

# Gebruiksaanwijzing (protocolblad) QIAsymphony<sup>®</sup> DSP DNA Mini Kit

DNA\_Buffy\_Coat\_200\_V7 DSP-protocol

Versie 2

**IVD**

Voor in-vitrodiagnostisch gebruik

Voor gebruik met de QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)

**CE**

**REF**

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Duitsland

R1

Het protocolblad is in elektronische vorm beschikbaar. U kunt deze vinden onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Algemene informatie

De QIASymphony DSP DNA Kit is bedoeld voor gebruik in de in-vitrodiagnostiek.

Dit protocol is bedoeld voor de zuivering van totaal genomisch en mitochondriaal DNA uit vers of bevroren humaan volbloed met behulp van de QIASymphony SP en de QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (cat.nr. 937236)
Monstermateriaal	Buffy coat (ontstond met EDTA, citraat of heparine)
Naam protocol	DNA_BC_200_V7_DSP
Standaard assaycontrolezet	ACS_BC_200_V7_DSP
Bewerkbaar	Elutievolume: 200, 300 en 400 µl
Vereiste softwareversie	Versie 4.0 of hoger
Vereiste softwareconfiguratie voor IVD-gebruik	Standaardprofiel 1

## De lade 'Sample' (Monster)

<b>Monstertype</b>	Humaan volbloed (ontstond met EDTA, citraat of heparine)
Monstervolume	Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuisje; zie voor meer informatie de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
Primaire monsterbuizen	n.v.t.
Secondaire monsterbuizen	Zie voor meer informatie de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
Inzetten	Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuisje; zie voor meer informatie de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .

n.v.t. = niet van toepassing.

## De lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia- en verbruiksartikelen)

<b>Positie A1 en/of A2</b>	Reagenscartridge (RC)
Positie B1	n.v.t.
Tiprekhouder 1-17	Wegwerpbare filtertips, 200 of 1500 µl
Verpakkingsdooshouder 1-4	Verpakkingsdozen met monsterpreparatiescartridges of afdekkingen voor 8-Rod Covers

n.v.t. = niet van toepassing.

## De lade 'Waste' (Afval)

<b>Verpakkingsdooshouder 1-4</b>	Lege verpakkingsdozen
Afvalzakhouder	Afvalzak
Houder afvalvloeistoffen	Lege afvalvloeistoffen

## De lade 'Eluate' (Eluaat)

Elutierek (het gebruik van slot 1, de koelpositie, wordt aangeraden)

Zie voor meer informatie de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Benodigde plastic artikelen

Plastic artikelen	Een batch, 24 monsters*	Twee batches, 48 monsters*	Drie batches, 72 monsters*	Vier batches, 96 monsters*
Disposable filter-tips, 200 µl <sup>††</sup>	2	2	2	2
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>††</sup>	110	212	314	416
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	18	36	54	72
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Bij gebruik van minder dan 24 monsters per batch zijn minder wegwerpbare filtertips per run nodig.

<sup>†</sup> Er zitten 32 filtertips in een filtertiprek.

<sup>‡</sup> Het aantal benodigde filtertips is inclusief tips voor 1 voorraadscan per reagenscartridge.

<sup>§</sup> Er zitten 28 monsterbereidingscartridges in een verpakkingendoos.

<sup>¶</sup> Er zitten twaalf 8-Rod Covers in een verpakkingendoos.

Opmerking: de gegeven aantallen filtertips kunnen afwijken van de aantallen die op het aanraakscherm worden weergegeven. Dit is afhankelijk van de instellingen. Wij adviseren om het hoogst mogelijke aantal filtertips te plaatsen.

## Elutievolume

Het elutievolume wordt op het touchscreen geselecteerd. Afhankelijk van het monstertype en het DNA-gehalte, kan het uiteindelijke eluaatvolume tot 15 µl kleiner zijn dan het geselecteerde volume. Het elutievolume kan variëren. Het wordt daarom aangeraden het werkelijke elutievolume te controleren bij gebruik van een geautomatiseerd assay-setupsysteem dat het elutievolume niet verifieert voorafgaand aan de overdracht. Met lagere elutievolumes stijgt de uiteindelijke DNA-concentratie, maar daalt de opbrengst iets. Wij adviseren om een elutievolume te gebruiken dat geschikt is voor de beoogde vervolgtoeepassing.

## Bereiding van monstermateriaal

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

Voor algemene aanbevelingen met betrekking tot afname, transport en opslag raadpleegt u de goedgekeurde CLSI-richtlijn MM13-A 'Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods' (Afname, transport, bereiding en opslag van specimens voor moleculaire methoden). Bovendien moeten de instructies van de fabrikant voor het geselecteerde monsterafnamehulpmiddel worden opgevolgd tijdens de monsterbereiding, de opslag, het transport en het algemene gebruik.

## Buffy Coat

Buffy coat is een fractie van volbloed dat is verrijkt met leukocyten. De effectiviteit van verrijking met leukocyten is afhankelijk van de procedure die wordt gebruikt om buffy coat voor te bereiden en op de nauwkeurigheid waarmee de buffy coat-laag wordt geëxtraheerd. Bereid buffy coat voor door volbloedmonsters met een standaard antistollingsmiddel (EDTA, citraat of heparine) 10 minuten te centrifugeren met 900-1100 x g op kamertemperatuur (15-25 °C). Na centrifugatie zijn er 3 verschillende fracties te onderscheiden: de bovenste heldere laag is plasma; de middelste laag is buffy coat en bevat geconcentreerde leukocyten; de onderste laag bevat geconcentreerde erythrocyten. Er kan per 10 ml gecentrifugeerd volbloed ongeveer een fractie van 1 ml die leukocyten bevat worden geoogst, wat gemiddeld een verrijking van 5-6 maal geeft. Bijvoorbeeld: 10 ml volbloed met een hoeveelheid witte bloedcellen van  $6 \times 10^6$  cellen/ml levert 1 ml buffy coat op. Uitgaand van een witte bloedcelverrijking van 5 maal, geeft dit  $3 \times 10^7$  cellen/ml. In een protocol dat 200 µl buffy coat gebruikt, worden daarom  $6 \times 10^6$  cellen gebruikt.

Bereid buffy-coatmonsters met een verrijking van > 10 maal niet voor om overbelasting van de procedure voor DNA-zuivering te voorkomen. Verdun de monsters, indien de buffy-coatmonsters een verrijking van > 10 maal hebben, tot een verrijking van 10 maal of minder met PBS of gebruik minder beginmateriaal tijdens de DNA-zuiveringsprocedure.

Buffy coatmonsters kunnen onmiddellijk worden gebruikt, gedurende 7 dagen bij 2-8 °C worden bewaard voor kortstondige opslag of bij -20 °C of -80 °C worden bewaard voor zuivering van DNA op een later moment. Bevroren monsters moeten snel worden ontdooid in een waterbad van 37 °C onder zacht schudden om voor een goede menging te zorgen. Laat de monsters vervolgens op kamertemperatuur komen (15-25 °C) voordat de procedure wordt gestart. Om betrouwbare overbrenging van het monster te verzekeren, dient u schuimvorming in de monsterbuizen te vermijden. Probeer bloedstolsels in de monsters te voorkomen en breng de monsters indien nodig zonder bloedstolsels over naar een nieuwe buis.

Opmerking: Monsterstabiliteit is sterk afhankelijk van verschillende factoren, en houdt verband met de specifieke latere toepassing. Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gebruiksaanwijzing voor de specifieke latere toepassing die in het laboratorium wordt gebruikt te raadplegen en/of de gehele workflow te valideren om de juiste opslagomstandigheden te bepalen.

## Bewaring van eluaten

Het wordt aangeraden om de elutieplaat direct na afloop van de run uit de lade 'Eluate' (Eluaat) te nemen. Elutieplaten kunnen na afloop van de run overnacht in de QIASymphony SP blijven staan (maximaal 12 uur inclusief runtijd; aanbevolen omgevingscondities: 18-26 °C en 20-75% relatieve vochtigheid). Afhankelijk van de temperatuur en luchtvochtigheid kunnen eluaten condensatie of verdamping ondergaan.

Voor kortstondige opslag kunnen eluaten gedurende 2 weken bij kamertemperatuur worden bewaard. Voor langdurige opslag raden we opslag bij 2-8°C, -20 °C of -80 °C aan. Bevroren eluaten mogen niet vaker dan 3 maal worden ontdooid.

Opmerking: de stabiliteit van eluaat is sterk afhankelijk van verschillende factoren, en houdt verband met de specifieke latere toepassing. Deze stabiliteit is voor de QIASymphony DSP DNA Mini Kit vastgesteld in combinatie met typische latere toepassingen. Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gebruiksaanwijzing voor de specifieke latere toepassing die in het laboratorium wordt gebruikt te raadplegen en/of de gehele workflow te valideren om de juiste opslagomstandigheden te bepalen.

## Wat u moet weten voor u begint

- QIASymphony magnetische deeltjes kunnen RNA zuiveren indien dit aanwezig is in het monster. Voeg RNase A toe aan het monster voordat de procedure wordt gestart om het RNA-gehalte in het monster te minimaliseren. De uiteindelijke RNase A-concentratie moet 2 mg/ml zijn.

## Beperkingen en interfererende stoffen





Bloedmonsters met hoge concentraties triglyceriden (> 30 g/l) kunnen tot een verminderde gDNA-opbrengst leiden.

**Opmerking:** onthoud dat er tijdens de ontwikkeling van de QIASymphony DSP DNA Mini Kit geen indicaties zijn geobserveerd dat heparine een negatieve invloed op de werking heeft. In ISO 20186-2:2019(E) staat echter vermeld dat heparine uit bloedverzamelbuisjes invloed kan hebben op de zuiverheid van de geïsoleerde nucleïnezuren en mogelijke carry-over naar eluaten remmingen kan veroorzaken in bepaalde latere toepassingen. Het is daarom de verantwoordelijkheid van de gebruiker om te valideren of heparine een negatieve invloed op zijn/haar workflow heeft.

**Opmerking:** de testen werden uitgevoerd met behulp van typische latere toepassingen, waarbij de kwaliteit van de geëxtraheerde nucleïnezuren werd beoordeeld. Verschillende latere toepassingen kunnen echter verschillende eisen met betrekking tot zuiverheid hebben (d.w.z. afwezigheid van potentieel interfererende stoffen), zodat het bepalen en testen van relevante stoffen ook plaats moet vinden als onderdeel van de ontwikkeling van latere stoffen voor elke workflow waarvoor de QIASymphony DSP DNA Mini Kits gebruikt worden.

## Symbolen

Dit document bevat de volgende symbolen. Raadpleeg de handleiding voor een volledige lijst met symbolen die worden gebruikt in de gebruiksaanwijzing, op de verpakking of op de labels.

Symbol	Symboldefinitie
	Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese regelgeving 2017/746 inzake in-vitrodiagnostische medische hulpmiddelen.
	In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel
	Catalogusnummer
<b>Rn</b>	'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer
	Fabrikant

## Revisiegeschiedenis

Revisie	Beschrijving
R1, juni 2022	<p>Versie 2, revisie 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Update naar versie 2 voor naleving van IVD</li><li>• Toevoeging van paragraaf Beperkingen en interfererende stoffen</li><li>• Toevoeging van paragraaf Opslag van eluaten</li><li>• Toevoeging van paragraaf Symbolen</li><li>• Update van paragraaf Bereiding van monstermateriaal</li></ul>

Raadpleeg voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules de handleiding of gebruikershandleiding van de desbetreffende QIAGEN®-kit. Handleidingen en gebruiksaanwijzingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd.  
06/ 2022 HB-3029-S04-001 © 2022 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.