

Bruksanvisning for QIASymphony® DSP Circulating DNA Kit (protokollskjema)

circDNA_2000_DSP_V2 og circDNA_4000_DSP_V2

Versjon 2



Til in vitro-diagnostikk

Til bruk sammen med QIASymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Protokollarket er tilgjengelig elektronisk og finnes under fanen resource (ressurser) på produktsiden på www.qiagen.com.

Generell informasjon

Til in vitro-diagnostikk.

Denne protokollen gjelder rensing av humant sirkulerende cellefritt DNA fra ferskt eller fryst humant plasma og urin ved hjelp av QIASymphony DSP Circulating DNA Kit og QIASymphony SP-instrumentet.

Sett	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit	
Katalognr.	937556	
Prøvemateriale	Humant plasma: <ul style="list-style-type: none">Fra blodprøvetakingsrør med ccfDNA-profilstabilisatorer (f.eks. Cell-Free DNA BCT®, Streck®)fra blodprøvetakingsrør uten ccfDNA-profilstabilisatorer (f.eks. EDTA) Human urin: <ul style="list-style-type: none">Med cfDNA-profilstabilisatorerUten cfDNA-profilstabilisatorer	
Protokollnavn	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Standard analysekontrollsett	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Elusjonsvolum	60 µl	60 µl
Nødvendig programvareversjon	Versjon 4.0 eller høyere	Versjon 5.0 eller høyere
Påkrevd programvarekonfigurasjon for IVD-bruk	Standardprofil 1	Standardprofil 1

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

Skuffen "Sample" (Prøve)

Prøvetype	Humant plasma og human urin (se "Klargjøring av prøvematerialer")
Prøvevolum	Avhenger av hvilken type prøverør som brukes Du finner mer informasjon i listen over laboratoriestyr. Du finner listen under fanen resource (ressurser) på produktsiden til www.qiagen.com .
Primære prøverør	I/R
Sekundære prøverør	Du finner mer informasjon i listen over laboratoriestyr. Du finner listen under fanen resource (ressurser) på produktsiden til www.qiagen.com .
Innlegg	I/R
Annet	Proteinase K må tilsettes i spor A (posisjon 1, 2 og/eller 3)

n/a = ikke relevant.

Klargjøring av proteinase K i skuffen "Sample" (Prøve)

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit inneholder ferdigblandet proteinase K-oppløsning som kan oppbevares ved romtemperatur.

Merk: Rør som inneholder proteinase K, plasseres i en rørholder. Rør som inneholder proteinase K, skal plasseres i posisjon 1, 2 og/eller 3 i spor A i skuffen "Sample" (Prøve). Se i listen over laboratorieutstyr for nødvendig rørtype. Du finner listen under fanen resource (ressurser) på produktsiden til www.qiagen.com.

Antall 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†

* For hver prøve må du bruke 110 µl for circDNA_2000_DSP eller 220 µl for circDNA_4000_DSP i tillegg til et ekstra dødvolum på 1100 µl [(n x 110 eller 220 µl) + 1100 µl].

† For circDNA_4000_DSP: Hvis mer enn 48 prøver behandles, må et ekstra rør tas i bruk. Maks innlastingsvolum per rør er 11 660 µl. Til det andre røret kreves et ekstra dødvolum på 1100 µl.

Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbruksvarer)

Posisjon A1 og/eller A2	Reagenskasset (Reagent cartridge, RC)
Posisjon B1	I/R
Spisstativholder 1-18	Filterspisser til engangsbruk, 200 eller 1500 µl
Enhetsbokholder 1-4	Enhetsbokser inneholder prøveklargjøringskassetter eller 8-Rod Covers

n/a = ikke relevant.

Skuffen "Waste" (Avfall)

Enhetsbokholder 1-4	Tomme enhetsbokser
Avfallsposeholder	Avfallspose
Holder for væskeavfallsflaske	Væskeavfallsflaske

Skuffen "Eluate" (Eluat)

Elusjonsstativ (vi anbefaler bruk av åpning 1, nedkjølingsposisjon)

Du finner mer informasjon i listen over laboratorieutstyr. Du finner listen under fanen resource (ressurser) på produktsiden til www.qiagen.com.

Nødvendige plastdeler

Protocol circDNA_2000_DSP

Plastdeler	Ett parti 24 prøver*	To partier 48 prøver*	Tre partier 72 prøver*	Fire partier 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

* Bruk av mindre enn 24 prøver per omgang reduserer antall filterspisser til engangsbruk som kreves per kjøring.

[†] Det er 32 filterspisser/spisstativ.

[‡] Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per reagenskasset.

[§] Det finnes 28 prøveklargjøringskassetter/enhetsboks.

[¶] Det finnes tolv 8-Rod Covers/enhetsboks.

Protocol circDNA_4000_DSP

Plastdeler	Ett parti 24 prøver*	To partier 48 prøver*	Tre partier 72 prøver*	Fire partier 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

* Bruk av mindre enn 24 prøver per omgang reduserer antall filterspisser til engangsbruk som kreves per kjøring.

[†] Det er 32 filterspisser/spisstativ.

[‡] Antall nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per reagenskasset.

[§] Det finnes 28 prøveklargjøringskassetter/enhetsboks.

[¶] Det finnes tolv 8-Rod Covers/enhetsboks.

Merk: Antall angitte filterspisser kan avvike fra antallene vist på berøringsskjermen avhengig av innstillinger, f.eks. antall interne kontroller som brukes per parti.

Elusjonsvolum

Valgt elusjonsvolum	Innledende elusjonsvolum
60 µl	75 µl

Elusjonsvolumet velges på berøringsskjermen. Gjennomsnittlig tilgjengelig elusjonsvolum er ≥ 60 µl. I enkelttilfeller kan det endelige eluatvolumet for enkeltprøver være opptil 5 µl mindre enn det valgte volumet (f.eks. 55 µl). Det er anbefalt å kontrollere det faktiske eluatvolumet ved bruk av et automatisk analyseoppsettssystem som ikke verifiserer eluatvolumet før overføringen.

Lagring av eluater

Merk: Eluatstabilitet avhenger mye av forskjellige faktorer og er knyttet til den spesifikke nedstrømsanvendelsen. Det er etablert for QIASymphony DSP Circulating DNA Kit sammen med eksempel på nedstrømsanvendelser. Det er brukerens ansvar å lese bruksanvisningen for den spesifikke nedstrømsanvendelsen i laboratoriet og/eller validere hele arbeidsflyten for å fastsette egnede oppbevaringsvilkår.

Det er anbefalt at eluatplaten fjernes fra skuffen "Eluate" (Eluat) umiddelbart etter at kjøringen er ferdig. Elusjonsplater kan stå igjen i QIASymphony SP etter at kjøringen er fullført over natten (maksimalt 16 timer inkludert kjøretid med følgende anbefalte miljøbetingelser: 18–26 °C og 20–75 % relativ fuktighet). Avhengig av temperatur og fuktighet kan eluatet bli utsatt for kondens eller damp.

Etter prøveklargjøring kan eluater oppbevares ved 2–8 °C i opptil 1 måned og ved –20 °C eller ved –80°C i opptil 2 måneder. Fryste eluater må ikke tines mer enn 3 ganger.

Klargjøring av prøvematerialer

Merk: Prøvestabilitet avhenger i stor grad av forskjellige faktorer og er knyttet til den spesifikke nedstrømsanvendelsen. Det er etablert for QIASymphony DSP Circulating DNA Kit sammen med eksempel på nedstrømsanvendelser. Det er brukerens ansvar å lese bruksanvisningen for den spesifikke nedstrømsanvendelsen i laboratoriet og/eller validere hele arbeidsflyten for å fastsette egnede oppbevaringsvilkår.

Humant plasma

Når du bruker blodprøvetakingsrør med ccfDNA-profilstabilisatorer, må du følge produsentens bruksanvisning for å utføre klargjøring, oppbevaring, transport og generell håndtering av plasma. Når du bruker blodprøvetakingsrør uten ccfDNA-profilstabilisatorer, og hvis det finnes anvisninger for klargjøring, oppbevaring, transport og generell håndtering av plasma fra leverandøren av den dedikerte undersøkelsesprosedyren, skal disse følges. Du finner mer informasjon i ISO 20186-3:2019 (E) Molecular in vitro diagnostic examinations – Specifications for pre-examination processes for venous whole blood – Part 3: Isolated circulating cell free DNA from plasma.

Uavhengig av anvisningene fra blodprøvetakingsrørets produsent må følgende aspekter vurderes i samsvar med ISO 20186-3:2019 (E) for automatisert ccfDNA-ekstraksjon fra plasma ved bruk av QIASymphony DSP Circulating DNA Kit og QIASymphony SP-instrumentet.

Blodprøver uten ccfDNA-profilstabilisator kan brukes til plasmaklargjøring (i for eksempel EDTA-blodprøvetakingsrør). Plasma som klargjøres fra rør med ccfDNA-profilstabilisator, kan også brukes (i for eksempel Cell-Free DNA BCT fra Streck).

Det er anbefalt å utføre plasmaseparasjon umiddelbart etter bloddonasjon når du bruker EDTA eller citrat som antikoagulant.

For visse nedstrømsanvendelser kan det være nødvendig å ekskludere eller minimere nukleinsyrer fra vesikler. I slike tilfeller anbefales det å utføre et sentrifugeringstrinn med høy hastighet ved 16 000 x g i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C) etter den første plasmaproduksjonen.

Etter prøvetaking og sentrifugering kan plasma oppbevares ved romtemperatur i opptil 7 dager og ved 2–8 °C i opptil 14 dager. Ved lengre lagring i opptil 24 måneder er det anbefalt å fryse alikvoter ved –20 °C eller –80 °C. Fryst plasma må ikke tines mer enn 3 ganger. Gjentatt frysing/tining fører til denaturering og utfelling av proteiner, noe som kan føre til reduserte utbytter av sirkulerende cellefrie nukleinsyrer. Det anbefales å tine plasma i et vannbad ved 30 °C i 30 min. Hvis kryopresipitater er synlige i prøvene, må disse fjernes før prøven lastes inn på instrumentet. Kryopresipitater kan løses opp ved å vorteksblende prøven (sikre at eventuelt skum på prøven fjernes før

den lastes inn på instrumentet). Alternativt kan kryopresipitater fjernes ved sentrifugering og overføring av supernatanten, uten å forstyrre pelleten, til et sekundært prøverør (se listen over laboratoriestyr under fanen resource (ressurser) på produktsiden til www.qiagen.com). Start rensingsprosedyren umiddelbart.

Human urin

På grunn av rask degradering av ccfDNA etter urinprøvetaking er det sterkt anbefalt å stabilisere urinprøver umiddelbart. Eksempel på nedstrømsanvendelser ble benyttet for QIASymphony DSP Circulating DNA Kit for å fastslå anbefalinger for urinhåndtering og -stabilisering. Selv om settet brukes som "front-end" for flere nedstrømsanvendelser, må urinhåndtering fastslås for all slik arbeidsflyt som en del av utviklingen av nedstrømsanvendelser. Når det brukes en kommersielt tilgjengelig cfdNA-profilstabilisator for urin, skal produsentens bruksanvisning følges.

Stabilisert human urin

Stabilisert urin kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C) eller ved 2–8 °C i opptil 7 dager. Ved lengre lagring i opptil 24 måneder er det anbefalt å fryse alikvoter ved –20 °C eller –80 °C.

Stabiliserte urinprøver krever ingen forhåndsbehandling av prøven. Etter stabilisering er det anbefalt å sentrifugere urinprøver ved lav hastighet (1900 x g) i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C) for å fjerne celler før ekstraksjon av ccfDNA. Hvis presipitater er synlige i supernatanten etter sentrifugering, må prøvene varmes opp til 25 °C i et vannbad for å oppløse presipitater. Før oppstart av en kjøring må de stabiliserte urinprøvene overføres til et sekundært prøverør. Legg deretter røret i prøveholderen (se listen over laboratoriestyr under fanen resource (ressurser) på produktsiden til www.qiagen.com).

"Ikke-stabilisert" human urin

Før du starter en protokoll som krever Buffer ATL, må du kontrollere om presipitat er dannet i Buffer ATL. Ved behov, løs opp ved å varme opp ved 70 °C med forsiktig rysting i et vannbad. Aspirer bobler fra overflaten av Buffer ATL.

Merk: Buffer ATL (4 x 50 ml, kat.nr. 939016) er ikke en del av QIASymphony DSP Circulating DNA Kit og må bestilles separat.

Det er anbefalt å sentrifuge urinprøver ved lav hastighet (1900 x g) i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C) umiddelbart etter prøvetaking for å fjerne celler. Ikke-stabiliserte urinprøver krever forhåndsbehandling av prøven.

Viktig: Ekvilibrer prøver til romtemperatur (15–25 °C) før forhåndsbehandlingen starter.

Viktig: Sentrifugering og forhåndsbehandling skal utføres innen 4 timer etter urinprøvetaking.

- Bland 2500 µl urin (circDNA_2000_DSP) eller 4500 µl urin (circDNA_4000_DSP) med hhv. 250 µl eller 450 µl Buffer ATL.
- Inkuber prøvene i romtemperatur (15–25 °C) i 1 time.
- Sentrifuger prøvene ved 1900 x g i 10 minutter ved romtemperatur (15–25 °C).
- Hvis presipitater er synlige i supernatanten etter sentrifugering, må prøvene varmes opp til 25 °C i et vannbad for å oppløse presipitater.
- Overfør supernatantene til et sekundært prøverør. Legg deretter røret i prøveholderen (se listen over laboratoriestyr under fanen resource (ressurser) på produktsiden til www.qiagen.com).

Viktig: Stabiliteten og integriteten til ccfDNA er begrenset i ikke-stabilisert urin. Det anbefales å legge inn maks ett parti med 24 prøver per QIASymphony-kjøring for å minimere tiden urinprøvene må være i systemet.

Viktige punkter før du laster inn prøvene


















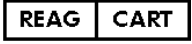
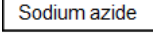


- Forhindre dannelse av skum i eller på prøvene.
- Prøver skal romtempereres (15–25 °C) før kjøringen startes.

Interfererende stoffer

Plasmaprøver med høye konsentrasjoner av gammaglobulin (>30 g/l) kan føre til redusert gjenoppretting av sirkulerende cellefritt DNA.

Symboler

Følgende symboler vises i bruksanvisningen eller på emballasjen og etiketter:

Symbol	Symboldefinisjon
	Inneholder reagenser som er tilstrekkelig til <N> reaksjoner
	Siste forbruksdato
	Dette produktet oppfyller kravene i den europeiske bestemmelsen 2017/746 for in vitro-diagnostiske medisinske enheter.
	In vitro-diagnostisk medisinsk enhet
	Katalognummer
	Partinummer
	Materialnummer (dvs. komponentmerking)
	Komponenter
	Inneholder
	Nummer
	Globalt artikkelnummer
Rn	R er for revisjon av bruksanvisningen, og n er revisjonsnummeret
	Temperaturbegrensning
	Produsent
	Se bruksanvisningen
	Advarsel/forsiktig
	Proteinase K
	Brønnummer (dvs. reagenskassetbrønn)
	Reagenskasset
	Natriumazid
	Etanol
	Entydig utstyrsidentifikator

Endringshistorikk

Revisjon	Beskrivelse
R1, juni 2022	Versjon 2, revisjon 1 <ul style="list-style-type: none">• Oppdatering til versjon 2 for samsvar med IVDR• Ordlyden i Håndtering av prøver er oppdatert for å ta hensyn til ISO 20186-3:2019 (E) Molecular in vitro diagnostic examinations – Specifications for pre-examination processes for venous whole blood – Part 3: Isolated circulating cell free DNA from plasma

Oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser finnes i håndboken eller brukerhåndboken til det aktuelle QIAGEN®-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan fås på forespørsel fra QIAGENs tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke betraktes som ubeskyttet av lov, selv om de ikke spesifikt er merket som dette.

06/2022 HB-3034-S01-001© 2022 QIAGEN, med enerett.