

Brugsanvisning til QIASymphony® DSP Circulating DNA Kit (protokolark)

circDNA_1000_DSP_V1, circDNA_2000_DSP_V3 og circDNA_4000_DSP_V3

Version 2



Til in vitro-diagnostisk brug

Til brug med QIASymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R2

Protokolarket kan findes på ressourcefanen på produksiden på www.qiagen.com.

Generelle oplysninger

Til in vitro-diagnostisk brug.

Denne protokol vedrører oprensning af humant cirkulerende cellefrit DNA fra frisk eller frossen humant plasma og human urin ved hjælp af QIASymphony DSP Circulating DNA Kit og QIASymphony SP-instrumentet.

Kit	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		
Katalognr.	937556		
Prøvemateriale	Humant plasma: <ul style="list-style-type: none">Fra blodprøvetagningsrør med ccfDNA-profilstabilisatorer (f.eks. Cell-Free DNA BCT®, Streck®)fra blodprøvetagningsrør med ccfDNA-profilstabilisatorer (f.eks. EDTA) Human urin: <ul style="list-style-type: none">Med cfDNA-profilstabilisatorerUden cfDNA-profilstabilisatorer		
Protokolnavn	circDNA_1000_DSP_V1	circDNA_2000_DSP_V3	circDNA_4000_DSP_V3
Standardanalysekontrolsæt	ACS_circDNA_1000_DSP_V1	ACS_circDNA_2000_DSP_V3	ACS_circDNA_4000_DSP_V3
Elueringsmængde	60 µl	60 µl	60 µl
Påkrævet softwareversion	Version 5.0 eller højere	Version 4.0 eller højere	Version 5.0 eller højere
Påkrævet softwarekonfiguration til IVD-brug	Standardprofil 1	Standardprofil 1	Standardprofil 1

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er), som kan fås hos produktets leverandør.

Skuffen "Sample" (Prøve)

Prøvetype	Humant plasma og human urin (se "Klargøring af prøvemateriale")
Prøvevolumen	Afhænger af det anvendte prøveglass Vedr. yderligere information henvises til listen over laboratorieartikler på fanen Resource (Ressourcer) på siden Product (Produkt) på www.qiagen.com .
Primære prøverør	i/r
Sekundære prøverør	Vedr. yderligere information henvises til listen over laboratorieartikler på fanen Resource (Ressourcer) på siden Product (Produkt) på www.qiagen.com .
Indsætter	Afhænger af det anvendte prøveglass Vedr. yderligere information henvises til listen over laboratorieartikler på fanen Resource (Ressourcer) på siden Product (Produkt) på www.qiagen.com .
Andet	Proteinase K skal tilsættes i position A (position 1, 2 og/eller 3)

i/r = ikke relevant.

Klargøring af proteinase K i Skuffen "Sample" (prøve)

QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit indeholder brugsklar proteinase K-opløsning, der kan opbevares ved stuetemperatur.

Bemærk: Brug ikke proteinase K-flasker fra forskellige kitlotnumre. Brug kun den proteinase K-opløsning, der medfølger i det relevante kit.

Bemærk: Rørene med proteinase K er anbragt i en rørholder. Rørene med proteinase K skal anbringes på placering 1, hvis det er muligt. Hvis flere rør skal isættes, skal de anbringes i position 1, 2 og/eller 3 i plads A i skuffen "Sample" (Prøve). Vedrørende den påkrævede glastype henvises til listen over laboratorieartikler på fanen Resource (Ressourcer) på siden Product (Produkt) på www.qiagen.com.

Antal prøver*	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†
96	6860	11 660	23 320†

* Til hver prøve skal der anvendes 60 µl til circDNA_1000_DSP, 110 µl til circDNA_2000_DSP eller 220 µl til circDNA_4000_DSP plus et yderligere tomt volumen på 1100 µl [(n x 60, 110 eller 220 µl) + 1100 µl].

† Til circDNA_4000_DSP: Brug endnu et glas, hvis der behandles flere end 48 prøver. Den maksimale fyldningsmængde pr. glas er 11 660 µl. Til det sekundære rør skal der anvendes endnu et tomt volumen på 1100 µl.

Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbrugsartikler)

Position A1 og/eller A2	Reagenspatron (Reagent cartridge, RC)
Position B1	i/r
Spidsrackholder 1-18	Engangsfilterspidser, 200 eller 1500 µl
Enhedsbokholder 1-4	Enhedsbokse med prøveklargøringskassetter eller 8-Rod Covers

i/r = ikke relevant.

Skuffen "Waste" (affald)

Enhedsbokholder 1-4	Tomme enhedsbokse
Affaldsposeholder	Affaldspose
Væskeaffaldsflaskholder	Væskeaffaldsflaske

Skuffen "Eluate" (eluat)

Elueringsrack (vi anbefaler at anvende åbning 1, afkølingsposition)	Vedr. yderligere information henvises til listen over laboratorieartikler på fanen Resource (Ressourcer) på siden Product (Produkt) på www.qiagen.com .
---	---

Påkrævede plastikprodukter

Protokol circDNA_1000_DSP

Plastemner	En batch	To batches	Tre batches	Fire batches
	24 prøver*	48 prøver*	72 prøver*	96 prøver*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	64	120	176	232
Sample prep cartridges [§]	15	30	45	60
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Hvis der anvendes færre end 24 prøver pr. batch, reduceres antallet af påkrævede engangsfilterspidser pr. kørsel.

[†] Der er 32 filterspidser/spidsrack.

[‡] Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. RC.

[§] Der er 28 kassetter/enhedsbokse til prøveklargøring.

[¶] Der er 12 8-Rod Covers/enhedsboks.

Protokol circDNA_2000_DSP

Plastemner	En batch	To batches	Tre batches	Fire batches
	24 prøver*	48 prøver*	72 prøver*	96 prøver*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	64	120	176	232
Sample prep cartridges [§]	15	30	45	60
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Hvis der anvendes færre end 24 prøver pr. batch, reduceres antallet af påkrævede engangsfilterspidser pr. kørsel.

[†] Der er 32 filterspidser/spidsrack.

[‡] Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. RC.

[§] Der er 28 kassetter/enhedsbokse til prøveklargøring.

[¶] Der er 12 8-Rod Covers/enhedsboks.

Protokol circDNA_4000_DSP

Plastemner	En batch	To batches	Tre batches	Fire batches
	24 prøver*	48 prøver*	72 prøver*	96 prøver*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	104	200	298	394
Sample prep cartridges [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Hvis der anvendes færre end 24 prøver pr. batch, reduceres antallet af påkrævede engangsfilterspidser pr. kørsel.

[†] Der er 32 filterspidser/spidsrack.

[‡] Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. RC.

[§] Der er 28 kassetter/enhedsbokse til prøveklargøring.

[¶] Der er 12 8-Rod Covers/enhedsboks.

Bemærk: Antallet af angivne filterspidser kan afvige fra det antal, der vises på berøringsskærmen, afhængigt af indstillinger, for eksempel antal interne kontroller, der er anvendt pr. batch.

Elueringsmængde

Valgt elueringsmængde

60 μ l

Initial elueringsmængde

75 μ l

Elueringsmængde vælges på berøringskærmen. Den tilgængelige middel-elueringsmængde er ≥ 60 μ l. I enkelte tilfælde kan den endelige eluatvolumen for enkelt prøver være op til 5 μ l mindre end det valgte volumen (f.eks., 55 μ l). Det anbefales at kontrollere det faktiske eluatvolumen, når der anvendes et automatisk analyseopsætningssystem, der ikke bekræfter eluatvolumen før overførsel.

Opbevaring af eluater

Bemærk: Eluatstabilitet afhænger af mange forskellige faktorer og det konkrete efterfølgende anvendelsesformål. Den er blevet fastlagt for QIASymphony DSP Circulating DNA Kit i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Det er brugerens ansvar at læse i brugsanvisningen om den specifikke efterfølgende anvendelse, der anvendes i det pågældende laboratorium, og/eller validere hele arbejdsgangen for at etablere passende opbevaringsbetingelser.

Det anbefales at fjerne eluatpladen fra skuffen "Eluate" (eluat), straks efter at kørslen er færdig. Elueringsplader kan blive siddende natten over i QIASymphony SP, efter at kørslen er færdig (maks. 16 timer, inkl. kørselstiden; anbefalede omgivende forhold: 18-26 °C og 20-75% relativ luftfugtighed). Afhængigt af temperatur og luftfugtighed kan eluatet kondensere eller fordampe.

Efter klargøring af prøve kan eluater opbevares ved 2-8 °C i op til 1 måned og ved -20 °C eller ved -80 °C i op til 2 måneder. Nedfrosne eluater må ikke tøs op mere end 3 gange.

Klargøring af prøvemateriale

Bemærk: Prøvestabilitet afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. Den er blevet fastlagt for QIASymphony DSP Circulating DNA Kit i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Det er brugerens ansvar at læse i brugsanvisningen om den specifikke efterfølgende anvendelse, der anvendes i det pågældende laboratorium, og/eller validere hele arbejdsgangen for at etablere passende opbevaringsbetingelser.

Humant plasma

Ved brug af blodprøvetagningsrør med ccfDNA-profilstabilisatorer skal producentens instruktioner om at udføre klargøring, opbevaring, transport og generel håndtering af plasma følges. Ved brug af blodprøvetagningsrør uden ccfDNA-profilstabilisatorer, og hvis instruktioner for klargøring, opbevaring, transport og generel håndtering af plasma er tilgængelige fra udbyderen af den dedikerede undersøgelsesprocedure, skal disse følges. For flere detaljer henvises til *ISO 20186-3:2019 (E) Molekylære in vitro-diagnostiske undersøgelser – Specifikationer for præanalytiske processer ved undersøgelse af venøst fuldblod – Del 3: Isoleret cirkulerende cellefri DNA fra plasma*.

Uafhængigt af blodprøvetagningsrørproducentens instruktioner bør følgende aspekter overvejes i henhold til ISO 20186-3:2019 (E) for automatisk ccfDNA-ekstraktion fra plasma ved hjælp af QIASymphony DSP Circulating DNA Kit og QIASymphony SP-instrumentet.

Blodprøver uden ccfDNA-profilstabilisator kan bruges til plasmapræparation (f.eks. EDTA-blodprøvetagningsrør). Plasma klargjort fra rør med ccfDNA-profilstabilisator kan også anvendes (f.eks. Cell-Free DNA BCT fra Streck).

Det anbefales at udføre plasmaseparation straks efter bloddonation, når EDTA eller citrat anvendes som antikoagulan.

Til visse efterfølgende anvendelser kan det være nødvendigt at udelukke eller minimere nukleinsyrer fra vesikler. I disse tilfælde anbefales det at udføre et centrifugeringsstrin ved høj hastighed ved 16.000 x g i 10 minutter ved stuetemperatur (15-25 °C) efter initial plasmageneration.

Efter opsamling og centrifugering kan plasma opbevares ved stuetemperatur i op til 7 dage og ved 2-8 °C i op til 14 dage. Ved længerevarende opbevaring op til 24 måneder anbefales det at nedfryse alikvoter ved -20 °C eller -80 °C. Nedfrosset plasma må ikke tøs op mere end 3 gange. Gentagne fryse-tø-cykler medfører denaturering og udfældning af proteiner, der kan medføre reducerede udbytte af cirkulerende cellefrie nukleinsyrer. Det anbefales at optø plasma i et vandbad ved en temperatur på 30 °C i 30 minutter. Hvis der kan ses kryopræcipitater i prøverne, skal de fjernes, inden prøven sættes på instrumentet. Kryopræcipitater kan opløses ved at vortexblende prøven (sørg for, at eventuelt synligt skum oven på prøven fjernes, før prøven sættes på instrumentet). Alternativt kan kryopræcipitater fjernes ved centrifugering og overførsel af supernatanten uden at forstyrre pelleten til et sekundært prøverør (se listen med laboratorieartikler, der kan findes på fanen Resources (Ressourcer) på siden Product (Produkt) på www.qiagen.com). Start oprensingsproceduren med det samme.

Human urin

På grund af den hurtige nedbrydning af ccfDNA efter urinopsamling anbefales det kraftigt at stabilisere urinprøverne straks. Typiske efterfølgende anvendelser blev brugt til QIASymphony DSP Circulating DNA Kit til at etablere anbefalinger til urinhåndtering og -stabilisering. Selvom kittet bruges som front-end til flere efterfølgende anvendelser, skal urinhåndtering etableres for enhver sådan arbejdsgang som en del af udviklingen af efterfølgende anvendelser. Alternativt, når der bruges en kommercielt tilgængelig cfDNA-profilstabilisator til urin, skal producentens instruktioner følges.

Human urin stabiliseret

Stabiliseret urin kan opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C) eller ved 2-8 °C i op til 7 dage. Ved længerevarende opbevaring op til 24 måneder anbefales det at nedfryse alikvoter ved -20 °C eller -80 °C.

Stabiliserede urinprøver kræver ingen forbehandling af prøven. Efter stabilisering anbefales det at centrifugere urinprøver ved lav hastighed (1900 x g) i 10 minutter ved stuetemperatur (15-25 °C) for at fjerne celler før ekstraktion af ccfDNA. Hvis bundfald er synligt i supernatanter efter centrifugering, skal prøverne opvarmes til 25 °C i et vandbad for at opløse bundfaldet. Før en kørsel startes skal stabiliserede urinprøver overføres til et andet prøveglas, hvorefter dette glas sættes i prøveholderen (se listen over laboratorieartikler, der kan findes på fanen Ressource på siden Produkt på www.qiagen.com).

Human urin: "ustabiliseret"

Før der startes en protokol, der kræver Buffer ATL, skal det kontrolleres, om der er dannet bundfald i Buffer ATL. Opløs det evt. ved opvarmning til 70 °C og forsigtig omrøring i vandbad. Aspirer bobler fra overfladen af Buffer ATL.

Bemærk: Buffer ATL (4 x 50 ml, kat.nr. 939016) indgår ikke i QIASymphony DSP Circulating DNA Kit og skal bestilles for sig.

Det anbefales at centrifugere urinprøver straks efter indsamling ved lav hastighed (1900 x g) i 10 minutter ved stuetemperatur (15-25 °C) for at fjerne celler. Ustabiliserede urinprøver kræver forbehandling af prøven.

Vigtigt: Ekvilibrér prøver til stuetemperatur (15-25 °C), før forbehandlingen startes.

Vigtigt: Centrifugering og forbehandling skal udføres inden for 4 timer efter opsamling af urinprøven.

- Bland 1500 µl urin (circDNA_1000_DSP), 2500 µl urin (circDNA_2000_DSP) eller 4500 µl urin (circDNA_4000_DSP) med hhv. 150 µl, 250 µl eller 450 µl Buffer ATL.
- Inkuber prøverne ved stuetemperatur (15-25 °C) i 1 time.

- Centrifuger prøverne ved 1900 x g i 10 minutter ved stuetemperatur (15-25 °C).
- Hvis buldfald er synligt i supernatant efter centrifugering, skal prøverne opvarmes til 25 °C i et vandbad for at opløse buldfaldet.
- Overfør supernatanter til et andet prøveglas, hvorefter dette glas sættes i prøveholderen (se listen over laboratorieartikler, der kan findes på fanen Ressource på siden Produkt på www.qiagen.com).

Vigtigt: DNA's stabilitet og integritet er begrænset i ustabiliseret urin. Det anbefales at isætte maks. én batch med 24 prøver pr. QIASymphony-kørsel for at minimere urinprøvernes tid i apparatet.

Vigtige punkter før isætning af prøverne


















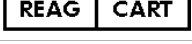
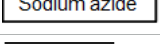


- Sørg for, at der ikke dannes skum i eller på prøverne.
- Prøverne skal ekvilibreres til stuetemperatur (15-25 °C), før kørslen startes.

Interfererende stoffer

Plasmaprøver med høje koncentrationer af gammaglobulin (>30 g/l) kan medføre reduceret restitution af cirkulerende cellefrit DNA.

Symboler

Følgende symboler vises muligvis i brugsanvisningen eller på emballagen og etiketten:

Symbol	Symboldefinition
	Indeholder tilstrækkeligt med reagenser til <N>-reaktioner
	Holdbarhedsdato
	Dette produkt opfylder kravene i EU-direktivet 2017/746 for medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik.
	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialenummer (dvs. etiketten på komponenten)
	Komponenter
	Indeholder
	Antal
	Globalt handelsvarenummer
Rn	R står for revision af brugsanvisningen, og n står for revisionsnummeret
	Temperaturbegrænsning
	Producent
	Læs brugsanvisningen
	Advarsel/forsigtig
	Proteinase K
	Brøndnummer (dvs. brønd i reagenspatron)
	Reagenspatron
	Natriumazid
	Ethanol
	Entydig instrumentidentifikator

Revisionshistorik

Revision	Beskrivelse
R1, juni 2022	Version 2, Revision 1 <ul style="list-style-type: none">Der er foretaget opdatering til version 2 for at overholde kravene i IVDROrdlyden for prøvehåndtering: er opdateret til at tage hensyn til ISO 20186-3:2019 (E) Molekylære in vitro-diagnostiske undersøgelser – Specifikationer for præanalytiske processer ved undersøgelse af venøst fuldblod – Del 3: Isoleret cirkulerende cellefri DNA fra plasma
R2, januar 2023	Version 2, revision 2 <ul style="list-style-type: none">Der er foretaget opdatering vedrørende tilføjelse af BioScript til 1 ml prøvevolumen (circDNA 1000 DSP)Der er foretaget opdatering af version 3 for circDNA_2000 og circDNA_4000

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

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når de ikke er specifikt markeret som sådan.

01/2023 HB-3034-S01-002© 2022 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.