreAnalytiX Company

PreAnalytiX GmbH

8634 Hombrechtikon

Schweiz

www.PreAnalytiX.com

Varemærker: 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 datterselskaber).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

1130770DA HB-2866-003

© 2023 PreAnalytiX GmbH. Medmindre andet er angivet, tilhører PreAnalytiX, PreAnalytiX-logoet og alle andre varemærker PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

Aftale om begrænset licens til QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger QIASymphony af QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med protokoller leveret med produktet og denne håndbog og kun med de komponenter, der er i kittet. PreAnalytiX® giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette kit med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne håndbog og andre protokoller, der er tilgængelige på www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver PreAnalytiX ingen garanti om at dette kit, og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Denne forbrugsvare og dens komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, genoprettes eller videresælges.
4. PreAnalytiX fraskriver sig hermed specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger ikke at tage, eller lade andre tage, skridt, der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. PreAnalytiX kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale i enhver ret og vil inddrive alle undersøgelses- og retsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med kittet og/eller komponenterne deri.

Opdaterede licensbetingelser kan findes på www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com.

PreAnalytiX distributører

PreAnalytiX-produkter fremstilles og distribueres af QIAGEN og BD for PreAnalytiX.

Indhold

Indhold.....	3
Tilsligtet anvendelse	5
Tilsligtet bruger	5
Beskrivelse og princip	6
Oversigt og forklaring.....	6
Procedureprincipper	7
Medfølgende materialer.....	9
Kit-indhold.....	9
Nødvendige materialer, som ikke medfølger	10
Udstyr.....	10
Advarsler og forholdsregler	11
Sikkerhedsinformation	11
Forholdsregler	12
Opbevaring og håndtering af reagenser	14
Kitkomponenter.....	14
Indsamling og klargøring af prøver	16
Procedure	20
Oversigt: Automatiseret oprensning af ccfDNA på QIAsymphony SP-instrumentet ...	20
Protokoloversigt	25
Protokol: Automatiseret oprensning af ccfDNA på QIAsymphony SP-instrumentet ...	28
Kvalitetskontrol.....	32
Begrænsninger	32

Fejlfindingsvejledning	33
Symboler	35
Bilag: Kvantificering af ccfDNA.....	37
Bestillingsinformation	38
Revisionshistorik for dokumentet	40

Tilsigtet anvendelse

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit, som er tiltænkt brug sammen med QIASymphony SP-instrumentet, er beregnet til automatisk isolering og oprensning af cirkulerende cellefrit DNA (ccfDNA) fra plasma genereret fra humant venøst helblod indsamlet i PAXgene Blood ccfDNA Tube.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit bruges til automatisk isolering og oprensning af ccfDNA fra humant plasma ved hjælp af magnetpartikelteknologi.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit er beregnet til at blive brugt af professionelle brugere, f.eks. teknikere og læger med kvalifikationer inden for molekylærbiologiske teknikker, til *in vitro*-diagnostisk brug.

Tilsigtet bruger

Dette kit er beregnet til professionel brug.

Produktet må kun bruges af personale med specifik kompetence og uddannelse inden for molekylærbiologiske teknikker og kendskab til denne teknologi.

Beskrivelse og princip

Oversigt og forklaring

Cirkulerende cellefrit DNA (ccfDNA) findes i plasma, normalt som korte fragmenter (< 1000 bp). Koncentrationen af ccfDNA i plasma er som regel lav (inden for området fra 1 til 100 ng/ml) og varierer betydeligt fra person til person. Det CE-mærkede PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube og QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit udgør tilsammen et standardiseret workflow til tapning, opbevaring og transport af blodprøver, stabilisering af DNA i et lukket rør samt efterfølgende isolering og oprensning af ccfDNA fra humant plasma ved hjælp af instrumentet QIAGEN® QIASymphony SP.

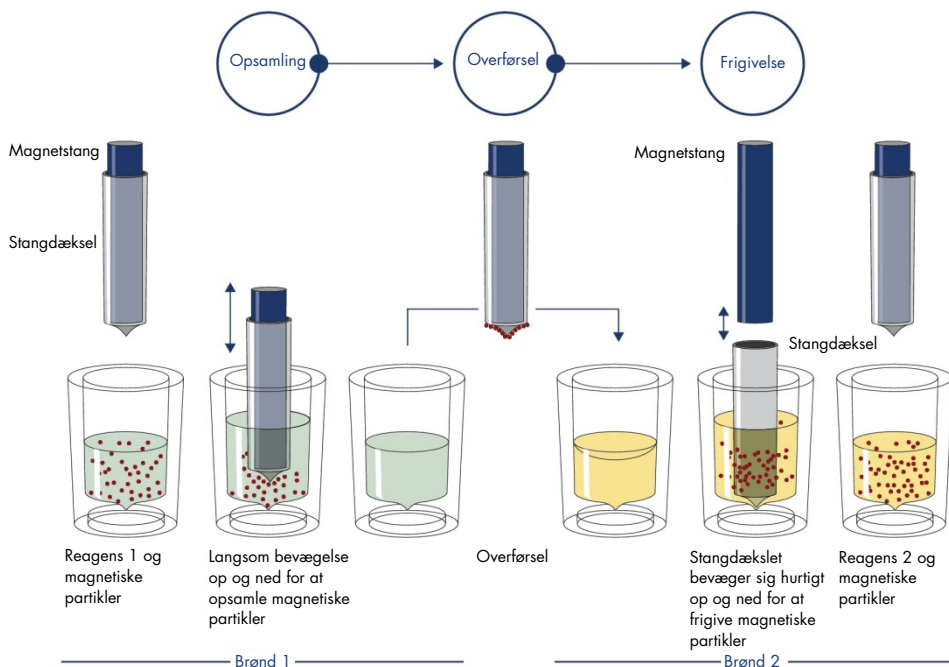
QIASymphony SP-instrumentet indeholder protokoller til ekstraktion af ccfDNA fra 2,4 og 4,8 ml plasma genereret fra PAXgene Blood ccfDNA Tubes ved dobbeltcentrifugering. Plasma overføres til og behandles i et sekundært rør på QIASymphony SP-instrumentet.

Alternativt indeholder QIASymphony SP-instrumentet protokoller til håndtering af primære rør for inputvolumener på 2,4 og 4 ml plasma. I så fald er der ikke behov for et andet centrifugeringstrin eller plasmaoverførsel til et sekundært rør.

Den magnetpartikelteknologi, som QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit er baseret på, muliggør oprensning af ccfDNA af høj kvalitet uden proteiner, nukleaser og andre urenheder. QIASymphony SP-instrumentet udfører alle trin i oprensningsproceduren. Der behandles op til 96 prøver i batches på 24 i en enkelt kørsel. Anvisninger vedrørende isolering af genomisk DNA (gDNA) fra den kerneholdige cellefraktion af blod indsamlet i PAXgene Blood ccfDNA Tubes på QIASymphony SP-instrumentet kan ses i brugsanvisningen til PAXgene Blood ccfDNA Tube (www.PreAnalytiX.com).

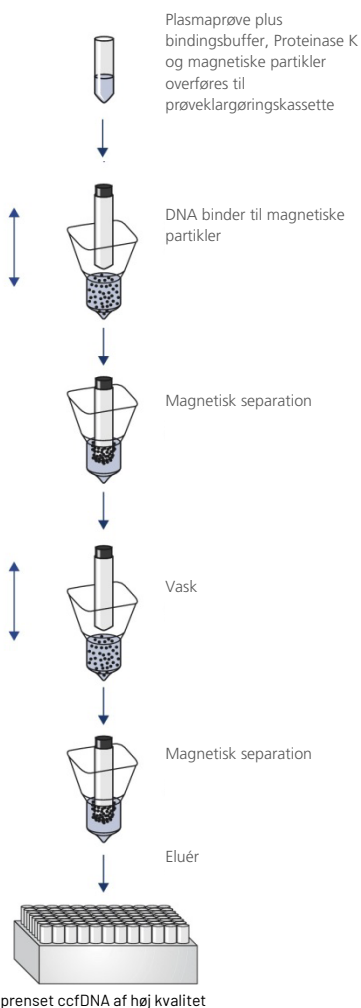
Procedureprincipper

QIASymphony SP-instrumentets teknologi kombinerer farten og effektiviteten ved anionbytningsbaseret oprensning af nukleinsyre med praktisk håndtering af magnetiske partikler (figur 1). Oprensningsproceduren er beregnet til at sikre forsvarlig og reproducerbar håndtering af potentielt smittefarlige prøver, og den består af 3 trin: binding, vask og eluering (figur 2). Brugeren kan vælge mellem forskellige prøveinputvolumener.



Figur 1. Schematisk illustration af QIASymphony SP-instrumentets princip. QIASymphony SP-instrumentet behandler en prøve med magnetiske partikler som følger: En magnetstang beskyttet af et stangdæksel føres ind i en brønd med prøven og tiltrækker de magnetiske partikler. Magnetstangdækslet anbringes oven over en anden brønd, og de magnetiske partikler frigives. Disse trin gentages flere gange under behandlingen af prøven. QIASymphony SP-instrumentet bruger et magnethoved med en række på 24 magnetstænger og kan derfor behandle op til 24 prøver ad gangen.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



Figur 2. Trin til ekstraktion af ccfDNA med QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit. ccfDNA-fragmenter isoleres fra plasma genereret fra humant venøst helblod indsamlet i PAXgene Blood ccfDNA Tube. I det første behandlingstrin opløses plasmaproteiner af Proteinase K, mens ccfDNA'et binder til de magnetiske partiklers overflade. Tre vasketrin sikrer, at forurenende stoffer fjernes. Til sidst elueres ccfDNA fra de magnetiske partikler, så det er klar til efterfølgende anvendelser.

Medfølgende materialer

Kit-indhold

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) Katalognr. Antal reaktioner		(192) 768566 192		
Forkortelse	Identitet	Antal	Aktive stoffer	Koncentration [%]**
RC	Reagent cartridge (Reagenspatron)*†	2	Ikke-ionisk rengøringsmiddel Magnetisk partikel til anionbytning NaOH Ethanol	≥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 (gennembrydningslåg)	2	—	—
RSS	Reuse Seal Set (genbrugsforseglingssæt)‡	2	—	—
	Elution Microtubes CL, racked (elueringsmikrorør CL i rack)‡	2	—	—
	Caps for Elution Microtubes (hætter til elueringsmikrorør)‡	1 × (55 × 8)	—	—
	Brugsanvisning (Håndbog)	1	—	—
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	—	—

* Indeholder natriumazid som konserveringsmiddel.

† Se side 35, hvor der findes en liste over symboler og definitioner.

‡ Et Reuse Seal Set indeholder 8 genbrugsforseglingstrips.

Fås også separat (se Bestillinginformation).

** Maksimal koncentration i én brønd.

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

Når der arbejdes med kemiske og biologiske prøver, er det vigtigt altid at overholde de generelle forsigtighedsregler og anvende en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller i henhold til retningslinjerne og procedurerne på stedet. Der findes mere information i de tilhørende sikkerhedsdatablade (SDS), som kan fås hos den pågældende leverandør.

Sørg for, at instrumenterne regelmæssigt kontrolleres og kalibreres efter producentens anvisninger.

- 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. 990332 og 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, kat.-nr. 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)(PreAnalytiX, kat.-nr. 768165)
- Prøveglasser. Kompatible primære og sekundære glasformater kan findes på listen over laboratorieartikler på fanerne Product Resources (Produktressourcer) og Resources (Ressourcer) på produktsiderne på www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com.
- Kompatible elueringsglasformater kan findes på listen over laboratorieartikler på fanerne Product Resources (Produktressourcer) og Resources (Ressourcer) på produktsiderne på www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com.

Udstyr*

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

* Sørg for, at instrumenterne er blevet kontrolleret og kalibreret i henhold til producentens anbefalinger før brug.

Advarsler og forholdsregler

Til in vitro-diagnostisk brug.

Læs alle anvisninger omhyggeligt før anvendelse af dette kit.

Kunder i EU skal være opmærksomme på, at alvorlige hændelser med relation til brugen af udstyret skal indberettes til producenten og den ansvarlige myndighed i det medlemsland, hvor brugeren og/eller patienten befinder sig.

Sikkerhedsinformation

Når der arbejdes med kemiske og biologiske prøver, er det vigtigt altid at overholde de generelle forsigtighedsregler og anvende en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller i henhold til retningslinjerne og procedurerne på stedet. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er). De findes online i PDF-format på www.qiagen.com/safety, hvor sikkerhedsdatabladene for hvert PreAnalytiX-kit og hver kitkomponent kan læses og udskrives.

- Alle kemikalier og alt biologisk materiale er potentielt farligt. Blodprøver er potentielt farlige og skal håndteres som biologisk farlige materialer.
- Miljøskadelige materialer og kitaffald skal bortskaffes i henhold til de lokale sikkerhedsprocedurer.

Nødopkaldsnumre

CHEMTREC

USA & Canada 1-800-424-9300

Uden for USA & Canada +1 703-527-3887

Forholdsregler

Bufferne i reagenspatronen (Reagent Cartridge, RC) indeholder natriumazid. Hvis bufferne i kittet spildes, skal de tørres op med passende rengøringsmiddel til laboratorier og vand. Hvis den spildte væske indeholder potentielt smittefarlige stoffer, rengøres det påvirkede område først med rengøringsmiddel til laboratorier og vand og dernæst med 1 % (v/v) natriumhypochlorit (blegemiddel).

Nedenstående fare- og sikkerhedssætninger gælder komponenter i QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit.

MBS3

Indeholder: Natriumazid. Advarsel! Kan være skadelig ved indtagelse. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

Proteinase K



Indeholder: Proteinase K. Fare! Forårsager let hudirritation. Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. Anvend åndedrætsværn. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Ring til en giftinformation eller en læge. Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vedkommende hviler i en stilling, som letter vejtrækningen.

QSE2



Indeholder: Natriumhydroxid. Fare! Medfører alvorlige hudforbrændinger og øjenskader. Bortskaf indholdet/ beholderen på et godkendt genbrugssted. **Ved kontakt med øjnene:** Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis det kan gøres let. Fortsæt med at skylle. **Ved kontakt med huden (eller håret):** Kontamineret tøj tages straks af/fjernes. Skyl med vand/tag brusebad. Ring omgående til en giftinformation eller en læge. Opbevares under lås. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/ øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

QSW9



Indeholder: Ethanol. Fare! Yderst brandfarlig væske og damp. Forårsager alvorlig øjenirritation. Holdes væk fra varme/gnister/åben ild/varme overflader. Rygning forbudt. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse.

Opbevaring og håndtering af reagenser

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit skal opbevares lodret ved stuetemperatur (15-25 °C). De magnetiske partikler i reagenspatronerne (Reagent Cartridges, RC) forbliver aktive ved opbevaring ved denne temperatur.

Bemærk: Kittets udløbsdato er angivet på etiketten på æsken med QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit. Udløbsdatoen gælder for reagenspatronen.

Brug ikke QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit efter udløbsdatoen.

Kitkomponenter

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit indeholder brugsklar Proteinase K-opløsning, der kan opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C).

Reagenspatronerne må ikke opbevares ved temperaturer på under 15 °C.

Reagenspatronerne i QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit kan opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C) i op til 4 uger efter åbning, hvilket muliggør lønsom genbrug af reagenser og en mere fleksibel behandling af prøver, hvis de genforsegles korrekt efter brug. Hvis en reagenspatron er delvist brugt, skal dækslet sættes på truet med de magnetiske partikler igen, og reagenspatronen skal straks forsegles med de medfølgende genbrugsforseglingsstrips efter afslutning af protokolkørslen for at undgå fordampning.

For at undgå reagensfordampning må reagenspatronen maksimalt være åben i 15 timer (inkl. kørselstid) ved en maksimal omgivende temperatur på 32 °C. Forkert opbevaring af kitkomponenterne kan medføre hurtigere ældning af bufferne.

Kørsel af batches med lave prøvenumre (< 24) vil både øge den tid, reagenspatronen er åben, og de påkrævede buffermængder, hvilket kan reducere det samlede antal mulige klargøringer af prøve pr. kassette.

Undgå at eksponere reagenspatronerne for UV-lys (f.eks. brugt til dekontaminering), da eksponering kan forårsage fremskyndet ældning af reagenspatronerne og bufferne.

Vær opmærksom på de udløbsdatoer og opbevaringsbetingelser, der er trykt på æsken og på etiketterne til samtlige komponenter. Brug aldrig for gamle eller ukorrekt opbevarede komponenter.

Indsamling og klargøring af prøver

Oprensningsproceduren er optimeret til brug med plasma genereret fra blod indsamlet i PAXgene Blood ccfDNA Tubes. Oplysninger om blodprøvetagning, håndtering af disse rør og klargøring af plasma kan ses i brugsanvisningen til PAXgene Blood ccfDNA Tube på fanen Product Resources (Produktressourcer) og fanen Resources (Ressourcer) på produktsiden på hhv. www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com.

Plasma kan klargøres via (A) standardprotokollen til dobbeltcentrifugering eller via (B) håndtering af primære rør: direkte behandling af engangscentrifugerede PAXgene Blood ccfDNA Tubes på QIASymphony SP-instrumentet.

A) Klargøring af plasma fra blod til standardprotokoller

1. Centrifuger PAXgene Blood ccfDNA Tube ved stuetemperatur (15–25 °C) i 15 minutter. ved 1.600–3.000 × g ved brug af en balanceret centrifuge med svingbare spande. Hvis bremsning foretrækkes, anbefales det at bruge bremsning på mellemniveau, og bremsningen skal valideres for din specifikke arbejdsgang.

Bemærk: De bedste resultater for prøver, der opbevares på køl inden centrifugeringen, opnås ved at blande alle prøver ved at vende dem tre gange og lade rørene opnå stuetemperatur inden behandlingen.

2. Pipetter plasmaet i et 15 ml-centrifugerør med konisk bund (medfølger ikke), og sørg for ikke at hvirvle den kerneholdige cellefraktion op.
3. Centrifuger 15 ml-centrifugerøret med konisk bund ved stuetemperatur (15–25 °C) i 10 minutter ved 1.600–3.000 × g (anden centrifugering) ved brug af en balanceret centrifuge.

Bemærk: Sørg for ikke at overskride den maksimale centrifugeringshastighed, som producenten af det sekundære rør har angivet.

4. Pipetter det påkrævede plasmavolumen (se afsnittet "Prøvevolumen" på side 20) ned i et 17 × 100 mm stort 14 ml-rør af polystyren med rund bund, og sørg for ikke at hvirvle cellepelleten med restblod op, hvis en sådan forefindes.
5. Sæt røret med rund bund med plasmaprøven i rørholderen, og sæt rørholderen i prøveinputskuffen på QIASymphony SP-instrumentet.

Bemærk: Det maksimale ccfDNA-udbytte opnås ved at behandle det maksimale volumen af tilgængeligt plasma.

Bemærk: Sørg for, at der ikke dannes skum i eller på overfladen af plasmaprøverne under pipettering. Skum eller luftbobler på prøverne kan medføre pipettering af det forkerte prøvevolumen.

Bemærk: Efter overførsel af plasma til et sekundært rør er ccfDNA stabilt i plasma ved 15-25 °C i op til 3 dage eller ved 2-8 °C i op til 7 dage. Ved længerevarende opbevaring anbefaler vi at nedfryse aliquoter ved -20 °C eller -80 °C.

Bemærk: Når der bruges tidligere opbevarede plasmaprøver (f.eks. prøver, der har været opbevaret ved 2-8 °C eller nedfrosset ved -20 °C eller -80 °C), skal disse ækvilibreres til stuetemperatur (15-25 °C), inden kørslen startes; få yderligere oplysninger om frosne prøver i afsnittet "C) Frysning og optøning af behandlede plasmaprøver fra PAXgene Blood ccfDNA Tube".

B) Klargøring af plasma fra blod til håndtering af primært rør på QIASymphony SP-instrumentet

1. Centrifuger PAXgene Blood ccfDNA Tube ved stuetemperatur (15-25 °C) i 15 minutter ved $3.000 \times g$ ved brug af en balanceret centrifuge med svingbare spande. Hvis bremsning foretrækkes, anbefales det at bruge bremsning på mellemniveau, og bremsningen skal valideres for din specifikke arbejdsgang.

Bemærk: De bedste resultater for prøver, der opbevares på køl inden centrifugeringen, opnås ved at blande alle prøver ved at vende dem tre gange og lade rørene opnå stuetemperatur inden behandlingen.

2. Kvantificer plasmavolumenet i hvert rør efter fjernelsen fra centrifugespanden med PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, som følger med kittet (figur 3). Når røret fjernes fra centrifugen, er den blågrønne pil på værktøjet ud for plasma-/cellegrænsefladen. De blå linjer angiver, om plasmaniveauet er tilstrækkeligt til protokollen for håndtering af primære rør på 2,4 eller 4,0 ml. Der kræves en plasmasøjlehøjde på mindst 2,3 cm for 2,4 ml-protokollen og en plasmasøjlehøjde på mindst 3,4 cm for 4,0 ml-protokollen.

Bemærk: Hvis plasma og cellerester ikke blev klart adskilt, eller faser blev blandet ved et uheld efter fjernelsen fra centrifugen, skal centrifugeringen gentages.

Bemærk: Kontrollér, om der er en tydelig adskillelse, før røret placeres på instrumentet.

3. Fjern hættten med Hemogard-lukningen fra PAXgene Blood ccfDNA Tubes, inden de sættes i QIASymphony SP-instrumentet med henblik på direkte ccfDNA-ekstraktion.

Bemærk: Fjernelse af rørets låg og håndtering af åbne rør skal gøres forsigtigt for at reducere risikoen for prøvespild, krydskontaminering mellem rør og blodeksposering.

4. Sæt de åbne PAXgene Blood ccfDNA Tubes, som indeholder nok plasma, i rørholderen, og sæt rørholderen i prøveinputskuffen på QIASymphony SP-instrumentet.

C) Frysning og optøning af behandlede plasmaprøver fra PAXgene Blood ccfDNA Tube

1. Ved frysning af plasmaprøver overføres plasmaet til en passende type rør (f.eks. fryserør) og anbringes i et passende rack.
2. Frys og opbevar plasmaet ved -20°C . Ved opbevaringstemperaturer under -20°C nedfryses plasmaprøven først til -20°C i mindst 24 timer og overføres derefter til -80°C .
3. Optø plasmaet ved stuetemperatur ($15-25^{\circ}\text{C}$).

Bemærk: Optø ikke plasma ved lave temperaturer (f.eks. 4°C).

4. Hvis der dannes kryopræcipitat i plasmaet, blandes indholdet i en vortexer i 30 sek. efter optøning, og prøven bruges i ccfDNA-isolationsproceduren med QIASymphony SP-instrumentet uden videre behandling.

Bemærk: Det anbefales ikke at centrifugere plasmaet for at fjerne kryopræcipitat, da det kan indeholde ccfDNA.

Bemærk: For at undgå dannelsen af kryopræcipitat kan plasmaet optøs ved 30°C i 30 min. i stedet for ved stuetemperatur.

Procedure

Oversigt: Automatiseret oprensning af ccfDNA på QIASymphony SP-instrumentet

Med QIASymphony SP-instrumentet er automatiseret klargøring af prøve nem og praktisk. Prøver, reagenser og forbrugsvarer samt eluater er adskilt i forskellige skuffer. Isæt prøverne, de medfølgende reagenser i specialkassetterne og forbrugsvarer i racks i den relevante skuffe før en kørsel. Start protokollen, og fjern oprenset ccfDNA fra skuffen "Eluate" (Eluat) efter behandling. Se betjeningsvejledningen i de brugervejledninger, der leveres sammen med instrumentet.

Bemærk: Vedligeholdelse (valgfrit) er ikke obligatorisk for instrumentets funktion, men det anbefales stærkt for at reducere risikoen for kontaminering.

Prøvevolumen

For at sikre, at instrumentet i standardarbejdsgangen overfører 2,4 ml- (PAXcircDNA_2400-protokol) og 4,8 ml-prøver (PAXcircDNA_4800-protokol), skal der bruges et tomt volumen på hhv. 0,4 og 0,5 ml, hvilket betyder, at der skal leveres et prøveinput på mindst 2,8 og 5,3 ml. Hvis det tilgængelige plasmavolumen er under 2,8 eller 5,3 ml, giver funktionen **Less Sample** (Mindre prøve), som er en integreret del af protokolfunktionen, automatisk mulighed for at overføre mindre plasmavolumener end anført. I dette tilfælde overfører instrumentet mindre af prøven. Forskellen i det pipetterede plasmavolumen vil blive registreret i resultatfilen. De respektive prøver markeres desuden som **uklare** (fejlkode 140043, funktionen **Enable Less Sample** (Muliggør mindre prøve)). De mindste påkrævede plasmainputvolumener for at gøre funktionen **Less Sample** (Mindre prøve) tilgængelig er hhv. 1,6 ml og 4,1 ml. Prøverne behandles ikke og markeres som **ugyldige**, hvis der leveres et mindre prøvevolumen. I forbindelse med arbejdsgangen til håndtering af primære rør sikres det passende prøvevolumen ved at bruge PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, medfølger i kittet (beskrevet i afsnittet "Klargøring af prøvemateriale" på side 24).

Indsætning af reagenspatroner skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbrugsartikler)

Reagenser til oprensning af ccfDNA er indeholdt i en innovativ reagenspatron (Reagent Cartridge, RC) (figur 3). Hvert trug i RC'en indeholder et specifikt reagens, såsom magnetiske partikler, bindingsbuffer, vaskebuffer eller elueringsbuffer. Delvist brugte RC'er kan genlukkes med genbrugsforseglingsstrips med henblik på senere genbrug, hvilket medvirker til at undgå generering af affald på grund af rest-reagenser i slutningen af oprensningsproceduren.



Figur 3. QIAAsymphony reagenspatron (Reagent Cartridge, RC). RC'en indeholder alle de reagenser, der kræves til protokolkørslen.

Før proceduren startes, skal man sikre sig, at de magnetiske partikler er fuldt resuspenderede. Fjern magnetpartikelbrønden fra RC-rammen, bland den kraftigt i vortexer i mindst 3 min., og sæt den derefter i RC-rammen igen før første brug.

Bemærk: Magnetiske partikler kan ændre farve. Det påvirker ikke ydelsen.

Sæt RC'en i RC-holderen. Før en RC bruges første gang, anbringes gennembrydningslåget oven på RC'en (figur 3).

Bemærk: Gennembrydningslåget er skarpt. Pas på, når det placeres på RC'en. Sørg for at placere gennembrydningslåget på RC'en, så det vender rigtigt.

Når dækslet til magnetpartikelbrønden fjernes, isættes RC'en derefter i skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbrugsartikler).

Delvist brugte RC'er kan opbevares, til de skal bruges igen (se "Opbevaring og håndtering af reagenser" på side 14).

Bemærk: Der skal tilsættes Proteinase K (se "Ting, der skal gøres før start" på side 26).

Bemærk: Sørg for, at RC'er, magnetpartikelbrønde og Proteinase K-flasker ikke kan skiftes ud med hinanden mellem forskellige kitlots.

Isætning af plastmateriale i skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbrugsartikler)

Prøveklargøringskassetter, 8-Rod Covers (begge i racks med enhedsbokse) og engangs-filterspidser (200 µl-spidser leveret i blå racks, 1500 µl-spidser leveret i sorte racks) er lagt i skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbrugsartikler).

Bemærk: Kontrollér, at dækslerne til enhedsboksene er fjernet, før enhedsboksene sættes i skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbrugsartikler).

Bemærk: Spidserne er forsynet med filtre for hjælpe med til at forebygge krydskontaminering.

Pladserne i spidsracket på QIASymphony SP-instrumentets arbejdsbord kan være fyldt med den eller den anden type spidsrack. QIASymphony SP-instrumentet vil identificere, hvilken type spidser der er isat, under indholdsscanningen.

Bemærk: Fyld ikke spidsracks eller enhedsbokse til prøveklargøringskassetter eller 8-Rod Covers, før der påbegyndes en anden protokolkørsel. QIASymphony SP-instrumentet kan bruge delvist brugte spidsracks og enhedsbokse.

Se bestillingsinformation om plastvarer på side 38.

Fyldning af skuffen "Waste" (Affald)

Prøveklargøringskassetter og 8-Rod Covers, der anvendes under en kørsel, overføres til racks med tomme enhedsbokse i skuffen "Waste" (Affald). Kontrollér, at skuffen "Waste" (Affald) indeholder tilstrækkeligt mange tomme enhedsbokse til plastaffald, der genereres under protokolkørslen.

Bemærk: Kontrollér, at dækslerne til enhedsboksene er fjernet, før enhedsboksene sættes i skuffen "Waste" (Affald). Hvis du bruger bokse til 8-Rod Covers indsamling af brugte prøveklargøringskassetter og 8-Rod Covers, skal du sikre dig, at boksafstandsholderen er fjernet.

Der skal være fastgjort en pose til brugte filterspidser til front siden af skuffen "Waste" (Affald).

Bemærk: Systemet kontrollerer ikke selv, om der er en affaldssæk til stede. Kontrollér, at spidsaffaldsposen er korrekt fastgjort, før der påbegyndes en ny protokolkørsel. Vedrørende yderligere oplysninger henvises til de brugervejledninger, der følger med instrumentet. Tøm spidsposen efter behandling af maksimalt 96 prøver for at undgå overfyldning af spidser.

En affaldsbeholder opsamler flydende affald, der genereres under oprensingsproceduren. Skuffen "Waste" (Affald) kan kun lukkes, hvis affaldsbeholderen er på plads. Bortskaf det flydende affald i overensstemmelse med de lokale sikkerheds- og miljøbestemmelser. Den fyldte affaldsflaske må ikke autoklaveres. Tøm affaldsflasken efter behandling af maksimalt 96 prøver.

Fyldning af skuffen "Eluate" (Eluat)

Indsæt det påkrævede elueringsrack i skuffen "Eluate" (Eluat). Eftersom langvarig opbevaring af eluater i skuffen "Eluate" (Eluat) kan medføre fordampning eller kondensering, skal kølepositionen bruges. Brug kun "Elution slot 1" (Elueringsplads 1) sammen med den tilhørende køleadapter.

Valgt elueringsmængde (µl)*	Initiel elueringsmængde (µl)†
60	75

* Dette er det minimale tilgængelige eluatvolumen i det endelige elueringsrør for QIAGEN EMT-racket (kat.-nr. 19588) og 1,5 ml Sarstedt-rør med skruehætte (kat.-nr. 72.607). I enkelte tilfælde kan det endelige eluatvolumen for enkelte prøver være op til 5 µl mindre.

† Det initiale volumen af elueringsbuffer, der skal til for at sikre, at det aktuelle eluatvolumen er det samme som det forvalgte volumen.

Indholdsscanning

Før en kørsel startes, kontrollerer instrumentet, at der er placeret tilstrækkeligt med forbrugsartikler til de(t) batch(es), der er i kø, i de tilhørende skuffer.

Klargøring af prøvemateriale

Se "Indsamling og klarlægning af prøver", side 16.

Opbevaring af ccfDNA

Efter klarlægning af prøve kan ccfDNA-eluate opbevares ved -20 eller -80 °C. Frosne eluate må ikke tøs op mere end tre gange. De nyeste oplysninger om stabiliteten af ccfDNA i eluate findes på www.qiagen.com eller www.PreAnalytiX.com.

Protokoloversigt

Table 1. Protokoloversigt

Prøve	Behandling af PAXgene Blood ccfDNA Tube	Prøveinput-volumen (inkl. tomt volumen) (ml)	Prøvevolumener anvendt til ccfDNA-ekstraktion (ml)	Elueringsmængde (µl)	QIASymphony SP-instrumentprotokol
Plasma genereret fra humant venøst helblod indsamlet i PAXgene Blood ccfDNA Tubes	2× centrifugering, plasmaoverførsel i sekundært rør	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	1x centrifugering, direkte behandling på QIASymphony SP-instrument	I henhold til valgværktøj	2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Vigtige anvisninger før start

- Der skal altid anvendes laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemiske stoffer og biologiske prøver. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS) for yderligere information.
- Brugeren skal være bekendt med betjeningen af QIASymphony SP-instrumenter. Se betjeningsvejledningen i de brugervejledninger, der leveres sammen med instrumentet.

Bemærk: Påkrævet softwarekonfiguration til IVD-brug **Default Profile 1** (Standardprofil 1).

- Gennemlæs afsnittet "Procedureprincipper", før proceduren påbegyndes.
- Sørg for, at du er bekendt med protokolarket og listen laboratorieartikler (findes under fanerne Product Resources (Produktressourcer) og Resources (Ressourcer) på www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com).
- Undgå for voldsom omrystning af RC'en, ellers kan der dannes skum, hvilket kan medføre problemer med detektion af væskestanden.

- Blodprøver skal indsamles i PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)(PreAnalytiX, kat.-nr. 768165). Vejledning i indsamling/håndtering af blodprøver og behandling af plasmaprøver findes i brugsanvisningen til rør på fanen **Product Resources** (Produktressourcer) og på fanen Resources (Ressourcer) på produktsiden på hhv. www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com.

Ting, der skal gøres før start

- Før proceduren startes, skal man sikre sig, at de magnetiske partikler er fuldt resuspenderede. Bland brønden med de magnetiske partikler kraftigt i vortexer i mindst 3 min. første gang før brug.
- Sørg for, at gennembrydningslåget placeres på RC'en, og at låget til magnetpartikelbrønden er fjernet, eller – hvis der benyttes en delvist brugt RC – sørg da for, at genbrugsforseglingsstrips er fjernet.
- Proteinase K medfølger ikke i RC'en, men skal leveres af brugeren (skuffen "Sample"(Prøve), plads A, position 1 og/eller 2). Sørg for, at det korrekte Proteinase K-volumen er tilgængelig.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit indeholder brugsklar Proteinase K-opløsning. Proteinase K kan opbevares ved stuetemperatur (15–25 °C). Hvis de skal opbevares i længere tid, anbefaler vi, at enzymhætteglassene med Proteinase K opbevares ved 2–8 °C.

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 [†]

* Til hver prøve skal der anvendes 110 µl (til 2400 µl plasma) eller 220 µl (til 4800/4000 µl plasma) plus et yderligere tomt volumen på 1100 µl [(n x 110 eller 220 µl) + 1100 µl].

[†] Hvis der skal bruges mere end 11.660 µl, skal der bruges et sekundært rør (Corning, kat.-nr. 352051). Til det sekundære rør skal der anvendes endnu et tomt volumen på 1100 µl.

Bemærk: Rørene med Proteinase K er anbragt i en rørholder. Rørholderen med Proteinase K skal anbringes i position 1 og 2 på plads A i skuffen "Sample" (Prøve). Vi anbefaler, at der bruges 14 ml 17 × 100 mm rør af polystyren med rund bund (Corning, kat.-nr. 352051) til Proteinase K.

- Hvis prøverne er forsynet med strekkoder, vendes prøverne i glasholderen sådan, at strekkoderne vender mod strekkodelæseren i venstre side af QIASymphony SP-instrumentet.
- Vedr. oplysninger om prøverør og minimumsprøvevolumener, der er kompatible med protokollerne, henvises til den tilsvarende liste over laboratorieartikler, der kan findes på fanerne Product Resources (Produktressourcer) og Resources (Ressourcer) på produktsiderne på www.qiagen.com og www.PreAnalytiX.com.

Protokol: Automatiseret oprensning af ccfDNA på QIASymphony SP-instrumentet

Detaljerede oplysninger om hver protokol, inkl. volumener og rør, findes på protokolarket og listen over laboratorieartikler, der kan findes på fanerne Product Resources (Produktressourcer) og Resources (Ressourcer) på produktsiderne på **www.qiagen.com** og **www.PreAnalytiX.com**. Ved klargøring af prøvematerialet (plasma genereret fra humant venøst helblod indsamlet i PAXgene Blood ccfDNA Tube) henvises til "Indsamling og klargøring af prøver" og "Klargøring af prøvemateriale" i denne håndbog samt brugsanvisningen til røret, der findes på fanen **Product Resources** (Produktressourcer) og fanen **Resources** (Ressourcer) på produktsiden på hhv. **www.qiagen.com** eller **www.PreAnalytiX.com**.

1. Luk alle skuffer og stinkskaftet.
2. Tænd for QIASymphony SP-instrumentet, og vent, indtil skærbilledet Sample Preparation (Klargøring af prøve) vises, og initieringsproceduren er færdig.
3. Afbryderkontakten sidder i nederste venstre hjørne af QIASymphony SP-instrumentet.
4. Log på instrumentet.

Indsæt det påkrævede elueringsrack i skuffen "Eluate" (Eluat).

Sæt ikke en 96-brønds plade i "Elution slot 4" (Elueringsplads 4). Benyt "Elution slot 1" (Elueringsplads 1) sammen med den tilhørende køleadapter.

Når du bruger en plade med 96 brønde, skal det sikres, at pladen vender rigtigt, da en forkert placering kan forårsage forveksling af prøven i efterfølgende analyser.

Når du bruger Elution Microtubes CL-racket, skal du fjerne bunden ved at dreje racket, indtil bunden går af.

5. Sørg for, at skuffen "Waste" (Affald) er korrekt klargjort, og gennemfør en indholdsscanning af skuffen "Waste" (Affald), inklusive spidsskakt, spidsparkeringsstation, affaldsbeholder til flydende affald og tomme enhedsbokse. Udskift om nødvendigt spidsaffaldsposen.
6. Indsæt den eller de nødvendige RC'er og forbrugsvarer i skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbrugsartikler).
7. Foretag en indholdsscanning af skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbrugsartikler).
8. Anbring prøverne i den relevante prøveholder, og sæt dem i skuffen "Sample" (Prøve).

Bemærk: Foruden jævnlig behandling inkl. plasmaoverførsel i et passende sekundært rør (14 ml Falcon®-rør af polystyren med rund bund, 17 × 100 mm), der er placeret i den relevante prøveholder, giver arbejdsgangen med det primære PAXgene Blood ccfDNA Tube mulighed for ekstrahering af ccfDNA direkte fra PAXgene Blood ccfDNA Tube (10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube, 16 × 100 mm). Se protokolarket for at få vejledning i håndtering af primære prøverør, listen over laboratorieartikler og brugsanvisningen til prøverøret på fanen Product Resources (Produktressourcer) og på fanen Resources (Ressourcer) på produktsiden på hhv. **www.qiagen.com** og **www.PreAnalytiX.com**.

9. Brug berøringskærmen til at indlæse de nødvendige oplysninger for hvert batch af prøver og for Proteinase K, der skal behandles.

Indlæs følgende oplysninger:

- Prøveoplysninger (afhængigt af de anvendte prøveracks vælges BD #352051 FalconPP 17 × 100 eller BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100)
- Protokol, der skal køres (Analysekontrolsæt)
- Elueringsmængde og afgivet placering

Efter at oplysninger om batch er indlæst, ændres status fra LOADED (indsat) til QUEUED (i kø). Så snart en batch er i kø, vises knappen Run (Kørsel).

10. Sæt Proteinase K i den pågældende prøveholder i position 1 og 2, og sæt dem i position A i skuffen "Sample" (Prøve).
11. Definer Proteinase K ved at trykke på knappen **IC**.
12. Tryk på knappen Run (Kør) for at starte oprensingsproceduren. Alle behandlingsstrin er fuldautomatiske. I slutningen af protokolkørslen ændres batchstatus fra RUNNING (i gang) til COMPLETED (færdigt).
13. Hent elueringsracket med det oprensede ccfDNA fra skuffen "Eluate" (Eluat). Kontrollér, at elueringsracket er fjernet i QIASymphony SP-instrumentet.
14. ccfDNA'et er klar til brug eller kan opbevares ved -20°C eller -80°C i op til 6 måneder. QIAGEN anbefaler at fjerne eluatpladen fra skuffen "Eluate" (Eluat), straks efter at kørslen er færdig. Afhængigt af temperatur og fugtighed kan elueringsplader, der efterlades i QIASymphony SP-instrumentet efter, at kørslen er færdig, blive udsat for kondensering eller fordampning.

Bemærk: Med kølefunktionen i QIASymphony SP-instrumentet er det muligt at udføre kørsler natten over.

Generelt overføres magnetiske partikler ikke til eluater. Hvis der finder overførsel sted, påvirker magnetiske partikler i eluater ikke de fleste efterfølgende anvendelser.

Hvis magnetiske partikler skal fjernes før udførelse af efterfølgende anvendelser, skal glas eller plader med eluater først anbringes i en passende magnet og eluater overføres til et rent glas (se "Bilag: Kvantificering af ccfDNA"). Der genereres resultatfiler for hver elueringsplade.

15. Hvis en RC kun anvendes delvist, skal den forsegles med de medfølgende genbrugsforseglingsstrips efter afslutningen af protokolkørslen for at undgå fordampning.

Bemærk: Vedrørende yderligere oplysninger om opbevaring af delvist brugte RC'er henvises til "Opbevaring og håndtering af reagenser".

16. Kassér brugte prøveglas og affald i henhold til de lokale sikkerhedsbestemmelser. Se sikkerhedsinformation i "Advarsler og forholdsregler".
17. Rengør QIASymphony SP-instrumentet.
Følg vedligeholdelsesvejledningen i brugsanvisningerne til instrumentet. Sørg for at rengøre spidsbeskytterne jævnligt for at mindske risikoen for krydskontaminering.
18. Luk instrumentskufferne, og sluk QIASymphony SP-instrumentet.

Kvalitetskontrol

I henhold til QIAGENS ISO-certificerede kvalitetsstyringssystem testes hvert lot af QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit efter fastlagte specifikationer for at sikre en ensartet produktkvalitet.

Begrænsninger

Systemets ydelse er bestemt ud fra ydelsesevalueringsforsøg med oprensning af ccfDNA fra plasma genereret fra humant venøst helblod indsamlet i PAXgene Blood ccfDNA Tubes.

Ydelseskarakteristikaene for QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit er blevet etableret med 18S-ribosomale og DYS14 Y-kromosomale ccfDNA-fragmenter i plasma.

Det er brugerens ansvar at kontrollere systemets ydelse for procedurer, der anvendes i deres laboratorium, og som ikke er dækket af QIAGENS og PreAnalytiX' vurderingsundersøgelser af ydelsen.

For at minimere risikoen for en negativ indvirkning på diagnostiske resultater skal der anvendes hensigtsmæssige kontroller for efterfølgende anvendelser. Diagnostiske resultater, der genereres, skal fortolkes sammen med andre kliniske eller laboratoriemæssige resultater.

Fejlfindingsvejledning












Denne fejlfindingsvejledning kan være nyttig til at afhjælpe eventuelle problemer. Kontaktoplysninger og en liste over ofte stillede spørgsmål findes på den relevante produktside på www.PreAnalytiX.com eller www.qiagen.com.

Kommentarer og forslag	
Generel håndtering	
a) Fejlmeddelelse, der vises på berøringskærmen	Hvis der vises en fejlmeddelelse under en protokolkørsel, henvises til de brugervejledninger, der leveres sammen med dit instrument.
b) Varierende eluatvolumen efter kørsler natten over	For at optimere prøvebehandlingen understøtter QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit behandling af prøver over natten ved at afkøle eluater på QIASymphony SP-instrumentet. Eluatvolumener kan ændre sig under lange afkølingsperioder, afhængigt af temperaturen og luftfugtigheden i laboratoriet. Hvis det udvalgte volumen f.eks. var 60 µl ved 15-25 °C og 30-60 % luftfugtighed, kan volumenet være 50-85 µl efter 12 timers opbevaring på instrumentet.
Kryopræcipitat efter optøning af plasmaprøver	
a) Kryopræcipitat dannes i plasmaet	For at undgå dannelsen af kryopræcipitat kan plasmaet optøs ved 30 °C i 30 min. i stedet for ved stuetemperatur. Optø ikke ved lave temperaturer (f.eks. 4 °C). Bland røret i vortexer i 30 sekunder efter optøning
b) Lavt ccfDNA-udbytte fra plasma efter fjernelse af kryopræcipitat	Undlad at centrifugere plasmaet for at fjerne kryopræcipitat, da det kan indeholde ccfDNA.
Utilstrækkeligt plasmavolumen fra PAXgene Blood ccfDNA Tubes	
a) Mindre end 10 ml blod indsamlet i PAXgene Blood ccfDNA Tube	Kontrollér, at der indsamles 10 ml blod i PAXgene Blood ccfDNA Tube. Se brugsanvisningen til PAXgene Blood ccfDNA Tube.
b) Højt cellefraktion	Højt niveau af cellefraktion (hæmatokrit) i humant helblod (f.eks. over 51 % for mænd eller 47 % for kvinder) kan medføre mindre plasmavolumener.
c) Lavt plasmaudbytte efter centrifugering	Lange opbevarings- og transporttider for blodprøver eller forskellige centrifugeringsforhold end de angivne kan forringe plasmaudbyttet.
Bundfald i brønden på en åbnet reagenspatron (Reagent Cartridge, RC) i QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit	
a) Bufferfordampning	Kraftig fordampning kan føre til øget saltkoncentration i bufferne. Kassér RC'en. Sørg for at forsegle bufferbeholderne med en delvist brugt RC'en med genbrugsforseglingsstrips, hvis de ikke skal bruges til oprensning.

Kommentarer og forslag	
b) Opbevaring af RC	Opbevaring af en RC under 15 °C kan medføre dannelse af bundfald.
Lavt ccfDNA-udbytte	
a) Magnetiske partikler blev ikke fuldstændigt resuspenderet	Før proceduren startes, skal man sikre sig, at de magnetiske partikler er fuldt resuspenderede. Hvirvles i mindst 3 min. før brug. Ufuldstændig resuspension kan medføre pipetteringsfejl.
b) Tilstopning af pipettespids på grund af uopløseligt materiale	Uopløseligt materiale blev ikke fjernet fra prøven før starten på oprensningsproceduren for QIA Symphony SP-instrumentet.
c) Prøvematerialet har en lav ccfDNA-koncentration	Meget lave ccfDNA-mængder i plasmaprøver kan vanskeliggøre måling af ccfDNA-koncentrationen, afhængigt af den anvendte kvantificeringsmetode. Brug af sensitiv qPCR anbefales for at kontrollere ccfDNA-koncentrationen i eluater.
d) Ufuldstændig forsegling af RC	Udveksling med omgivende luft kan medføre reduceret bufferstabilitet, hvilket fører til reduceret effektivitet af ccfDNA-ekstraktion med en delvist anvendt RC. Sørg for at forsegle bufferbrøndene i en delvist brugt RC grundigt med strips fra et genbrugsforseglingstrips, mens de ikke bruges til oprensning.
Lav ccfDNA-ydelse i efterfølgende anvendelser	
a) Eluat, der er koncentreret ved vakuumcentrifugering	Undlad at koncentrere eluater ved vakuumcentrifugering (f.eks. i en SpeedVac® eller lignende instrument). Dette kan forringe eluater pga. høje temperaturer og saltkoncentrater i eluater, der kan forstyrre efterfølgende anvendelser.
b) Overførsel af perler	Generelt overføres magnetiske partikler ikke til eluater. Hvis der finder overførsel sted, påvirker magnetiske partikler i eluater ikke de fleste efterfølgende anvendelser. Hvis der er behov for meget høje eluatmængder til specifikke efterfølgende analyser, er det muligt at centrifugere og overføre eluaterne til et rent rør.
Ingen/ufuldstændig prøveoverførsel	
a) Forkert prøvevolumen indlæses til standardprotokoller	Hvis der isættes mindre end det angivne prøvevolumen, er der øget risiko for, at prøven markeres som uklar eller manglende overførsel af prøven (markering som ugyldig). Isæt det rigtige prøvevolumen som beskrevet på det tilhørende protokolark og på listen over laboratorieartikler.
b) Bobler og/eller skum i prøverøret	Bobler eller skum i prøven og/eller prøvetilsætningsglasset kan give falsk detektion af væskniveauet og efterfølgende ufuldstændig prøveoverførsel. Fjern bobler fra prøveglasset.

Symboler

Følgende symboler vises muligvis i brugsvejledningen eller på emballagen og. Yderligere symboler er forklaret i Kit-indhold (side 9).

Symbol	Symboldefinition
	Indeholder tilstrækkeligt med reagenser til <N> test Angiver det samlede antal IVD-test, der kan udføres med IVD'et.
	Holdbarhedsdato
	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	CE-mærke. Dette produkt opfylder kravene i EU-direktivet 2017/746 for medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik.
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialenummer (dvs. etiketten på komponenten)
	Komponenter (dvs. en liste over de medfølgende komponenter)
	Indeholder (indhold)
	Antal (dvs. hætteglas, flasker)
	Globalt handelsvarenummer
Rn	R står for revision af brugsanvisningen (håndbog), og n står for revisionsnummeret



Temperaturbegrænsning



Producent



Læs brugsanvisningen



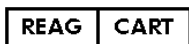
Forsigtig



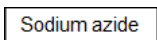
Proteinase K



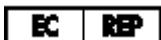
Brøndnummer (dvs. RC-brønd)



Reagenspatron



Natriumazid



Europæisk autoriseret repræsentant i henhold til forordning (EU) 2017/746

Bilag: Kvantificering af ccfDNA

Da prøvematerialer har meget lave koncentrationer af ccfDNA, anbefales det ikke at måle DNA med et spektrofotometer. Til bestemmelse af koncentrationen af ccfDNA bør der anvendes en følsom og præcis fluorescensbaseret kvantiteringanalyse eller en real-time PCR-analyse.

Hvis magnetiske partikler skal fjernes, skal glasset med DNA sættes i en egnet magnetisk separator (f.eks. QIAGEN 12-Tube Magnet, kat.-nr. 36912), indtil magnetiske partikler er separeret.

Hvis DNA'et er i mikroplader, sættes mikropladen på en egnet magnetisk separator (f.eks. QIAGEN 96-Well Magnet Type A, kat.-nr. 36915), indtil de magnetiske partikler er separeret. Hvis en egnet, magnetisk separator ikke er til rådighed, centrifugeres glasset, der indeholder DNA, i 1 minut ved maksimalt omdrejningstal i en mikrocentrifuge for at pelletere alle resterende, magnetiske partikler.

Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Indeholder 2 RC'er, Proteinase K-glas og tilbehør	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 rør: 16 × 100 mm, 1,5 ml additiv, 10 ml mængde tappet blod	768165
QIAGEN		
QIASymphony SP instrument	QIASymphony prøveklargøringsmodul, 1 års garanti på reservedele og arbejdskraft	9001297
Relaterede QIAGEN-produkter		
Proteinase K (10 mL)	1 × 10 ml-flaske	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	RC-holder til brug sammen med QIASymphony SP-instrumentet	997008
Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym	Køleadapter til 2 ml-rør med skruelåg. Til brug i QIASymphony SP-instrumentetskuffen "Eluate" (Eluat)	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Køleadapter til EMT-racks. Til brug i QIASymphony SP-instrumentetskuffen "Eluate" (Eluat)	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Køleadapter til 1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock-glas. Til brug i QIASymphony SP-instrumentetskuffen "Eluate" (Eluat)	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Prøveklargøringskassetter med 8 brønde til brug med QIASymphony SP-instrumentet	997002
8-Rod Covers (144)	8-stangsdæksler til brug sammen med QIASymphony SP-instrumentet	997004

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
Filter-Tips, 200 µL (1024)	Disposable Filter-Tips, i rack; (8 × 128). Til brug med QIAcube®- og QIASymphony SP/AS-instrumentet	990332
Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024)	Disposable Filter-Tips, i rack; (8 × 128). Til brug sammen med QIASymphony SP/AS-instrumentet	997024
Tip Disposal Bags (15)	Spidsaffaldsposer til brug sammen med QIASymphony SP-instrumentet	9013395
12-Tube Magnet	Magnet til separation af magnetiske partikler i 12 × 1,5 ml- eller 2 ml-glas	36912
96-Well Magnet Type A	Magnet til separation af magnetiske partikler i brønde på 96-brøndes plader, 2 × 96-brøndes mikroplader FB	36915
Reuse Seal Set (20)	Genbrugsforseglingssæt til forsegling af delvist brugte QIASymphony-RC'er	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Usterile polypropylenrør (0,85 ml maksimumkapacitet, under 0,7 ml opbevaringskapacitet, 0,4 ml elueringskapacitet); 2304 i racks a 96; inkl. hættestrips	19588
Caps for Elution Microtubes (50 × 8)	Hætter til elutionsmikrorør (50 × 8)	19591
14 mL Falcon Tube	Polystyrenrør med rund bund 17 × 100 mm som prøveholder til QIASymphony SP-instrumentet	Corning, 352051

Revisionshistorik for dokumentet

Revision	Beskrivelse
R1, maj 2021	Første udgivelse
R2, maj 2022	"(CE-IVD)" fjernet nogle steder. Kitindholdsfortegnelse opdateret. www.PreAnalytiX.com med oplysninger om, hvor relaterede ressourcer kan findes, indsat. "Prøver" præciseret som "blodprøver" i afsnittet Sikkerhedsinformation. "Prøve- og analyseaffald skal bortskaffes" ændret til "Miljøskadelige materialer og kitaffald skal bortskaffes" i afsnittet Sikkerhedsinformation. Afsnittene "A) Klargøring af plasma fra blod til standardprotokoller" og "B) Klargøring af plasma fra blod til håndtering af primært rør på QIASymphony SP-instrumentet" opdateret.
R3, februar 2023	Adresse på PreAnalytiX GmbH er blevet ændret fra "Feldbachstrasse" til "Garstligweg 8". Afsnittet Forholdsregler er blevet opdateret. Nødopkaldsnumre er blevet tilføjet i afsnittet Sikkerhedsinformation. Katalognummeret på Proteinase K (100 ml) er blevet rettet i afsnittet Bestillingsinformation. Layout- og redigeringsændringer.

Bemærkninger

Bemærkninger



For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle PreAnalytiX®- eller QIAGEN®-håndbog eller -brugervejledning. PreAnalytiX- og QIAGEN kit-håndbøger og -brugermanualer kan fås via www.qiagen.com eller kan rekvireres hos QIAGEN Teknisk Service eller den lokale distributør.

Få yderligere oplysninger på: www.PreAnalytiX.com
HB-2866-003 02/2023

