

# QIASymphony® DSP Circulating DNA Kit -sarjan käyttöohje (protokollalomake)

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

Versio 2



In vitro -diagnostiikkaan

Käytettäväksi QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan kanssa



REF

937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Saksa

R2

Protokollalomake on saatavilla sähköisesti tuotesivun Resource (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Yleistä

In vitro -diagnostiikkaan.

Tämä on protokolla ihmisen kiertävän solunulkoisen DNA:n puhdistukseen tuoreesta tai pakastetusta ihmisen plasmasta ja virtsasta QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan ja QIASymphony SP -laitteen avulla.

Sarja	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		
Tuotenumero	937556		
Näyttemateriaali	Ihmisen plasma: <ul style="list-style-type: none"><li>Verinäyteputkista, joissa on ccfDNA-profiilin stabilointiaineita (kuten Cell-Free DNA BCT®, Streck®)</li><li>verinäyteputkista, joissa ei ole ccfDNA-profiilin stabilointiaineita (kuten EDTA)</li></ul> Ihmisen virtsa: <ul style="list-style-type: none"><li>cfDNA-profiilin stabilointiaineilla</li><li>ilman cfDNA-profiilin stabilointiaineita</li></ul>		
Protokollan nimi	circDNA_1000_DSP_V1	circDNA_2000_DSP_V3	circDNA_4000_DSP_V3
Määrityksen kontrollin oletusasetus	ACS_circDNA_1000_DSP_V1	ACS_circDNA_2000_DSP_V3	ACS_circDNA_4000_DSP_V3
Eluutiotilavuus	60 µl	60 µl	60 µl
Tarvittava ohjelmistoversio	Versio 5.0 tai uudempi	Versio 4.0 tai uudempi	Versio 5.0 tai uudempi
IVD-käyttöön tarvittava ohjelmistomääritys	Oletusprofiili 1	Oletusprofiili 1	Oletusprofiili 1

Kemikaalien kanssa työskennellessä on aina käytettävä laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja on tuotekohtaisissa käyttöturvatiedoissa (Safety Data Sheets, SDS), joita saa tuotteen toimittajalta.

## Sample (Näyte) -lokero

Näytetyyppi	Ihmisen plasma ja virtsa (katso Näyttemateriaalin valmistelu)
Näyttemäärä	Määräytyy käytettävän näyteputkityypin mukaan Katso lisätietoja laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun Resource (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
Ensisijaiset näyteputket	–
Toissijaiset näyteputket	Katso lisätietoja laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun Resource (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
Asettimet	Määräytyy käytettävän näyteputkityypin mukaan Katso lisätietoja laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun Resource (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
Muu	Proteiinaasi K lisätään aukkoon A (sijaintiin 1, 2 ja/tai 3)

– = ei olennainen.

## Proteinaasi K:n valmistelu Sample (Näyte) -lokerossa

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarja sisältää valmiskäyttöistä proteinaasi K -liuosta, jota voidaan säilyttää huoneenlämmössä.

Huomautus: Proteinaasi K -pulloja ei saa vaihtaa sarjojen eri eränumeroiden välillä. Käytä vain sarjan mukana toimitettua Proteinaasi K -liuosta.

Huomautus: Proteinaasi K:ta sisältävät putket asetetaan putkitelineeseen. Proteinaasi K:ta sisältävä putki on asetettava ensisijaisesti paikkaan 1. Useita putkia ladattaessa se on asetettava Sample (Näyte) -lokeron aukon A paikkoihin 1, 2 ja/tai 3. Katso tarvittava putkityyppi laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun Resource (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Näytteiden määrä*	circDNA_1000_DSP (µl)	circDNA_2000_DSP (µl)	circDNA_4000_DSP (µl)
8	1580	1980	2860
24	2540	3740	6380
48	3980	6380	11 660
72	5420	9020	18 040 <sup>†</sup>
96	6860	11 660	23 320 <sup>†</sup>

\* Jokaista näytettä kohden tarvitaan 60 µl circDNA\_1000\_DSP-protokollaan, 110 µl circDNA\_2000\_DSP-protokollaan tai 220 µl circDNA\_4000\_DSP-protokollaan ja lisäksi 1 100 µl:n tyhjä tilavuus [(n x 60, 110 tai 220 µl) + 1 100 µl].

<sup>†</sup> circDNA\_4000\_DSP-protokollalla: Jos näytteitä käsitellään enemmän kuin 48, käytä toista putkea. Yhden putken enimmäistäyttömäärä on 11 660 µl. Myös toiseen putkeen tarvitaan 1 100 µl:n tyhjä tilavuus.

## Reagents and Consumables (Reagenssit ja kulutustarvikkeet) -lokero

Sijainti A1 ja/tai A2	Reagenssikasetti (reagent cartridge, RC)
Asento B1	–
Kärkitelineen pidike 1–18	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 tai 1 500 µl
Yksikkölaatikon pidike 1–4	Yksikkölaatikot sisältävät Sample Prep Cartridge -kasetit tai 8-Rod Covers -kannet

– = ei olennainen.

## Waste (Jäte) -lokero

Yksikkölaatikon pidike 1–4	Tyhjät yksikkölaatikot
Jätepussin pidike	Jätepussi
Nestejätepullon pidike	Nestejätepullo

## Eluate (Eluaatti) -lokero

Eluutieline (suositus: aukko 1, jäähdytyspaikka)	Katso lisätietoja laboratoriotarvikeluettelosta, joka on saatavilla tuotesivun Resource (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
--	--

## Vaaditut muoviasiat

### Protokolla circDNA\_1000\_DSP

Muoviasiat	Yksi erä	Kaksi erää	Kolme erää	Neljä erää
	24 näytettä*	48 näytettä*	72 näytettä*	96 näytettä*
Disposable filter-tips, 200 µl <sup>†</sup>	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>†</sup>	64	120	176	232
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	15	30	45	60
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

<sup>†</sup> Kärkitelineessä on 32 suodatinkärkeä.

<sup>‡</sup> Tarvittavien suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen skannaukseen reagenssikasettia kohti.

<sup>§</sup> Yksikkölaatikossa on 28 näytteenvalmistelukasettia.

<sup>¶</sup> Yksikkölaatikossa on 12 kpl 8-Rod Covers -kansia.

### Protokolla circDNA\_2000\_DSP

Muoviasiat	Yksi erä	Kaksi erää	Kolme erää	Neljä erää
	24 näytettä*	48 näytettä*	72 näytettä*	96 näytettä*
Disposable filter-tips, 200 µl <sup>†</sup>	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>†</sup>	64	120	176	232
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	15	30	45	60
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

<sup>†</sup> Kärkitelineessä on 32 suodatinkärkeä.

<sup>‡</sup> Tarvittavien suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen skannaukseen reagenssikasettia kohti.

<sup>§</sup> Yksikkölaatikossa on 28 näytteenvalmistelukasettia.

<sup>¶</sup> Yksikkölaatikossa on 12 kpl 8-Rod Covers -kansia.

### Protokolla circDNA\_4000\_DSP

Muoviasiat	Yksi erä	Kaksi erää	Kolme erää	Neljä erää
	24 näytettä*	48 näytettä*	72 näytettä*	96 näytettä*
Disposable filter-tips, 200 µl <sup>†</sup>	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>†</sup>	104	200	298	394
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	18	36	54	72
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

<sup>†</sup> Kärkitelineessä on 32 suodatinkärkeä.

<sup>‡</sup> Tarvittavien suodatinkärkien määrä käsittää suodatinkärjet yhteen skannaukseen reagenssikasettia kohti.

<sup>§</sup> Yksikkölaatikossa on 28 näytteenvalmistelukasettia.

<sup>¶</sup> Yksikkölaatikossa on 12 kpl 8-Rod Covers -kansia.

Huomautus: Mainittu suodatinkärkien määrä voi poiketa kosketusnäytössä näkyvästä luvusta asetusten mukaan (esimerkiksi erässä käytettävien sisäisten kontrollien määrän perusteella).

## Eluutiotilavuus

**Valittu eluutiotilavuus**

60 µl

**Alkuperäinen eluutiotilavuus**

75 µl

Eluutiotilavuus valitaan kosketusnäytöstä. Keskimääräinen saatavilla oleva eluutiotilavuus on  $\geq 60$  µl. Yksittäisissä tapauksissa lopullinen eluutiotilavuus yksittäisillä näytteillä voi olla korkeintaan 5 µl vähemmän kuin valittu tilavuus (eli 55 µl). Suositus on, että todellinen eluaattitilavuus tarkistetaan, kun käytetään automaattista määrityksen asetusjärjestelmää, joka ei tarkista eluaattitilavuutta ennen siirtoa.

## Eluaattien säilytys

Huomautus: Eluaatin vakaus riippuu paljolti erilaisista tekijöistä ja liittyy kyseiseen myöhempään käyttötarkoitukseen. QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan stabiilius on määritetty esimerkkinä käytettyjen myöhempien sovellusten yhteydessä. Käyttäjän vastuulla on tarkistaa laboratoriossa käytettävän myöhemmän sovelluksen käyttöohjeet ja/tai validoitava koko työnkulku oikeiden säilytysolosuhteiden selvittämiseksi.

On suositeltavaa poistaa eluaattilevy Eluate (Eluaatti) -lokerosta heti ajon päättymisen jälkeen. Eluutiolevyt voidaan jättää QIASymphony SP:hen, jos ajo suoritetaan yön aikana (korkeintaan 16 tuntia ajon kesto mukaan luettuna; suositellut ympäristöolosuhteet: 18–26 °C ja 20–75 %:n suhteellinen kosteus). Lämpötilan ja kosteuden vaikutuksesta eluaatissa saattaa ilmetä kondensaatiota tai haihtumista.

Näytteen valmistelun jälkeen eluaatteja voidaan säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa korkeintaan yhden kuukauden ajan ja –20 °C:n tai –80 °C:n lämpötilassa korkeintaan kahden kuukauden ajan. Pakastettuja eluaatteja ei saa sulattaa enempää kuin 3 kertaa.

## Näyttemateriaalin valmistelu

Huomautus: Näytteen stabiilius riippuu paljolti erilaisista tekijöistä ja liittyy kyseiseen myöhempään käyttötarkoitukseen. QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan stabiilius on määritetty esimerkkinä käytettyjen myöhempien sovellusten yhteydessä. Käyttäjän vastuulla on tarkistaa laboratoriossa käytettävän myöhemmän sovelluksen käyttöohjeet ja/tai validoitava koko työnkulku oikeiden säilytysolosuhteiden selvittämiseksi.

## Ihmisen plasma

Kun käytetään verinäyteputkia, joissa on ccfDNA-profiilin stabilointiaineita, noudatetaan valmistajan ohjeita plasman valmistelusta, säilytyksestä, kuljetuksesta ja yleisestä käsittelystä. Kun käytetään verinäyteputkia, joissa ei ole ccfDNA-profiilin stabilointiaineita, noudatetaan kyseisen tutkimusmenetelmän tarjoajan toimittamia ohjeita plasman valmistelusta, säilytyksestä, kuljetuksesta ja yleisestä käsittelystä, mikäli sellaiset on. Katso lisätietoja standardista *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*.

Verinäyteputken valmistajan ohjeista huolimatta seuraavat ISO 20186-3:2019 (E) -standardin mukaiset seikat tulisi huomioida ccfDNA:n automaattisessa eristämässä plasmasta QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjalla ja QIASymphony SP -laitteella.

Plasman valmisteluun voidaan käyttää verinäytteitä, joissa ei ole ccfDNA-profiilin stabilointiaineita (esimerkiksi EDTA-verinäyteputket). Myös ccfDNA-profiilin stabilointiainetta sisältävissä putkissa valmisteltua plasmaa voidaan käyttää (esimerkiksi Streckin Cell-Free DNA BCT -putket).

Plasman erottaminen suositellaan tekemään välittömästi verenluovutuksen jälkeen, jos antikoagulanttina käytetään EDTA:ta tai sitraattia.

Joitain myöhempiä käyttötarkoituksia varten nukleiinihapot voidaan joutua poistamaan tai minimoimaan rakkuloista. Tällaisissa tapauksissa suositellaan käyttämään näytettä sentrifugissa 10 minuutin ajan suurella nopeudella 16 000 x g:ssa huoneenlämmössä (15–25 °C) alkuperäisen plasman valmistuksen jälkeen.

Näytteenoton ja sentrifugissa käytön jälkeen plasmaa voidaan säilyttää huoneenlämmössä korkeintaan seitsemän päivää ja 2–8 °C:ssa korkeintaan 14 päivää. Pidempää, korkeintaan 24 kuukauden säilytystä varten suositellaan pakastamista alikvooteissa –20 °C:n tai –80 °C:n lämpötilassa. Pakastettua plasmaa ei saa sulattaa enempää kuin 3 kertaa. Toistuva pakastaminen ja sulattaminen johtaa proteiinien denaturoitumiseen ja saostumiseen, mikä saattaa vähentää kiertävien soluttomien nukleiinihappojen tuottoa. Plasmaa suositellaan sulattamaan 30 °C:n vesihauteessa 30 minuuttia. Jos näytteissä näkyy kryosaostumia, ne on poistettava ennen näytteen lataamista laitteeseen. Kryosaostumat voi liuottaa vorteksoimalla näytettä (jos näytteen pinnalla on vaahtoa, varmista, että se häviää ennen näytteen lataamista laitteeseen). Vaihtoehtoisesti kryosaostumat voi poistaa sentrifugoimalla ja siirtämällä supernatantin pellettiin koskematta toissijaiseen näyteputkeen (katso laboratoriotarvikeluettelo, joka on saatavilla tuotesivun Resource (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)). Aloita puhdistus välittömästi.

## Ihmisen virtsa

Koska ccfDNA hajoo nopeasti virtsanäytteen ottamisen jälkeen, virtsanäytteet suositellaan stabiloimaan välittömästi. QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjan kanssa käytettiin esimerkkeinä erilaisia myöhempiä sovelluksia, joiden avulla virtsan käsittelyn ja stabiloinnin suositukset määritettiin. Vaikka sarjaa käytetään alkuvaiheena ennen monia myöhempiä sovelluksia, virtsan käsittely täytyy määrittää kaikissa tällaisissa työkuluissa osana myöhempää sovellusta. Vaihtoehtoisesti noudatetaan valmistajan ohjeita, kun käytetään kaupallisesti saatavilla olevaa virtsan cfDNA-profiilin stabilointiainetta.

## Stabiloitu ihmisen virtsa

Stabiloitua virtsaa voidaan säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C) tai 2–8 °C:n lämpötilassa enintään seitsemän päivää. Pidempää, korkeintaan 24 kuukauden säilytystä varten suositellaan pakastamista alikvooteissa –20 °C:n tai –80 °C:n lämpötilassa.

Stabiloituja virtsanäytteitä ei tarvitse esikäsittää. Stabiloinnin jälkeen virtsanäytteitä on suositeltavaa käyttää sentrifugissa hitaalla nopeudella (1 900 x g) 10 minuutin ajan huoneenlämmössä (15–25 °C), jotta solut poistuvat ennen ccfDNA:n eristämistä. Jos supernatanteissa näkyy saostumia sentrifugissa käytön jälkeen, lämmitä näytteet 25 °C:n lämpötilaan vesihauteessa, jotta saostumat liukenevat. Siirrä stabiloidut virtsanäytteet ennen ajon aloittamista toissijaiseen näyteputkeen ja lataa putki sitten näyteputkelineeseen (katso laboratoriotarvikeluettelo, joka on saatavilla tuotesivun Resource (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Stabiloimaton ihmisen virtsa

Tarkista ennen Buffer ATL -puskuriä edellyttävän protokollan aloittamista, onko Buffer ATL -puskuriin muodostunut saostumia. Liuota saostumat tarvittaessa lämmittämällä puskuriliuos 70 °C:een varovasti ravistellen vesihauteessa. Aspiroi kuplat Buffer ATL -puskurin pinnalta.

**Huomautus:** Buffer ATL -puskuri (4 x 50 ml, tuotenro 939016) ei kuulu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit -sarjaan, ja se on tilattava erikseen.

Virtsanäytteitä on suositeltavaa käyttää sentrifugissa välittömästi näytteenoton jälkeen hitaalla nopeudella (1 900 x g) 10 minuutin ajan huoneenlämmössä (15–25 °C), jotta solut poistuvat. Stabiloimattomat virtsanäytteet täytyy esikäsittää.

**Tärkeää:** anna näytteiden tasaantua huoneenlämpöön (15–25 °C) ennen esikäsittelyn aloittamista.

**Tärkeää:** sentrifugissa käyttö ja esikäsittely pitää tehdä 4 tunnin kuluessa virtsanäytteiden ottamisesta.

- Sekoita 1 500 µl virtsaa (circDNA\_1000\_DSP), 2 500 µl virtsaa (circDNA\_2000\_DSP) tai 4 500 µl virtsaa (circDNA\_4000\_DSP) vastaavasti 150 µl:aan, 250 µl:aan tai 450 µl:aan Buffer ATL -puskuria.
- Inkuboi näytteitä huoneenlämmössä (15–25 °C) yhden tunnin ajan.
- Käytä näytteitä sentrifugissa nopeudella 1 900 x g 10 minuutin ajan huoneenlämmössä (15–25 °C).
- Jos supernatantissa näkyy saostumia sentrifugissa käytön jälkeen, lämmitä näytteet 25 °C:n lämpötilaan vesihauteessa, jotta saostumat liukenevat.
- Siirrä supernatantit toissijaiseen näyteputkeen ja lataa putki sitten näyteputkitelineeseen (katso laboratoriotarvikeluettelo, joka on saatavilla tuotesivun Resource (Materiaalit) -välilehdessä osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

**Tärkeää:** ccfDNA:n stabiilius ja eheys ovat rajallisia stabiloimattomassa virtsassa. Jotta virtsanäytteet olisivat laitteessa mahdollisimman vähän aikaa, on suositeltavaa ladata korkeintaan yksi 24 näytteen erä yhdelle QIASymphony-ajolle.

### Tärkeää huomioitavaa ennen näytteiden lataamista

- Vaahdon muodostuminen näytteisiin tai niiden pinnalle on estettävä.
- Näytteet on tasapainotettava huoneenlämpöön (15–25 °C) ennen ajon aloittamista.


















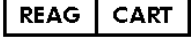
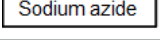


### Häiritsevät aineet

Jos plasmanäytteiden gammaglobuliinipitoisuus on korkea (> 30 g/l), kiertävän soluttoman DNA:n talteenotto saattaa vähentyä.



# Symbolit

Käyttöohjeessa tai pakkauksessa ja etiketeissä käytetään seuraavia symboleita:

Symboli	Selitys
	Sisältää reagensseja, jotka riittävät <N> reaktioon
	Viimeinen käyttöpäivämäärä
	Tämä tuote täyttää in vitro -diagnostisia lääketieteellisiä laitteita koskevan asetuksen (EU) 2017/746 vaatimukset.
	In vitro -diagnostinen lääketieteellinen laite
	Tuotenumero
	Eränumero
	Materiaalinumero (ts. komponentin merkintä)
	Komponentit
	Sisältö
	Numero
	GTIN-numero
Rn	R tarkoittaa käyttöohjeiden tarkistusta ja n on tarkistuksen numero
	Lämpötilarajoitus
	Valmistaja
	Katso käyttöohjeet
	Varoitus/huomio
	Proteinaasi K
	Kuopan numero (ts. reagenssikasetin kuoppa)
	Reagenssikasetti
	Natriumatsidi
	Etanoli
	Yksilöllinen laitetunniste

## Muutoshistoria

Tarkistus	Kuvaus
R1, heinäkuu 2022	Versio 2, tarkistus 1 <ul style="list-style-type: none"><li>Päivitetty versioon 2 IVDR-vaatimusten noudattamiseksi</li><li>Näytteiden käsittely -kohtaan päivitetty standardi 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</li></ul>
R2, tammikuu 2023	Versio 2, tarkistus 2 <ul style="list-style-type: none"><li>Lisätty BioScript 1 ml:n näytetilavuudelle (circDNA 1000 DSP)</li><li>Päivitys versioon V3 protokollien circDNA_2000 ja circDNA_4000 osalta</li></ul>

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN®-sarjojen käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat ovat saatavilla osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikka niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty.

01/2023 HB-3034-S01-002© 2022 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.