

INSTRUCTIONS FOR USE

Cell-Free DNA BCT[®] CE is a direct draw whole blood collection tube intended for collection, transport and storage of blood samples. **This product is FOR EXPORT ONLY, not to be sold in the United States.**

SUMMARY AND PRINCIPLES

Cell-Free DNA BCT CE stabilizes cell-free plasma DNA as well as preserves cellular genomic DNA present in nucleated blood cells and circulating epithelial cells (tumor cells) found in whole blood.

Accurate analysis of cf-DNA can be compromised by sample handling, shipping and processing, causing lysis of nucleated blood cells and subsequent release of cellular genomic DNA. Additionally, degradation of cf-DNA due to nuclease activity can be problematic.

The preservative reagent contained in Cell-Free DNA BCT CE stabilizes nucleated blood cells, preventing the release of cellular genomic DNA, and inhibits nuclease mediated degradation of cf-DNA, contributing to the overall stabilization of cf-DNA. Samples collected in Cell-Free DNA BCT CE are stable for up to 14 days at temperatures between 6 °C to 37 °C, allowing convenient sample collection, transport and storage.

The preservative reagent contained in Cell-Free DNA BCT CE stabilizes circulating epithelial cells (tumor cells) in whole blood for up to 7 days at temperatures between 15 °C to 30 °C.

REAGENTS

Cell-Free DNA BCT CE contains the anticoagulant K₂EDTA and a cell preservative in a liquid medium.

PRECAUTIONS

- For In Vitro Diagnostic Use.
- Do not freeze specimens collected in glass Cell-Free DNA BCT CE. (Streck part numbers: 218996, 218997, 230244, 230250, 230251)
- Do not use tubes after expiration date.
- Do not use tubes for collection of materials to be injected into patients.
- Product is intended for use as supplied. Do not dilute or add other components to Cell-Free DNA BCT CE.
- Overfilling or underfilling of tubes will result in an incorrect blood-to-additive ratio and may lead to incorrect analytic results or poor product performance.

CAUTION

- Glass has the potential for breakage; precautionary measures should be taken during handling of glass tubes (Streck part numbers: 218996, 218997, 230244, 230250, 230251).
 - All biological specimens and materials coming in contact with them are considered biohazards and should be treated as if capable of transmitting infection. Dispose of in accordance with federal, state and local regulations. Avoid contact with skin and mucous membranes.
 - Product should be disposed with infectious medical waste.
 - Remove stopper by either gently rocking the stopper from side to side or by grasping with a simultaneous twisting and pulling action. A "thumb roll" procedure for stopper removal is not recommended, as tube breakage and injury may result. Reinsert stopper by gently pushing stopper onto tube with a simultaneous twisting action.
 - A pediatric tube adapter is strongly recommended to better fit the 10.25mm diameter 2.0ml Cell-Free DNA BCT CE.
- SDS can be obtained at www.streck.com or by calling 800-843-0912.

STORAGE AND STABILITY

- When stored at 2 °C to 30 °C, empty Cell-Free DNA BCT CE is stable through expiration date.
- Short-term storage at 2 °C to 40 °C is acceptable for empty Cell-Free DNA BCT CE for up to 14 days.
- Do not freeze empty Cell-Free DNA BCT CE. Proper insulation may be required for shipment during extreme temperature conditions.
- Sample storage/stability:

	Sample Type		
	Cell-Free DNA	Cellular Genomic DNA	Epithelial Cells (Tumor Cells)
Sample Stability	14 days	14 days	7 days
Sample Storage Temperature	6 °C to 37 °C	6 °C to 37 °C	15 °C to 30 °C

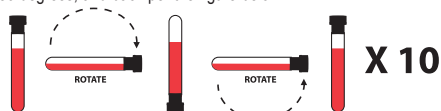
INDICATIONS OF PRODUCT DETERIORATION

- Cloudiness or precipitate visible in reagent of empty tube.
- If indications of product deterioration occur, contact Streck Technical Services at 402-691-7510 or technicalservices@streck.com.

INSTRUCTIONS FOR USE

For a video demonstration, visit www.streck.com/mixing.

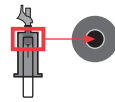
- Collect specimen by venipuncture according to CLSI GP41-A6¹.
Prevention of Backflow - Since Cell-Free DNA BCT CE contains chemical additives, it is important to avoid possible backflow from the tube.
 To guard against backflow, observe the following precautions:
 - Keep patient's arm in the downward position during the collection procedure.
 - Hold the tube with the stopper in the uppermost position so that the tube contents do not touch the stopper or the end of the needle during sample collection.
 - Release tourniquet once blood starts to flow in the tube, or within 2 minutes of application.
- Follow recommendations for order of draw outlined in CLSI GP41-A6¹. Cell-Free DNA BCT CE should be drawn after the EDTA tube and before the fluoride oxalate (glycolytic inhibitor) tube. If a Cell-Free DNA BCT CE tube immediately follows a heparin tube in the draw order, Streck recommends collecting a non-additive or EDTA tube as a waste tube prior to collection in the Cell-Free DNA BCT CE.
- Fill tube completely.
- Remove tube from adapter and immediately mix by gentle inversion 8 to 10 times. Inadequate or delayed mixing may result in incorrect analytical results or poor product performance. One inversion is a complete turn of the wrist, 180 degrees, and back per the figure below:



- After collection, transport and store tubes within the recommended temperature range.

Note:

- For best results, a 21G or 22G needle is advised. Slower fill times may be observed when using a smaller gauge needle.
- When using a winged (butterfly) collection set for venipuncture and the Streck Cell-Free DNA BCT CE is the first tube drawn, a non-additive or EDTA discard tube should be partially drawn first in order to eliminate air or "dead space" from the tubing.
- For the 2.0ml Cell-Free DNA BCT CE, care must be taken to center the tube so the middle of the stopper is punctured per the figure below. To aid with proper insertion of the tube in standard holders and stabilize the tube during the draw, a pediatric tube adapter is strongly recommended to modify the standard holder to fit the 10.25mm diameter 2.0ml Cell-Free DNA BCT CE (Streck part number: 230250, 230251).



Correctly punctured stopper

- Cell-Free DNA BCT CE does not dilute blood samples; therefore, no dilution factor correction is necessary.
- As in the case with most clinical laboratory specimens, hemolysis, icterus and lipemia may affect the results obtained on blood samples preserved with Cell-Free DNA BCT CE.

DNA EXTRACTION

Extraction of cell-free plasma DNA and cellular genomic DNA can be accomplished using most commercially available kits that include a Proteinase K treatment step.

Cell-Free Plasma DNA

Streck has qualified two separate plasma separation spin protocols for your convenience.

Double Spin Protocol 1

- To separate plasma, centrifuge whole blood at 300 x g for 20 minutes at room temperature.
- Remove the upper plasma layer and transfer to a new conical tube (not provided).
- Centrifuge the plasma at 5000 x g for 10 minutes.
- Isolate cell-free DNA per kit manufacturer instructions.

Double Spin Protocol 2 (for maximum plasma recovery)

- To separate plasma, centrifuge whole blood at 1600 x g for 10 minutes at room temperature.
- Remove the upper plasma layer and transfer to a new conical tube (not provided).
- Centrifuge the plasma at 16000 x g for 10 minutes.
- Isolate cell-free DNA per kit manufacturer instructions.

For optimal results for all of the above protocols, include a Proteinase K treatment step (≥ 30 mAU/mL digest) at 60 °C in the presence of chaotropic salts for 1 hour when extracting cell-free DNA.

Cellular Genomic DNA

- To separate the white blood cells, either lyse the red blood cells and wash, or centrifuge whole blood and collect the buffy coat layer.
- Isolate genomic DNA per kit manufacturer instructions.

For optimal results, include a Proteinase K treatment step (≥ 30 mAU/ml digest) at 60 °C in the presence of chaotropic salts for 2 hours when extracting cellular genomic DNA.

FREEZING AND THAWING

PLASMA

- To Freeze: For long-term storage, after spinning, collect and transfer the upper plasma layer to a cryogenic tube (not provided) and freeze at -20 °C or -80 °C.
- To Thaw: Thaw cryogenic tubes at appropriate temperature as specified in your protocol.
Note: If cryoprecipitates form in the plasma, vortex the tube for 30 seconds after thawing. Do not centrifuge the plasma.

CONCENTRATED CELLULAR COMPLEMENT

After spinning and the upper plasma layer is collected and transferred to a cryogenic tube, the remaining cellular material in the plastic Cell-Free DNA BCT CE (Streck part numbers: 230255, 230256, 230257) may be frozen for future use.

- To Freeze: For long-term storage, freeze the remaining cellular material vertically directly in the plastic Cell-Free DNA BCT CE at -20 °C or -80 °C.
- To Thaw: Thaw tubes at appropriate temperature as specified in your protocol.
Note: A plastic Cell-Free DNA BCT CE, which has been completely filled with whole blood, should not be frozen; breakage may occur.

LIMITATIONS

- For single use only.
- Samples drawn in other anticoagulants or preservatives may cause coagulation in Cell-Free DNA BCT CE.
- Specimen transport via pneumatic tube system is not advised.

REFERENCES

- Clinical and Laboratory Standards Institute. GP41-A6, Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Approved Standard - Sixth Edition.

ORDERING INFORMATION

Please call our Customer Service Department at 800-228-6090 for assistance. Additional information can be found online at www.streck.com.

GLOSSARY OF SYMBOLS

See the Instructions (IFU) tab under Resources on the product page at www.streck.com.

Canada Patent 2,690,651; Europe Patent EP2228453; Other Patents Pending
 See www.streck.com/patents for patents that may be applicable to this product.

GEBRAUCHSANLEITUNG

German (Deutsch)

Cell-Free DNA BCT[®] CE ist ein Röhrchen zur direkten Entnahme von Vollblut. Es dient der Entnahme, der Stabilisierung, dem Transport und der Lagerung von Blutproben. **Dieses Produkt ist NUR FÜR DEN EXPORT bestimmt und wird in den USA nicht zum Verkauf angeboten.**

ZUSAMMENFASSUNG UND GRUNDLAGEN

Das Cell-Free DNA BCT CE stabilisiert und konserviert zellfreie Plasma DNA sowie Zellgenom-DNA in kernhaltigen Blutkörperchen und zirkulierenden Epithelzellen (Tumorzellen) im Vollblut.

Die präzise Analyse von cf-DNA kann durch die Handhabung, den Transport und die Verarbeitung einer Probe beeinträchtigt werden, weil es dabei zur Lyse kernhaltiger Blutkörperchen und infolgedessen zur Freisetzung von DNA aus dem Zellgenom kommen kann. Auch die Zersetzung von cf-DNA durch Nuklease-Aktivität kann zum Problem werden.

Das konservierende Reagens in Cell-Free DNA BCT CE stabilisiert kernhaltige Blutkörperchen und verhindert damit die Freisetzung von DNA aus dem Genom von Zellen. Gleichzeitig hemmt es die Nuklease-vermittelte Zersetzung von cf-DNA und trägt so zur Stabilisierung von cf-DNA insgesamt bei. In Cell-Free DNA BCT CE entnommene Proben sind bei Temperaturen von 6 bis 37 °C bis zu 14 Tage lang stabil – für eine bequeme Entnahme, Beförderung und Lagerung der Probe.

Das konservierende Reagens in Cell-Free DNA BCT CE stabilisiert zirkulierende Epithelzellen (Tumorzellen) in Vollblut bis zu 7 Tage lang bei einer Temperatur von 15 bis 30 °C.

REAGENZEN

Cell-Free DNA BCT CE enthält das Antikoagulans K₂EDTA und einen Zellkonservierungstoff in einem Flüssigmedium.

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Für den diagnostischen In-vitro-Gebrauch.
- Entnommene Proben nicht in einem Cell-Free DNA BCT CE aus Glas einfrieren. (Streck Teilenummern: 218996, 218997, 230244, 230250, 230251)
- Die Röhrchen nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.
- Die Röhrchen nicht als Behälter für Stoffe verwenden, die Patienten eingespritzt werden sollen.
- Das Produkt ist nur für den bestimmungsgemäßen Gebrauch vorgesehen. Cell-Free DNA BCT CE nicht verdünnen oder andere Komponenten hinzufügen.
- Durch eine zu große oder zu kleine Füllmenge wird das Verhältnis von Blut zu Zusatzstoff verfälscht, was zu falschen Analyseergebnissen oder mangelhafter Produktfunktion führen kann.

VORSICHT

- Glas kann brechen. Deshalb sind bei der Handhabung entsprechende Vorsichtsmaßnahmen zu ergreifen (Streck Teilenummern: 218996, 218997, 230244, 230250, 230251).
 - Alle biologischen Proben und sämtliche Materialien, die mit diesen in Berührung kommen, werden als biologische Gefahren betrachtet und sind als mögliche Infektionsquelle zu behandeln. Bei der Entsorgung sind die einschlägigen Vorschriften auf Bundes-, Landes- und Kommunalebene einzuhalten. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
 - Das Produkt mit infektiösem medizinischen Abfall entsorgen.
 - Den Stopfen zum Entfernen festhalten und durch vorsichtiges Hin- und Herdrücken bei gleichzeitigem Drehen und Ziehen entfernen. Die Daumendruckmethode zum Entfernen des Stöpsels ist NICHT zu empfehlen, weil dadurch das Röhrchen brechen und Verletzungen verursacht werden könnten. Den Stopfen zum Wiederaufsetzen mit einer Drehbewegung sanft in das Röhrchen drücken.
 - Ein pädiatrischer Röhrchenadapter wird ausdrücklich empfohlen, damit der 2,0ml Cell-Free DNA BCT CE mit einem Durchmesser von 10,25 mm optimal passt.
7. Das Sicherheitsdatenblatt ist bei www.streck.com oder durch Anruf unter +1 402-691-7510 erhältlich.

LAGERUNG UND STABILITÄT

- Wenn leeres Cell-Free DNA BCT CE Röhrchen bei Temperaturen zwischen 2 °C bis 30 °C gelagert wird, bleibt es bis zum Verfallsdatum stabil.
- Die kurzfristige Lagerung bei 2 °C bis 40 °C ist für ein leeres Cell-Free DNA BCT CE Röhrchen bis zu 14 Tage lang möglich.
- Leere Cell-Free DNA BCT CE Röhrchen nicht einfrieren. Zum Transport bei Extremtemperaturen ist unter Umständen eine geeignete Isolierung erforderlich.
- Probenlagerung und -stabilität:

	Probenotyp		
	Zellfreie DNA	Zellgenom-DNA	Epithelzellen (Tumorzellen)
Probenstabilität	14 Tage	14 Tage	7 Tage
Probenlagerungstemperatur	6 °C bis 37 °C	6 °C bis 37 °C	15 °C bis 30 °C

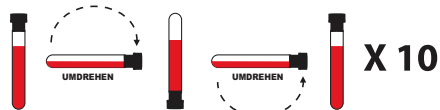
ANZEICHEN EINER QUALITÄTSVERSCHLECHTERUNG

- Trübung oder sichtbare Ausfällung im Reagens des nicht gebrauchten Röhrchens.
- Wenn Anzeichen einer Qualitätsverschlechterung des Produkts bestehen, wenden Sie sich unter +1 402-691-7510 oder technicalservices@streck.com an den technischen Kundendienst von Streck.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Eine Video-Vorführung ist unter www.streck.com/mixing verfügbar.

- Proben per Venenpunktion gemäß CLSI GP41-A6¹ entnehmen.
Verhindern von Rückstrom – Cell-Free DNA BCT CE enthält chemische Zusatzstoffe. Deshalb muss ein möglicher Rückstrom aus dem Röhrchen vermieden werden.
Um Rückstrom zu verhindern, sind die folgenden Vorsichtshinweise zu beachten:
 - Während der Blutabnahme muss der Arm des Patienten nach unten zeigen.
 - Das Röhrchen mit dem Stöpsel nach oben halten, sodass der Inhalt des Röhrchens bei der Blutabnahme nicht mit dem Stöpsel oder mit der Nadelspitze in Berührung kommt.
 - Stauschlauch lösen, wenn das Blut ins Röhrchen zu strömen beginnt, maximal 2 Minuten nach dem Anlegen.
- Bitte die Empfehlungen hinsichtlich der Reihenfolge der Entnahme in CLSI GP41-A6¹ befolgen. Das Cell-Free DNA BCT CE sollte nach dem EDTA-Röhrchen und vor dem Röhrchen mit dem Fluorid-Oxalat (Glykolysehemmer) entnommen werden. Wenn ein Cell-Free DNA BCT CE Röhrchen in der Entnahmereihenfolge sofort auf ein Heparin-Röhrchen folgt, dann empfiehlt Streck, vor der Entnahme in das Cell-Free DNA BCT CE Röhrchen zuerst in ein nicht additives oder EDTA-Röhrchen als Abfallröhrchen zu entnehmen.
- Das Röhrchen vollständig füllen.
- Das Röhrchen vom Adapter trennen und sofort durch vorsichtiges 8- bis 10-maliges Umdrehen mischen. Inadaquates oder verzögertes Mischen kann zu falschen Analyseergebnissen bzw. schlechter Produktleistung führen. Eine Umdrehung ist eine vollständige Drehung des Handgelenks um 180 Grad und zurück, wie in der Abbildung unten gezeigt:

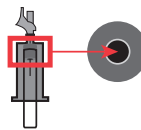


- Bei Transport und Lagerung der Röhrchen nach der Entnahme den empfohlenen Temperaturbereich einhalten.

Hinweis:

- Die besten Ergebnisse werden mit 21G- oder 22G-Nadeln erzielt. Möglicherweise verlangsamen sich die Füllzeiten, wenn eine kleinere Kanülengröße verwendet wird.
- Bei Nutzung eines Butterfly-Nadelsets zur Venenpunktion und wenn das Streck Cell-Free DNA BCT CE das erste Röhrchen ist, das entnommen wird, dann sollte ein nicht additives oder EDTA Discard-Röhrchen zuerst teilweise entnommen werden, um Luft oder „Totraum“ aus dem Schlauch zu eliminieren.
- Beim 2,0ml Cell-Free DNA BCT CE muss das Röhrchen so zentriert werden, dass der Stopfen genau in der Mitte

durchstochen wird, wie im Bild unten gezeigt. Es wird empfohlen, einen pädiatrischen Röhrchenadapter zu verwenden und den standardmäßigen Halter so zu modifizieren, dass er auf das 2,0ml Cell-Free DNA BCT CE mit 10,25 mm Durchmesser passt, wodurch das Röhrchen ordnungsgemäß in den Halter eingesetzt werden kann und dessen Stabilisierung während der Entnahme gewährleistet wird (Streck-Teilenummer: 230250, 230251).



Korrekt durchstochener Stopfen

- Cell-Free DNA BCT CE verdünnt die Blutproben nicht. Deshalb ist keine Verdünnungsfaktor-Korrektur erforderlich.
- Wie auch bei den meisten anderen klinischen Laborproben, können die Ergebnisse der Blutproben, die mit Cell-Free DNA BCT CE konserviert wurden, durch Hämolyse, Ikterus und Lipämie verändert werden.

DNA-EXTRAKTION

Die Extraktion von zellfreier Plasma-DNA und von Zellgenom-DNA kann mit den meisten handelsüblichen Kits erfolgen, die einen Behandlungsschritt mit Proteinase K umfassen.

Zellfreie Plasma-DNA

Streck hat für Sie zwei verschiedene Rotationsverfahren zur Plasmatrennung eingerichtet.

Doppel-Rotationsverfahren 1

- Um das Plasma abzuschneiden, Vollblut bei Zimmertemperatur 20 Minuten lang mit 300 x g zentrifugieren.
- Die obere Plasmaschicht abnehmen und in ein neues konisches Röhrchen (nicht mitgeliefert) umfüllen.
- Das Plasma 10 Minuten lang mit 5000 x g zentrifugieren.
- Die zellfreie DNA gemäß den Anweisungen des Kit-Herstellers isolieren.

Doppel-Rotationsverfahren 2 (für eine maximale Plasmaausbeute)

- Das Vollblut 10 Minuten mit 1600 x g ungekühlt zentrifugieren, um das Plasma abzutrennen.
- Die obere Plasmaschicht abnehmen und in ein neues konisches Röhrchen (nicht mitgeliefert) umfüllen.
- Das Plasma 10 Minuten mit 16000 x g zentrifugieren.
- Die zellfreie DNA gemäß den Anweisungen des Kit-Herstellers isolieren.

Für optimale Resultate bei der Extraktion zellfreier DNA einen einstündigen Behandlungsschritt mit Proteinase K (≥ 30 mAU/mL Digest): bei 60 °C in Gegenwart chaotroper Salze hinzufügen.

Zellgenom-DNA

- Um die Leukozyten zu trennen, entweder die Erythrozyten lysieren und waschen oder Vollblut zentrifugieren und die Leukozytenmanschette entnehmen.
- Die Genom-DNA gemäß den Anweisungen des Kit-Herstellers isolieren.

Für optimale Resultate bei der Extraktion von Zellgenom-DNA einen zweistündigen Behandlungsschritt mit Proteinase K (≥ 30 mAU/mL Digest): bei 60 °C in Gegenwart chaotroper Salze hinzufügen.

EINFRIEREN UND AUFTAUEN

PLASMA

- Zum Einfrieren: Zur langfristigen Lagerung die obere Plasmaschicht nach der Rotation entnehmen, in ein Kryoröhrchen umfüllen und bei -20 °C oder -80 °C einfrieren.
- Zum Auftauen: Kryoröhrchen bei geeigneter Temperatur, wie in Ihrem Protokoll angegeben, auftauen.
Hinweis: Wenn im Plasma Kryopräzipitate entstehen, das Röhrchen nach dem Auftauen für 30 Sekunden im Vortex mischen. Das Plasma nicht zentrifugieren.

KONZENTRIERTES ZELLKOMPLEMENT

Nach dem Rotieren sowie der Entnahme und dem Umfüllen der oberen Plasmaschicht in ein Kryoröhrchen kann das verbleibende Zellmaterial im Cell-Free DNA BCT CE aus Kunststoff (Streck-Teilenummern: 230255, 230256, 230257) für eine spätere Verwendung eingefroren werden.

- Zum Einfrieren: Zur langfristigen Lagerung das verbleibende Zellmaterial in vertikaler Stellung direkt im Cell-Free DNA BCT CE aus Kunststoff bei einer Temperatur von -20 °C oder -80 °C einfrieren.
- Zum Auftauen: Röhrchen bei geeigneter Temperatur, wie in Ihrem Protokoll angegeben, auftauen.
Hinweis: Ein Cell-Free DNA BCT CE aus Kunststoff, das vollständig mit Vollblut gefüllt wurde, sollte nicht eingefroren werden, da es brechen könnte.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Nur zur einmaligen Verwendung.
- Proben, die in andere Antikoagulantien oder Konservierungsmittel entnommen wurden, können in Cell-Free DNA BCT CE koagulieren.
- Der Transport von Proben über eine Rohrpostanlage wird nicht empfohlen.

QUELLENANGABEN

- Clinical and Laboratory Standards Institute. GP41-A6, Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Approved Standard - Sixth Edition.

BESTELLINFORMATIONEN

Unterstützung bietet unsere Kundendienstabteilung unter der US-Rufnummer +1-402-333-1982. Zusätzliche Informationen sind online unter www.streck.com erhältlich.

Kanadisches Patent 2,690,651; Europäisches Patent EP2228453; weitere Patente anhängig.