

Luokka	Työohjeet
Versio/pvm	2.0 / 10.4.2018 (Lisätty mahdollisuus käyttää PaxGene Blood ccfDNA ja EDTA -putkia ja Liite 1: Nestebiopsianäytteen ottaminen EDTA-putkeen.) 3.0 / 9.5.2018 (Tarkennettu kpl 3.0 Plasman erottamisen sentrifugointia. Lisätty vaihtoehtoinen sentrifugointiprotokolla.)
Laatijat	Anne-Mari Moilanen, FINBB
Tarkastajat	Johanna Arola, FINBB; Tom Southerington, FINBB; Liisa Jaatinen, FINBB
Vastuuhenkilö	Anne-Mari Moilanen, FINBB, anne-mari.moilanen@finbb.fi, p. +358 44 975 5244
Jakelu	Syöpänäytekeräyskampanjaan osallistuvat biopankit klinikat

## Nestebiopsianäytteen (ctDNA) ottaminen ja käsittely – Syöpänäytekeräyskampanja

Syöpänäytekeräyskampanjan tavoitteena on kerätä kaikista uusista syöpäpotilaista biopankkinäytteenä nestebiopsiat (liquid biopsy) ennen leikkausta. Nestebiopsialla tarkoitetaan potilaan verinäytteistä tehtäviä syövän ominaisuuksia kuvaavia molekyylipatologisia merkkiainetutkimuksia. Nestebiopsioissa on tärkeää, että tutkittava näytemateriaali on edustava ja oikea tulos saadaan tarpeeksi syöpäsoluja sisältävästä näytteestä. Sosiaali- ja terveystieteiden ministeriö tukee taloudellisesti syöpänäytekeräyshanketta.

### 1. YLEISET KÄYTÄNNÖT

- I. Jos nestebiopsianäytteenotto ei kuulu rutiinidiagnostiikkaan, otetaan näyte vain niiltä potilailta, jotka ovat antaneet biopankkisuostumuksen. Biopankkisuostumuksen olemassaolo on tarkistettava ennen näytteenottoa.
- II. Jos näytettä ei oteta rutiinidiagnostisen verinäytteenoton yhteydessä samalla pistolla, potilaalta tulee ensin tiedustella, haluaako hän antaa ylimääräisen verinäytteen osana kampanjaa, jossa pyritään kehittämään syöpädiagnostiikkaa. Potilaalle tulee kertoa, että näyte talletetaan biopankkiin hänen aiemmin antamansa biopankkisuostumuksen mukaisesti. Myös rutiinidiagnostisen näytteenoton yhteydessä on kohteliasta informoida potilasta, jos näyte otetaan myös biopankkiin. Mikäli potilas ei halua antaa näytettä biopankkiin, biopankkinäytettä ei oteta.

## 2. VERINÄYTTEEN OTTAMINEN

Näyteputkena käytetään ensisijaisesti Streck cell-free DNA BCT® (cfDNA BCT) -putkea (10 ml). Myös Paxgene Blood ccfDNA -putki (10ml) on käyttökelpoinen (Ohje PAXgene Blood ccfDNA Tube, PreAnalytix). Lisäksi nestebiopsianäytteen ottaminen EDTA-putkeen (10ml) on mahdollista tietyin erityisehdoin (Liite 1.).

**Tässä kappaleessa esitetty verinäytteen otto koskee ainostaan Streck cfDNA BCT-putken käyttöä. Pehdy tarkoin myös valmistajan käyttöohjeeseen erityisesti silloin, kun käytät toista ohjeessa mainittua putkea.**

Verinäyte otetaan Streck cfDNA BCT-putkeen laskimopistoksena. Näyteputket sisältävät kemiallisia lisäaineita, joten takaisinvirtausta putkesta verenkiertoon on estettävä.

Takaisinvirtaus estetään seuraavilla varotoimilla:

- Pidetään potilaan käsivarsi ala-asennossa näytteen ottamisen aikana.
- Pidetään tulpallista putkea pystysuorassa niin, että putken sisältö ei koske tulpaa tai neulan kärkeä näytteen ottamisen aikana.
- Irrotetaan kiristysside heti, kun veri alkaa virrata putkeen, tai viimeistään kahden minuutin kuluttua sen kiristämisestä.

Noudatetaan asianmukaista näytteenottojärjestystä.

- Streck cfDNA BCT –putki täytetään EDTA-putken jälkeen ja ennen fluoridioksalaattiputkea (Glykolyysin inhibiittoriputki).
- Jos Streck cfDNA BCT-putki täytetään heti hepariiniputken jälkeen, suositellaan lisäaineettoman tai EDTA-putken täyttämistä jäteputkena ennen Streck cfDNA BCT -putken täyttämistä.

Streck cfDNA BCT -putki (10 ml) täytetään kokonaan.

Putki poistetaan sovittimesta ja sekoitetaan heti kääntelemällä varoen ylösalaisin 8–10 kertaa. Riittämätön tai viivästynyt sekoitus saattaa aiheuttaa virheellisiä analyysituloksia tai tuotteen heikentynyttä suorituskykyä. Putken voimakas ravistelu tai vatkaaminen saattavat tuhota näytteen.

Näytteenoton jälkeen putkia kuljetetaan ja säilytetään suositelluissa lämpötilaväleissä (6–37 °C). Jäätyminen tuhoaa näytteen.

**HUOM! Putkia EI saa laittaa missään vaiheessa jäälle tai +4 °C:seen.**

## 3. PLASMAN EROTTAMINEN

Plasma erotetaan mielellään 36 h kuluessa näytteenotosta. Putken valmistaja (Streck) lupaa kuitenkin, että ctDNA pysyy vakaana jopa 14 vuorokautta näytteenottamisen jälkeen, joten 36 h pidemmätkin viiveajat ovat mahdollisia.

- Plasman erottamiseksi kokoveri sentrifugoidaan **huoneenlämpötilassa** protokollaa 1 tai 2 käyttäen.

**Protokolla 1.** Kokoveri sentrifugoidaan 300 x g 20 minuutin ajan. Ylempi plasmakerron siirretään uuteen kartioputkeen (esim. 15ml Falcon-putki). Tämän jälkeen plasma sentrifugoidaan 5 000 x g 10 minuutin ajan. Plasmakerros kerätään pakastusta kestävään putkeen. Tavoitteena on saada erotettua plasmaa 3 ml–5 ml.

**Protokolla 2.** Kokoveri sentrifugoidaan 1 600 x g 10 minuutin ajan. Ylempi plasmakerron siirretään uuteen kartioputkeen (esim. 15ml Falcon-putki). Tämän jälkeen plasma sentrifugoidaan 16 000 x g 10 minuutin ajan. Plasmakerros kerätään pakastusta kestävään putkeen. Tavoitteena on saada erotettua plasmaa 3 ml–5 ml.

- Plasmat jäädytetään pitkäaikaiseen säilytykseen -80 °C lämpötilaan.

## LIITE 1.

### NESTEBIOPSIANÄYTTEEN OTTAMINEN EDTA-putkeen

Jos näytteenottolaboratorio ottaa näytteen EDTA-putkeen (10ml) on huomioitava seuraavat yksityiskohdat.

Verinäyte otetaan laskimopistoksena yleisten näytteenotto-ohjeiden mukaisesti.

- EDTA-putki (10 ml) täytetään kokonaan.
- **Näytteenoton jälkeen putket voidaan kuljettaa ja säilyttää huoneenlämpötilassa enintään 2 h.**

## 4. PLASMAN EROTTAMINEN

Plasma erotetaan **2 h** kuluessa näytteenotosta ja putkia voi säilyttää huoneenlämpötilassa sentrifugointiin asti.

- Plasman erottamiseksi kokoveri sentrifugoidaan 1900 x g 20 minuutin ajan huoneenlämpötilassa.
- **Koko plasmakerros kerätään pakastusta kestävään putkeen.**  
Tavoitteena on saada erotettua plasmaa 3 ml–5 ml.
- Plasmat jäädytetään välittömästi pitkäaikaiseen säilytykseen vähintään -80 °C lämpötilaan.
  
- Mikäli sentrifugointi tehdään muualla, eikä plasmaa saada nopeasti biopankin säilytykseen, plasmat pakastetaan välittömästi sentrifugoinnin jälkeen ja ne lähetetään biopankkiin jäisinä kuivajäitä käyttäen.