

Bruksanvisning till QIASymphony® DSP Circulating DNA Kit (Protokollblad)

circDNA_2000_DSP_V2 och circDNA_4000_DSP_V2

Version 2



För in vitro-diagnostisk användning

För användning med QIASymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Protokollbladet är tillgängligt elektroniskt och finns på resursfliken på produktsidan på 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 användning av QIASymphony DSP Circulating DNA Kit och QIASymphony SP-instrumentet.

Kit	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit	
Katalognr.	937556	
Provmaterial	Human plasma: <ul style="list-style-type: none">• Från blodprovtagingsrör med ccfDNA-profilstabilisatorer (t.ex. Cell-Free DNA BCT[®], Streck[®])• från blodprovtagingsrör utan ccfDNA-profilstabilisatorer (t.ex. EDTA) Human urin: <ul style="list-style-type: none">• Med cfDNA-profilstabilisatorer• Utan cfDNA-profilstabilisatorer	
Protokollnamn	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Förvald analyskontrolluppsättning	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Elueringsvolym	60 µl	60 µl
Nödvändig programversion	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)

Använd alltid 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)

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

n/a = ej relevant.

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

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

OBS! Provrör som innehåller proteinas K placeras i en provrörshållare. Provrören med proteinas K måste placeras i positionerna 1, 2 och/eller 3 i fack A på lådan "Sample" (Prov). Provrörstyp som behövs visas i labbmateriellista, som finns på resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com.

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

* För varje prov behövs 110 µl för circDNA_2000_DSP eller 220 µl för circDNA_4000_DSP, plus en extra tom volym på 1 100 µl [(n x 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	Reagenskasset (Reagent Cartridge, RC)
Position B1	Ej relevant
Spetsrackhållare 1–18	Engångsfilterspetsar, 200 µl eller 1 500 µl
Hållare för enhetslådor 1–4	Enhetslådor som innehåller provprepareringskassetter eller 8-Rod Covers

n/a = ej relevant.

Lådan "Waste" (Avfall)

Hållare för enhetslådor 1–4	Tomma enhetslådor
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 anges i labbmateriellista, som finns på resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com.

Erforderliga plastartiklar

Protokoll circDNA_2000_DSP

Plastartiklar	En batch 24 prover*	Två batcher 48 prover*	Tre batcher 72 prover*	Fyra batcher 96 prover*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1 500 µl ^{††}	56	112	168	224
Sample prep cartridges [§]	15	30	45	60
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Om färre än 24 prover per batch används minskas antalet engångsfilterspetsar som krävs per körning.

[†] Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

[‡] Antalet filterspetsar som behövs omfattar filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

[§] Det finns 28 provberedningskassetter/enhetslåda.

[¶] Det finns tolv 8-Rod Covers/enhetslåda.

Protokoll circDNA_4000_DSP

Plastartiklar	En batch 24 prover*	Två batcher 48 prover*	Tre batcher 72 prover*	Fyra batcher 96 prover*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1 500 µl ^{††}	96	192	288	384
Sample prep cartridges [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Om färre än 24 prover per batch används minskas antalet engångsfilterspetsar som krävs per körning.

[†] Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

[‡] Antalet filterspetsar som behövs omfattar filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

[§] Det finns 28 provberedningskassetter/enhetslåda.

[¶] Det finns tolv 8-Rod Covers/enhetslåda.

Obs! Givet antal filterspetsar kan skilja sig från det antal som visas på pekskärmen beroende på inställningarna, till exempel det antal interna kontroller som används per batch.

Elueringsvolym

Vald elueringsvolym	Initial elueringsvolym
60 µl	75 µl

Elueringsvolymen väljs på pekskärmen. Genomsnittlig tillgänglig elueringsvolym är ≥ 60 µl. I enskilda fall kan slutlig eluatvolym för enskilda prover vara upp till 5 µl mindre än den valda volymen (t.ex. 55 µl). 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 beror i hög grad på olika faktorer och har att göra med nedströmstillämpningen. 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 beror i hög grad på olika faktorer och har att göra med nedströmstillämpningen. 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 blodprovtagningrör med ccfDNA-profilstabilisatorer ska tillverkarens anvisningar för att utföra plasmaberedning, förvaring, transport och allmän hantering följas. Vid användning av blodprovtagningrör 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 blodprovtagningröret 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-blodprovtagningrör). 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 antikoagulant.

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. Vi rekommenderar att tina plasma i vattenbad i 30 °C i 30 min. Om kryoprecipitat är synliga i provet måste de avlägsnas 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). 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).

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 ml, 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 2 500 µl urin (circDNA_2000_DSP) eller 4 500 µl urin (circDNA_4000_DSP) med 250 µl respektive 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 precipitatet.
- 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).

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


















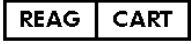
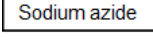


- Undvik skumbildning i eller på proven.
- Proverna måste uppnå rumstemperatur (15–25 °C) innan körningen startas.

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
	Den här produkten uppfyller kraven i Europeisk Regel 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.
	In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialnummer (dvs. komponentetikett)
	Komponenter
	Innehåller
	Antal
	GSI-artikelnnummer
Rn	R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret
	Temperaturbegränsning
	Tillverkare
	Läs bruksanvisningen
	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">• Uppdatering till version 2 för överensstämmelse med IVDR• Formulering av provhantering uppdaterad för att ta hänsyn till ISO 20186-3:2019 (E) Molekylärbio-logiska in vitro-diagnostiska undersökningar – Riktlinjer för pre-analytiska processer för venöst helblod – Del 3: Isolerat cirkulerande cellfritt DNA från plasma

Aktuell licensinformation och produktspecifika ansvarsfriskrivningar finns i handboken eller bruksanvisningen till respektive QIAGEN®-kit. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller din lokala 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.

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