

Instruks for håndtering af standardsæt blod med tillæg af 1 PAXgene rør Regionernes Bio- og GenomBank

Introduktion

Denne instruks beskriver arbejdsgangen i forbindelse med indsamling og håndtering af blod til opbevaring i Regionernes Bio- og GenomBank (RBGB). Hvis blodprøverne skal transporteres i længere tid inden håndtering, kan der evt. bruges serum-gel rør i stedet for tørglas til serum. Blodprøvepakken rekvireres af den relevante lokale kliniske afdeling via de lokale prøvebestillingsaftaler. Blodprøvetagning i PAXgene rør kan være et projektønske. Denne instruks inkluderer en beskrivelse af prøvetagning og håndtering af et standardsæt med tillæg af 1 PAXgene rør.

Dansk CancerBiobank indsamler korresponderende blod- og vævsprøver fra patienter med kræftsygdom. Korresponderende blodprøver tages indenfor maks. 14 dage før operation/behandlingsstart. I tilfælde af længere tidsinterval mellem blod- og vævsprøve anbefales fornyet blodprøvetagning. Evt. forløbsblodprøver tages løbende i forbindelse med den onkologiske behandling eller som defineret i de konkrete projektprotokoller.

I *Dansk ReumaBiobank* indsamles blodprøver fra reumatologiske patienter én eller flere gange i et udrednings/behandlingsforløb. Der kan typisk tages blodprøver i forbindelse med start af ny behandling, behandlingsskift/-stop og ved bivirkninger, eller der tages forløbsprøver som defineret i de konkrete projektprotokoller.

Procedure

(figur 1/tabel 1)

Blodprøvetagning

1. Dato og klokkeslæt for prøvetagning noteres.
2. Veneblod tappes i passende rør (se figur 1):
 - **1×9/10ml-EDTA rør (eller andre rør passende for proceduren)**
 - **2×9/10ml tørglas eller serum-gel rør (eller andre rør passende for proceduren)**
 - **1×PAXgene RNA rør** tappes altid som det sidste (anbefaling fra producenten).
3. Stasebåndet udløses, så snart blodet begynder at løbe i PAXgene røret.
EDTA-røret og PAXgene røret vendes godt 8-10 gange lige efter blodprøvetagning.
4. Blodprøverne transporteres til laboratoriet ved stuetemperatur.

Håndtering i laboratoriet

Blodprøver som modtages udenfor normal arbejdstid, og derfor ikke kan håndteres indenfor den anbefalede tid (3 timer), opbevares ved 4°C, indtil håndtering kan påbegyndes. PAXgene rør opbevares ved stuetemperatur (18-25°C) i mindst 2 timer og højst 72 timer før behandling eller overførsel til køleskab (2-8°C) eller fryser (-20°C) (figur 1/tabel 1).

I forbindelse med håndtering af prøverne noteres dato og klokkeslæt for modtagelse i laboratoriet, håndteringsstart, centrifugering (evt.) samt nedfrysning, og oplysningerne indtastes i modulet. Hvis ikke der er materiale nok til at fylde alle mikrorørene, kan et rør udgå. Alternativt fordeles materialet ligeligt mellem rørene.

EDTA rør:

1. 1,5 ml fuldblod overføres med engangspipette til **1 mikrorør mrk. fuldblod-EDTA**.
2. Centrifuger EDTA-røret ved 4°C (anbefales) eller stuetemperatur, 2000×g* i 10 min.
3. Afpipetter plasma indtil 0,5 cm over cellelaget og fordel i **2 mikrorør mrk. plasma-EDTA**.
4. Afpipetter buffy coat i et mikrorør (nederste del af plasma, hvide mellemlag og øverste del af erythrocytter) overføres til **1 mikrorør mrk. buffycoat-EDTA**.

*g-værdien = $0,00001118 * r * RPM^2$, eksempelvis vil 4500 RPM ved rotorradius 9 cm svare til 2038×g.

Tørglas (serum-gel rør) til serum:

5. Lad serumrørene koagulere i min. 30 min (maks. 2 timer) ved stuetemperatur. Hvis producenten anbefaler >30 min. koagulation, følges dette.
6. Centrifuger serumrørene ved 4°C (anbefales) eller stuetemperatur 2000×g i 10 min.
7. Afpipetter serum indtil 0,5 cm over cellelaget og overfør til **4 mikrorør mrk. serum**.

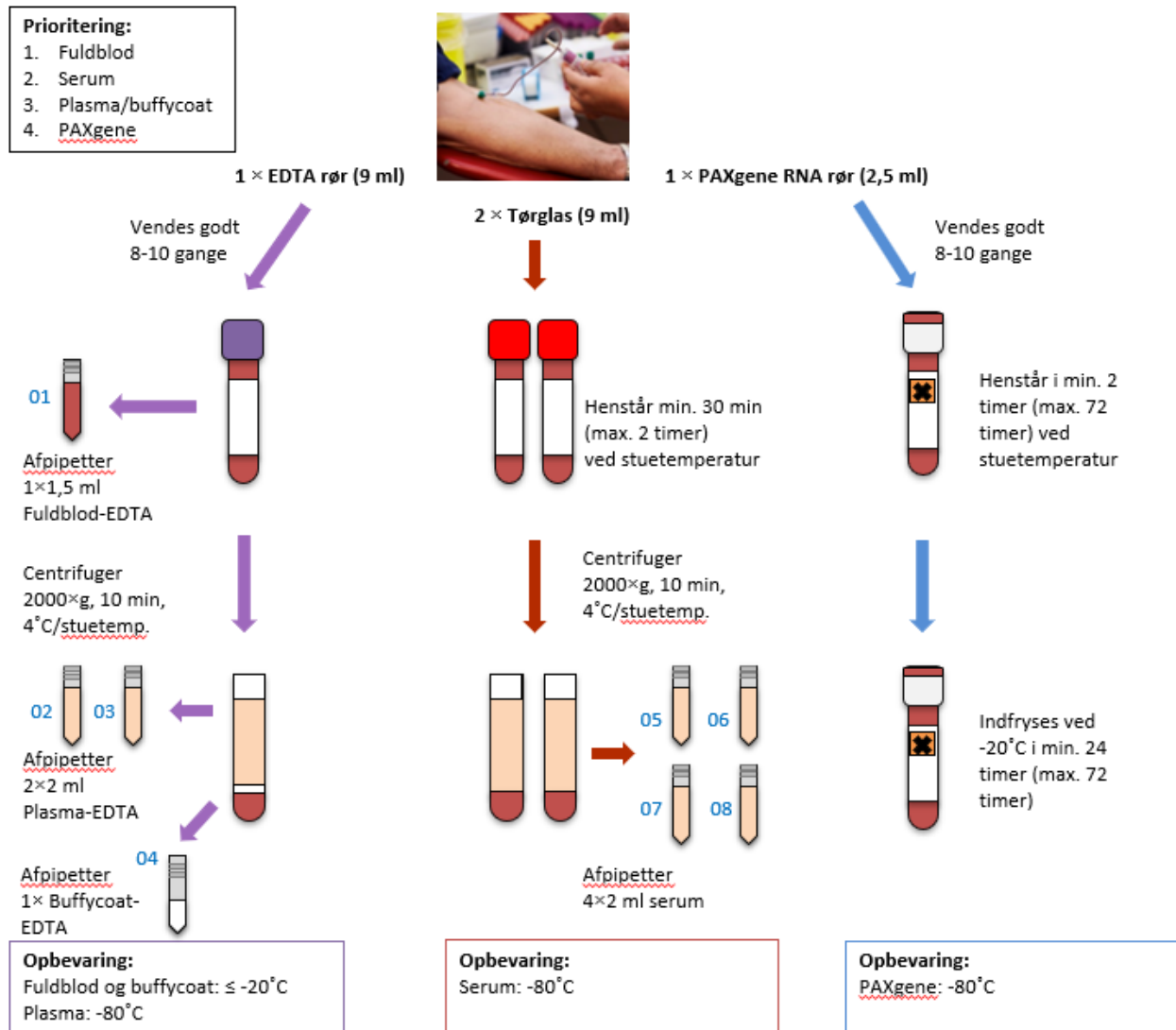
PAXgene rør:

8. PAXgene RNA røret henstår ved stuetemperatur i min. 2 timer (maks. 72 timer).
9. Indfryses ved -20°C i mindst 24-72 timer, hvorefter de overføres til -80°C.

Hvis de to timers inkubation ved stuetemperatur ("Håndtering i laboratoriet") ikke er foretaget før indfrysning, skal PAXgene røret inkuberes i minimum 2 timer efter opnåelse af stuetemperatur, inden videre behandling.

Opbevaring:

10. Håndteringen resulterer optimalt i 8 fraktioner (standardpakke) og evt. 1 PAXgene rør (projektønske). Efter endt håndtering sættes fraktionerne hurtigst muligt i fryseren og opbevares ved følgende temperaturer:
 - Fuldblod-EDTA og Buffycoat-EDTA: -20°C eller -80°C
 - Plasma-EDTA: -80°C
 - Serum: -80°C
 - PAXgene: -80°C



Figur 1. Instruks for håndtering af blod med tillæg af 1 PAXgene rør. Eksempel vist med 9 ml primærrør. Ved begrænset kapacitet/materiale er prioriteringsrækkefølgen: fuldblod, serum, plasma/buffy coat, PAXgene. Ved begrænset mængde serum eller EDTA-plasma udgår fraktionsrør. Alternativt fordeles materialet ligeligt i fraktionsrørene.

Prøvetagningsrør	Håndtering	Fraktioner til opbevaring	Slutopbevaring (temperatur)
1 × EDTA rør 9/10 ml eller andet for proceduren passende rør	<ul style="list-style-type: none"> Vendes godt 8-10 gange Afpipettering af 1×1,5 ml velblandet fuldblod Centrifugering: 2000×g, 10 min, 4°C/stuetemp. Afpipettering af 2×2 ml Plasma Afpipettering af buffy coat 	→ 1×1,5 ml Fuldblod-EDTA → 2×2 ml Plasma-EDTA → 1x Buffycoat-EDTA	-20°C eller -80°C -80°C -20°C eller -80°C
2 × tørglas eller serum-gel 2×9/10 ml eller andet for proceduren passende rør	<ul style="list-style-type: none"> Koagulation ≥ 30 min (max 2 timer) ved stuetemperatur Centrifugering: 2000×g, 10 min, 4°C/stuetemp. Afpipettering af 4×2 ml serum 	→ 4×2 ml serum	-80°C
1 × PAXgene RNA rør (2,5 ml)	<ul style="list-style-type: none"> Vendes godt 8-10 gange Henstår ved stuetemperatur i min. 2 timer (maks. 72 timer) Indfryses ved -20°C i mindst 24 timer. 	Ingen fraktionering	-80°C

Tabel 1. Håndtering af blod til RBGB. Ved begrænset kapacitet/materiale er prioriteringsrækkefølgen: fuldblod, serum, plasma/buffy coat, PAXgene. Ved begrænset mængde serum eller EDTA-plasma udgår fraktionsrør. Alternativt fordeles materialet ligeligt i fraktionsrørene.

Etiketter

Ved indregistrering af blodfraktionerne printes etiketter, som påsættes de respektive fraktionsrør. Se eksempel i figur 2.



Figur 2. Eksempel på etiketter til fraktionsrør.

Anbefalinger til laboratoriet

- Det anbefales at bruge handsker ved håndtering af prøver i laboratoriet.
- Vi henviser til RBGB's utensilieliste "Oversigt over utensilier og reagenser" vedrørende indkøb af utensilier og reagenser.
- Laboratoriets gængse EDTA- og tørglas/serum-gel rør anvendes og behandles som laboratoriets øvrige blodprøver. Som standard anbefales tørglas til serum. Ved længere transport før håndtering kan serum-gel rør anvendes som alternativ; serum-gel rør centrifugeres da før transport.
- Efter modtagelse i laboratoriet opbevares blodprøver optimalt ved 4°C indtil de præpareres.
- Det anbefales, at man tilstræber en maksimal håndteringstid på 3 timer regnet fra blodprøvetagning til indfrysning. Blodprøver der modtages uden for normal arbejdstid bør stå på køl til næste dag.
- Mikrorør til opbevaring af blodfraktioner bør være forsynet med tætsluttende skruelåg med gummi O-ring. Det anbefales at anvende mikrorør og skruelåg, der er certificeret fri for DNase, RNase og humant DNA.
- Frysere tilkobles alarm for temperaturstigning og der udarbejdes en instruks for aktion ved driftsstop. Det anbefales endvidere at udarbejde instruks for manuel overvågning af frysere, samt at tilslutte frysere et system for enten temperaturlogging (hvor den absolutte temperatur henover døgnnet fremgår) eller et system, hvor evt. afvigelser udover de fastsatte grænseværdier kan ses.
- Fyldte vanddunke placeret i en halvtom fryser kan forsinke optøningen af prøver i tilfælde af driftsstop
- En tom -80°C reservefryser skal være til rådighed til brug ved driftsstop. Det anbefales at reservefryseren er afkølet.

Oplysninger om Regionernes Bio- og GenomBank (RBGB) kan fås ved henvendelse til:

Sekretariatet for Regionernes Bio- og GenomBank, Afdeling for Patologi, Herlev Hospital, Borgmester Ib Juuls Vej 73, Opgang 7, 4. etage, L5, 2730 Herlev. Tlf. (+45): 3868 9132/3868 9812. E-mail: RBGB.sekretariat.herlev-og-gentofte-hospital@regionh.dk