

Februari 2023

Gebruiksaanwijzing (Handleiding) QIASymphony[®] PAXgene[®] Blood ccfDNA-kit



192

Versie 1



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik



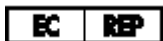
768566



PreAnalytiX GmbH

Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Zwitserland

1130770NL



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, DUITSLAND

PreAnalytiX Company

PreAnalytiX GmbH

8634 Hombrechtikon

Zwitserland

www.PreAnalytiX.com

Handelsmerken: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH)
QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, QIASymphony® (QIAGEN Group)
BD™ (Becton Dickinson and Company)
Corning®, Falcon® (Corning, Inc.)
Eppendorf® (Eppendorf AG)
SpeedVac® (Thermo Fisher Scientific of haar dochterondernemingen).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

1130770NL HB-2866-003

© 2023 PreAnalytiX GmbH. Tenzij anders vermeld, zijn PreAnalytiX, het PreAnalytiX-logo en alle overige handelsmerken eigendom van PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

Beperkte licentieovereenkomst voor de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA-kit

Door het gebruik van de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit verklaart de koper of gebruiker zich akkoord met de volgende voorwaarden:

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en mag alleen worden gebruikt met onderdelen die zich in de kit bevinden. PreAnalytiX® geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten onderdelen van deze kit te gebruiken of samen te stellen met onderdelen die niet bij de kit zijn meegeleverd, behalve zoals beschreven in de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en in aanvullende protocollen die beschikbaar zijn op www.qiagen.com en www.PreAnalytiX.com.
2. Anders dan uitdrukkelijk gesteld in licenties, garandeert PreAnalytiX niet dat deze kit en/of het gebruik ervan geen rechten van derden schenden.
3. Dit verbruiksartikel en de componenten ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, opgeknapt of doorverkocht.
4. PreAnalytiX doet in het bijzonder afstand van andere dan de uitdrukkelijk verklaarde licenties die worden genoemd of geïmpliceerd.
5. De koper en gebruiker van de kit gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen, en niemand anders toestaan stappen te ondernemen, die kunnen leiden tot enige handeling die hierboven als verboden is vermeld, of die dergelijke handelingen mogelijk maken. PreAnalytiX kan de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst afdwingen bij de rechter en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten verhalen, inclusief advocatenkosten, bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht met betrekking tot de kit en/of de componenten ervan af te dwingen.

Raadpleeg www.qiagen.com en www.PreAnalytiX.com voor actuele licentievoorwaarden.

PreAnalytiX-distributeurs

PreAnalytiX-producten worden geproduceerd en gedistribueerd door QIAGEN en BD voor PreAnalytiX.

Inhoudsopgave

| | |
|--|----|
| Inhoudsopgave | 3 |
| Beoogd gebruik | 5 |
| Beoogde gebruiker | 5 |
| Beschrijving en principe | 6 |
| Samenvatting en uitleg | 6 |
| Principes van de procedure | 7 |
| Meegeleverde materialen | 9 |
| Inhoud van de kit | 9 |
| Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen | 10 |
| Uitrusting | 10 |
| Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen | 11 |
| Veiligheidsinformatie | 11 |
| Voorzorgsmaatregelen | 12 |
| Opslag en verwerking van reagentia | 14 |
| Componenten van de kit | 14 |
| Afname en preparatie van specimen | 16 |
| Procedure | 20 |
| Overzicht: Geautomatiseerde zuivering van ccfDNA op het QIASymphony SP-instrument | 20 |
| Protocoloverzicht | 26 |
| Protocol: Geautomatiseerde zuivering van ccfDNA op het QIASymphony SP-instrument | 29 |

| | |
|--|----|
| Kwaliteitscontrole | 33 |
| Beperkingen..... | 33 |
| Gids voor probleemoplossing..... | 34 |
| Symbolen | 37 |
| Bijlage: Kwantificering van ccfDNA | 39 |
| Bestelgegevens | 40 |
| Geschiedenis van herziening document | 42 |

Beoogd gebruik

De QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit is bestemd voor geautomatiseerde isolatie en zuivering van circulerend celvrij DNA (ccfDNA) in plasma dat afkomstig is van humaan veneus volbloed afgenomen in het PAXgene Blood ccfDNA Tube en dient te worden gebruikt met het QIASymphony SP-apparaat.

De QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit maakt gebruik van magnetische deeltjestechologie voor geautomatiseerde isolatie en zuivering van ccfDNA uit menselijk plasma.

De QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit is voor *in-vitro* diagnostisch gebruik en voor toepassing door beroepsmatige gebruikers, bijvoorbeeld analisten en artsen die zijn opgeleid in moleculair-biologische technieken.

Beoogde gebruiker

Deze kit is bestemd voor professioneel gebruik.

Het product dient uitsluitend te worden gebruikt door personeel dat speciaal is opgeleid en getraind in het gebruik van moleculaire biologische technieken en bekend is met deze technologie.

Beschrijving en principe

Samenvatting en uitleg

Circulerend celvrij DNA (ccfDNA) is in plasma gewoonlijk aanwezig als korte fragmenten (<1000 bp). De concentratie van ccfDNA in plasma is gewoonlijk laag (kan variëren van 1 tot 100 ng/ml), met grote verschillen tussen individuen. De PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube met CE-markering vormt in combinatie met de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit een gestandaardiseerde workflow voor de afname, opslag en het transport van bloed, de stabilisatie van DNA in een gesloten buisje, en de hierop volgende isolatie en zuivering van ccfDNA uit humaan plasma met behulp van het QIAGEN® QIASymphony SP-instrument.

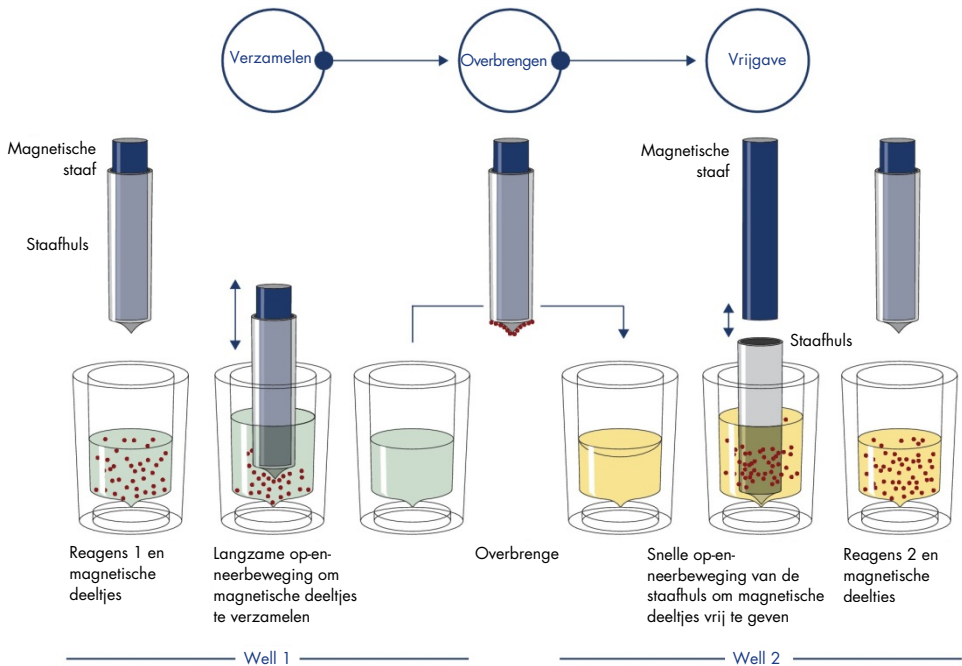
Er zijn protocollen beschikbaar voor het QIASymphony SP-instrument voor extractie van ccfDNA uit 2,4 en 4,8 ml plasma dat door middel van dubbele centrifugering wordt gegenereerd uit PAXgene Blood ccfDNA Tubes. Plasma wordt overgebracht en verwerkt in een secundair buisje op het QIASymphony SP-instrument.

Als alternatief zijn er protocollen beschikbaar voor de verwerking van primaire buisjes met een invoervolume van 2,4 en 4 mL plasma op het QIASymphony SP-instrument. In dit geval is er geen tweede keer centrifugeren of overbrengen van plasma in een secundair buisje nodig.

De magnetische deeltjes-technologie van de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit maakt zuivering mogelijk van ccfDNA van hoge kwaliteit dat vrij is van eiwitten, nucleases en andere verontreinigingen. Het QIASymphony SP-instrument voert alle stappen van de zuiveringsprocedure uit. In één run kunnen maximaal 96 monsters, in partijen van 24, worden verwerkt. Raadpleeg de instructies in de gebruiksaanwijzing van de PAXgene Blood ccfDNA Tube (www.PreAnalytiX.com) voor het isoleren van genomisch DNA (gDNA) uit de cellulaire fractie met nuclease van bloed dat verzameld wordt in de PAXgene Blood ccfDNA Tubes op het QIASymphony SP-instrument.

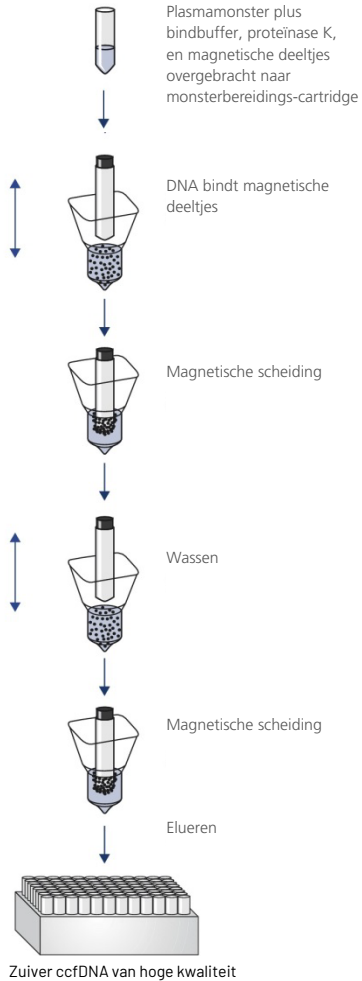
Principes van de procedure

In de technologie van het QIASymphony SP-instrument worden de snelheid en efficiëntie van de zuivering van nucleïnezuren met behulp van anionenuitwisseling gecombineerd met het gemak van het werken met magnetische deeltjes (Afbeelding 1). De zuiveringsprocedure is zo ontwikkeld dat een veilige en reproduceerbare hantering van potentieel besmettelijk monsters is gegarandeerd. De procedure bestaat uit 3 stappen: binden, wassen en elueren (Afbeelding 2). Gebruikers kunnen kiezen uit verschillende volumes van de in te voeren monsters.



Afbeelding 1. Schematische weergave van het principe van het QIASymphony SP-instrument. Het QIASymphony SP-instrument verwerkt een monster dat magnetische deeltjes bevat als volgt: Een magnetisch staafje, met daaromheen een beschermende huls, wordt in een well met een monster gebracht en trekt de magnetische deeltjes aan. De huls van de magnetische staaf wordt boven een andere well geplaatst en de magnetische deeltjes worden vrijgegeven. Tijdens de monsterverwerking worden deze stappen meerdere keren herhaald. Het QIASymphony SP-instrument maakt gebruik van een magneetkop met een raster van 24 magnetische staafjes zodat maximaal 24 monsters tegelijkertijd kunnen worden verwerkt.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit



Afbeelding 2. Stappen voor extractie van ccfDNA met de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit. Fragmenten ccfDNA worden geïsoleerd uit plasma dat afkomstig is uit humaan veneus volbloed dat verzameld wordt in de PAXgene Blood ccfDNA Tube. Tijdens de eerste verwerkingsstap worden plasma-eiwitten verteerd door proteinase K, en bindt het ccfDNA zich aan het oppervlak van magnetisch deeltjes. Drie wasstappen garanderen dat verontreinigingen worden verwijderd. Ten slotte wordt ccfDNA geëluëerd uit de magnetische deeltjes en is gereed voor gebruik in latere toepassingen.

Meegeleverde materialen

Inhoud van de kit

| QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) Catalogusnr. Aantal reacties | | (192) 768566 192 | | |
|--|--|------------------------|---|--|
| Afkorting | Identificatie | Aantal | Actieve bestanddelen | Concentratie [%]** |
| RC | Reagent cartridge (Reagenscartridge) [†] | 2 | Niet-ionisch reinigingsmiddel Magnetische deeltjes voor anionenuitwisseling NaOH Ethanol | ≥0,5 – <10 [w/w] – ≥0,05 – <0,1 [w/w] ≥70 – <90 [v/v] |
| PROTK | Proteinase K (Proteinase K) [†] | 5 × 10 ml | Proteinase K | ≥1 – <3 [w/w] |
| PL | Piercing lid (Doorprikdeksel) | 2 | – | – |
| RSS | Reuse Seal Set (Sealset voor hergebruik) [†] | 2 | – | – |
| | Elution Microtubes CL, racked (Elutiemicrobuisjes CL, in een rek) [#] | 2 | – | – |
| | Caps for Elution Microtubes (Dopjes voor Elution Microtubes) [#] | 1 × (55 × 8) | – | – |
| | Gebruiksaanwijzing (Handleiding) | 1 | – | – |
| | PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool | 1 | – | – |

* Bevat natriumazide als conserveermiddel.

[†] Zie blz. 37 voor een lijst symbolen met definities.

[†] Een Reuse Seal Set bevat 8 Sealstrips voor hergebruik.

[#] Ook afzonderlijk verkrijgbaar, zie Bestelgegevens.

** Maximale concentratie in één well.

Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen

Volg bij het werken met chemicaliën en biologische monsters altijd de universele voorzorgsmaatregelen en draag een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril die in overeenstemming zijn met het beleid en de procedures van uw instelling. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB of MSDS) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

Verzeker u ervan dat de instrumenten zijn gecontroleerd en gekalibreerd volgens de aanbevelingen van de fabrikant.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, catalogusnr. 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, catalogusnr. 997004)
- Filter-Tips, 200 µL en 1500 µL (QIAGEN, cat.nrs. 990332 en 997024)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, cat.nr. 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE- IVD) (PreAnalytiX, cat.nr. 768165)
- Monsterbuisen. Zie voor compatibele primaire en secundaire typen buisjes de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder de tabbladen "Product Resource" (Producthulpmiddelen) en "Resources" (Hulpmiddelen) van de productpagina's op respectievelijk **www.qiagen.com** en **www.PreAnalytiX.com**.
- Zie voor compatibele elutiebusjes de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder de tabbladen 'Product Resource' (Producthulpmiddelen) en 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina's op respectievelijk **www.qiagen.com** en **www.PreAnalytiX.com**.

Uitrusting*

- Pipet (5 mL)
- QIASymphony SP-instrument (QIAGEN, cat.nr. 9001297)

* Verzeker u er voor gebruik van dat de apparaten zijn gecontroleerd en gekalibreerd volgens de aanbevelingen van de fabrikant.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Voor in-vitrodiagnostisch gebruik.

Lees alle instructies zorgvuldig door voordat u de kit gebruikt.

Onthoud dat klanten in de Europese Unie verplicht zijn om ernstige incidenten die hebben plaatsgevonden in verband met gebruik van het hulpmiddel te melden bij de fabrikant en de bevoegde instantie van de lidstaat waarin de gebruiker en/of de patiënt zich bevindt.

Veiligheidsinformatie

Volg bij het werken met chemicaliën en biologische monsters altijd de universele voorzorgsmaatregelen en draag een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril die in overeenstemming zijn met het beleid en de procedures van uw instelling. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB). Deze zijn on-line beschikbaar in pdf-formaat via www.qiagen.com/safety. Hier vindt u de SDS's van alle kits en kit-componenten van PreAnalytiX, die u kunt bekijken en afdrukken.

- Alle chemische en biologische materialen zijn mogelijk gevaarlijk. Bloedspecimens zijn potentieel besmettelijk en dienen als biologisch gevaarlijk materiaal te worden behandeld.
- Gooi biologisch gevaarlijke materialen en kitafval weg conform uw lokale veiligheidsprocedures.

Informatie voor noodgevallen

CHEMTREC

VS en Canada 1-800-424-9300

Buiten de VS en Canada +1 703-527-3887

Voorzorgsmaatregelen

Buffers in de reagenscartridge (Reagent cartridge, RC) bevatten natriumazide. Als u buffers uit de kit hebt gemorst, moeten die worden opgenomen met geschikt laboratoriumdetergens en water. Als de gemorste vloeistof potentieel besmettelijke agentia bevat, reinig de verontreinigde plaats dan eerst met laboratoriumreinigingsmiddel en water en daarna met 1% (v/v) natriumhypochloriet (bleekmiddel).

De volgende gevarenaanduidingen en voorzorgsmaatregelen zijn van toepassing op de componenten van de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit.

MBS3

Bevat: Natriumazide. Waarschuwing! Kan bij doorslikken schadelijk zijn. Draag beschermende handschoenen/ beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

Proteinase K



Bevat: proteïnase K. Gevaarlijk! Licht irriterend voor de huid. Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken. Vermijd het inademen van stof/rook/gas/damp/nevel/spray. Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming. Draag ademhalingsbescherming. Bij blootstelling of zorgen: Schakel hulp van een gifcentrum of arts in. Het slachtoffer in de frisse lucht brengen en laten rusten in een houding die het ademen vergemakkelijkt.

QSE2



Bevat: Natriumhydroxide. Gevaar! Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. Voer de inhoud/verpakking af naar een goedgekeurde stortlocatie. **Bij contact met de ogen:** Voorzichtig spoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien mogelijk. Blijven spoelen. **Bij contact met de huid (of het haar):** Verontreinigde kleding onmiddellijk uittrekken. Huid met water afspoelen/afdouchen. Onmiddellijk contact gifcentrum of een arts raadplegen. Achter slot bewaren. Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

QSW9



Bevat: Ethanol. Gevaar! Licht ontbrandbare vloeistof en damp. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Verwijderd houden van warmte/vonken/open vuur/hete oppervlakken. Niet roken. Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

Opslag en verwerking van reagentia

De QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA-kit moet rechtop bij kamertemperatuur (15-25 °C) worden bewaard. De magnetische deeltjes in de reagenscartridges (RC's) blijven actief wanneer ze binnen dit temperatuurbereik worden bewaard.

Opmerking: De uiterste houdbaarheidsdatum van de kit ('Expiration date') staat vermeld op het etiket op de doos van de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit. De uiterste houdbaarheidsdatum geldt voor de reagenscartridge.

Gebruik de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA-kit na het verstrijken van de uiterste houdbaarheidsdatum niet meer.

Componenten van de kit

De QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit bevat gebruiksklare proteïnase K-oplossing die bij kamertemperatuur kan worden bewaard (15-25 °C).

Bewaar RC's niet bij temperaturen beneden 15 °C.

Een geopende QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit kan, indien na gebruik goed afgesloten, bij kamertemperatuur (15-25 °C) 4 weken worden bewaard, wat kostenefficiënt hergebruik van reagentia en een flexibelere monsterverwerking mogelijk maakt. Als een RC gedeeltelijk is gebruikt, moet onmiddellijk na afloop van de protocolrun het dopje van het buisje waar de magnetische deeltjes in zitten worden teruggeplaatst en moet de reagenscartridge (RC) worden afgesloten met de meegeleverde Reuse Seal Strips (sealstrips voor hergebruik), om verdamping te voorkomen.

Om verdamping van reagens te voorkomen, mag de reagenscartridge (RC) maximaal 15 uur open zijn (inclusief runtijden), bij een omgevingstemperatuur van maximaal 32 °C. Als de componenten van de kit niet op de juiste manier worden bewaard, kunnen de buffers sneller verouderen.

Het verwerken van batches met kleine aantallen monsters (<24) verlengt de tijd dat de RC geopend is en verhoogt bovendien de benodigde buffervolumes. Hierdoor kan het totale aantal monsterbereidingen per cartridge kleiner worden.

Vermijd blootstelling van de RC's aan UV-licht (bijvoorbeeld wanneer dit wordt gebruikt voor ontsmetting), omdat blootstelling kan leiden tot versnelde veroudering van de RC's en buffers.

Er moet worden gelet op de uiterste houdbaarheidsdata en opslagomstandigheden die op de verpakking en etiketten van alle bestanddelen staan vermeld. Gebruik geen componenten waarvan de uiterste houdbaarheidsdatum is verstreken of die onjuist zijn opgeslagen.

Afname en preparatie van specimen

De zuiveringsprocedure is geoptimaliseerd voor gebruik met plasma dat afkomstig is van bloed dat verzameld wordt in PAXgene Blood ccfDNA Tubes. Raadpleeg voor informatie over bloedafname, de verwerking van deze buisjes en de preparatie van plasma, de gebruiksaanwijzing van de PAXgene Blood ccfDNA Tube die u kunt vinden onder de tabbladen 'Product Resource' (Producthulpmiddelen) en 'Resources' (Hulpmiddelen) op de productpagina's van respectievelijk www.qiagen.com en www.PreAnalytiX.com.

Plasmabereiding kan worden uitgevoerd met behulp van (A) het standaardprotocol met dubbele centrifugering of (B) directe verwerking van primaire buisjes: rechtstreeks verwerken van de gecentrifugeerde PAXgene Blood ccfDNA Tubes op het QIASymphony SP-instrument.

A) Plasmabereiding uit bloed voor standaardprotocollen

1. Centrifugeer de PAXgene Blood ccfDNA Tube gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur (15-25 °C) bij 1600-3000 × g (eerste centrifugering) met behulp van een gebalanceerde uitzwaaiende emmercentrifuge. Indien er liever gebruik wordt gemaakt van remmen wordt aangeraden om het medium remniveau toe te passen en dient deze methode te worden gevalideerd voor uw specifieke workflow.

Opmerking: Voor de beste prestaties van monsters die voorafgaand aan centrifugering gekoeld bewaard zijn, de monsters opnieuw mengen door ze drie keer om te keren en ze weer op kamertemperatuur te laten komen.

2. Pipetteer het plasma in een centrifugebuisje met conische bodem van 15 mL (niet meegeleverd). Zorg er daarbij voor dat de cellulaire fractie met nuclease niet wordt verstoord.

3. Centrifugeer het centrifugebuisje met conische bodem van 15 mL gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur (15-25 °C) bij 1600-3000 × g (tweede centrifugering) met behulp van een gebalanceerde centrifuge.

Opmerking: zorg dat u niet het door de fabrikant aanbevolen maximale centrifugesnelheid van het secundaire busje overschrijdt.

4. Pipetteer het benodigde plasmavolume (zie gedeelte "Monstervolume", pagina 20) in een polystyreen rondbodembuisje van 14 mL, 17 × 100 mm, Let daarbij op dat u niet het residuele bloedcellpellet verstoort, indien aanwezig.
5. Breng het rondbodembuisje met het plasmamonster over naar de buisjesdrager en laad de buisjesdrager in de monsterinvoerlade van het QIASymphony SP-instrument.

Opmerking: verwerk het maximumvolume plasma dat beschikbaar is voor een maximale opbrengst van ccfDNA.

Opmerking: Zorg dat er tijdens het pipetteren geen schuim wordt gevormd in of op het oppervlak van plasmamonsters tijdens het pipetteren. Schuim of luchtbelletjes op monsters kunnen ertoe leiden dat een verkeerd monstervolume wordt gepipetteerd.

Opmerking: Na het overbrengen van plasma in een secundair busje is ccfDNA stabiel in plasma bij 15-25 °C gedurende maximaal 3 dagen of bij 2-8 °C gedurende 7 dagen. Voor langere opslag wordt het aanbevolen om aliquots bij -20 °C of -80 °C te bevriezen.

Opmerking: Bij gebruik van eerder opgeslagen plasmamonsters (bijv. opgeslagen bij 2-8 °C of bevroren bij -20 °C of -80 °C), moeten deze weer op kamertemperatuur (15-25 °C) worden gebracht alvorens de run te starten. Zie voor bevroren monsters paragraaf "C) Het invriezen en ontdooien van plasmamonsters die verwerkt worden uit de PAXgene Blood ccfDNA Tube".

B) Plasmabereiding uit bloed voor gebruik met primaire buisjes op het QIAasymphony SP-instrument

1. Centrifugeer de PAXgene Blood ccfDNA Tube gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur (15-25 °C) met 3.000 × g met behulp van een gebalanceerde uitzwaaiende emmercentrifuge. Indien er liever gebruik wordt gemaakt van remmen wordt aangeraden om het medium remniveau toe te passen en dient deze methode te worden gevalideerd voor uw specifieke workflow.

Opmerking: Voor de beste prestaties van monsters die voorafgaand aan centrifugering gekoeld bewaard zijn, de monsters opnieuw mengen door ze drie keer om te keren en ze weer op kamertemperatuur te laten komen.

2. Kwantificeer na het verwijderen uit de centrifuge-emmer het plasmavolume in ieder buisje met de PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, meegeleverd met de kit (Afbeelding 3). Nadat het buisje uit de centrifuge is verwijderd, wordt de lichtblauwe pijl uitgelijnd met de plasma/cel-interface. De blauwe lijnen geven aan of het plasmaniveau voldoende is voor het protocol voor het hanteren van primaire buisjes van 2,4 of 4,0 mL. De plasmakolom moet minimaal 2,3 cm hoog zijn voor het protocol van 2,4 mL en minimaal 3,4 cm hoog voor het protocol van 4,0 mL.

Opmerking: in het geval dat plasma en celfractie niet duidelijk is gescheiden of als er fasen onbedoeld bij het verwijderen uit de centrifuge zijn gemengd, moet het centrifugeren worden herhaald.

Opmerking: Controleer of er sprake is van een duidelijke scheiding voordat u het buisje weer op het instrument plaatst.

3. Verwijder de Hemogard-sluiting van de PAXgene Blood ccfDNA Tubes voordat deze op het QIAasymphony SP-instrument worden geplaatst voor directe ccfDNA-extractie.

Opmerking: Bij het verwijderen van de afdichting van buisjes en hanteren van open buisjes moet voorzichtigheid worden betracht om het risico op morsen van monster, kruisbesmetting tussen buisjes en blootstelling aan bloed te verminderen.

4. Plaats de geopende PAXgene Blood ccfDNA Tubes die voldoende plasma bevatten, in de buisjesdrager en laad de buisjesdrager in de monsterinvoerlade van het QIASymphony SP-instrument.

C) Het invriezen en ontdooien van plasmamonsters die verwerkt worden uit de PAXgene Blood ccfDNA Tube

1. Voor het invriezen brengt u het plasma over in geschikte buisjes (bijvoorbeeld cryobuisjes) die in een passend rek zijn geplaatst.
2. Bevries en bewaar het plasma bij -20°C . Voor opslag onder -20°C moeten de plasmamonsters eerst worden ingevroren bij -20°C gedurende ten minste 24 uur, en vervolgens worden overgebracht naar -80°C .
3. Ontdooi het plasma bij kamertemperatuur ($15-25^{\circ}\text{C}$).

Opmerking: Niet ontdooien bij lage temperaturen (bijv. 4°C).

4. Als zich in het plasma cryoprecipitaten vormen, het buisje gedurende 30 seconden mengen met een vortexmixer, en het monster zonder nadere behandeling gebruiken voor de ccfDNA isolatieprocedure met het QIASymphony SP-instrument.

Opmerking: Het wordt afgeraden om het plasma te centrifugeren om cryoprecipitaten te verwijderen, omdat deze ccfDNA kunnen bevatten.

Opmerking: Om de vorming van cryoprecipitaten te voorkomen, kan plasma worden gedurende 30 minuten op 30°C , in plaats van op kamertemperatuur, worden ontdooid.

Procedure

Overzicht: Geautomatiseerde zuivering van ccfDNA op het QIASymphony SP-instrument

Het QIASymphony SP-instrument maakt geautomatiseerde monsterbereiding gemakkelijk en handig. Monsters, reagentia, verbruiksartikelen en eluaten worden gescheiden in verschillende laden. Plaats voorafgaand aan de run de monsters, de in speciale cartridges geleverde reagentia en de al in rekjes verpakte verbruiksartikelen simpelweg in de juiste laden. Start het protocol en haal na de verwerking van het monster het gezuiverde ccfDNA uit de lade 'Eluate' (Eluaat). Raadpleeg de gebruikershandleidingen van uw instrument voor bedieningsinstructies.

Opmerking: Optioneel onderhoud is niet verplicht voor correcte werking van het instrument, maar wordt wel ten zeerste aanbevolen om de kans op contaminatie te verkleinen.

Monstervolume

Om te zorgen dat er in de reguliere workflow het monster van 2,4 mL (PAXcircDNA_2400 protocol) en van 4,8 mL (PAXcircDNA_4800 protocol) wordt overgebracht door het instrument, is er een dood volume van 0,4 en 0,5 mL respectievelijk vereist. Dat betekent dat er minimaal 2,8 en 5,3 mL monster moet worden ingevoerd. Als het beschikbare plasmavolume minder is dan 2,8 of 5,3 mL, kan middels **Less Sample- modus** (Kleiner monster), die in het protocol is geïntegreerd, automatisch het overbrengen van kleinere hoeveelheden plasma dan vermeld mogelijk worden gemaakt. In dit geval wordt er door het instrument minder monster overgebracht. Het verschil met de gepipetteerde hoeveelheid monster wordt in het resultaatbestand geregistreerd. Daarnaast worden de betreffende monsters gemarkeerd als **onduidelijk** (foutcode 140043, **Enable Less Sample-modus** (Kleiner monster toestaan)). De minimale plasma-invoervolumes om de **Less Sample-modus**

(Kleiner monster) te activeren bedragen 1,6 en 4,1 mL. Als er minder monstervolume wordt ingevoerd, worden de monsters niet verwerkt en gemarkeerd als **ongeldig**. Voor de workflow voor het hanteren van primaire buisjes wordt het geschikte monstervolume gegarandeerd door gebruik te maken van de PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool dat met deze kit is meegeleverd (beschreven in paragraaf 'Bereiding van monstermateriaal' op pagina 25).

RC's in de lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia en verbruiksartikelen) plaatsen

De reagentia voor ccfDNA-zuivering zitten in een innovatieve reagenscartridge (RC) (Afbeelding 3). Elke container van de RC bevat een specifiek reagens, bijvoorbeeld magnetische deeltjes, bindbuffer, wasbuffer of elutiebuffer. Gedeeltelijk gebruikte RC's kunnen op een later tijdstip weer worden afgesloten met sealstrips voor hergebruik. Zo ontstaat na afloop van de zuiveringsprocedure geen afval van overgebleven reagentia.



Afbeelding 3. Reagenscartridge (RC) voor de QIASymphony. De RC bevat alle reagentia die nodig zijn voor de protocolrun.

Controleer voordat u de procedure start of de magnetische deeltjes volledig zijn geresuspendeerd. Verwijder de container met magnetische deeltjes uit het frame van RC, vortex hem krachtig gedurende minimaal 3 min en plaats hem vóór het eerste gebruik terug in het frame van de RC.

Opmerking: Magnetische deeltjes kunnen van kleur veranderen. Dit heeft geen invloed op de werking ervan.

Plaats de RC in het RC-houder. Plaats voordat u een RC voor het eerst gebruikt het doorprikdeksel op de RC (Afbeelding 3).

Opmerking: De doorprikdeksel is scherp. Wees voorzichtig wanneer u het deksel op de RC plaatst. Zorg dat u het doorprikdeksel in de juiste richting op de RC plaatst.

Nadat de dop van de container met magnetische deeltjes is verwijderd, plaatst u de RC in de lade "Reagents and Consumables" (Reagentia en verbruiksartikelen).

U kunt gedeeltelijk gebruikte RC's bewaren totdat u ze weer nodig hebt, zie "Opslag en verwerking van reagentia", op pagina. 14.

Opmerking: Proteïnase K moet worden toegevoegd (zie 'Wat u moet doen voordat u begint' op pagina 27).

Opmerking: Zorg dat RC's, containers met magnetische deeltjes en flessen proteïnase K niet worden overgeplaatst naar een andere kit met een verschillend lotnummer.

Plastic artikelen in de lade "Reagents and Consumables" (Reagentia en verbruiksartikelen) plaatsen

Monsterbereidingscartridges, 8-Rod Covers (beide vooraf in dozen in rekken verpakt) en wegwerpfiltertips- (200 µL-tips, geleverd in blauwe rekken; 1500 µL-tips, geleverd in zwarte rekken) worden in de lade "Reagents and Consumables" (Reagentia en verbruiksartikelen) geplaatst.

Opmerking: Controleer of de deksels van de verpakkingendozen zijn verwijderd voordat u de dozen in de lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia en verbruiksartikelen) plaatst.

Opmerking: Tips zijn voorzien van filters om kruisbesmetting te voorkomen.

Beide typen tiprekken passen in de tiprekslots van de werktafel van het QIASymphony SP-instrument. Het QIASymphony SP-instrument herkent tijdens de voorraadscan welk type tips is geplaatst.

Opmerking: Vul de tiprekken of de dozen voor monsterbereidingscartridges of 8-Rod Covers niet bij voordat u een nieuwe protocolrun start. Het QIASymphony SP-instrument kan gedeeltelijk gebruikte rekken tips en dozen cartridges en hulzen gebruiken.

Zie voor bestelinformatie van kunststof artikelen pagina 40.

De lade 'Waste' (Afval) vullen

De tijdens een run gebruikte monsterbereidingscartridges of 8-Rod Covers worden in lege verpakkingendozen in de lade 'Waste' (Afval) geplaatst. Controleer of er voldoende lege verpakkingendozen in de lade 'Waste' (Afval) staan voor het kunststofafval dat tijdens de protocolrun ontstaat.

Opmerking: Controleer of de deksels van de verpakkingendozen zijn verwijderd voordat u de dozen in de lade 'Waste' (Afval) plaatst. Controleer of het tussenstuk is verwijderd als u gebruikte monsterbereidingscartridges en 8-Rod Covers verzamelt in verpakkingendozen van 8-Rod Covers.

Bevestig aan de voorzijde van de lade 'Waste' (Afval) een zak voor gebruikte filtertips.

Opmerking: Het systeem controleert niet of er een wegwerpbare afvalzak voor tips aanwezig is. Controleer voordat u een protocolrun start of de afvalzak voor tips goed is bevestigd. Raadpleeg voor meer informatie de gebruikershandleidingen die bij uw instrument zijn geleverd. Leeg na maximaal 96 monsterbereidingen de afvalzak voor tips, om te voorkomen dat de tips vastlopen.

Vloeibaar afval dat tijdens de zuiveringsprocedure wordt gegenereerd, wordt opgevangen in een afvalcontainer. De lade 'Waste' (Afval) kan alleen worden gesloten als de afvalcontainer geplaatst is. Voer het vloeibare afval af in overeenstemming met de plaatselijk geldende veiligheids- en milieubepalingen. De volle afvalfles mag niet worden geautoclaveerd. Leeg de afvalfles na maximaal 96 monsterbereidingen.

De lade 'Eluate' (Eluaat) vullen

Plaats het benodigde elutierek in de lade 'Eluate' (Eluaat). Omdat het langdurig bewaren van eluaten in de lade "Eluate" (eluaat) kan leiden tot verdamping of condensatie, moet de koelpositie worden gebruikt. Gebruik 'Elution slot 1' (Elutieslot 1) uitsluitend met de corresponderende koeladapter.

| Geselecteerd elutievolume (µL)* | Aanvankelijk elutievolume (µL)† |
|---------------------------------|---------------------------------|
| 60 | 75 |

* Dit is het minimaal toegankelijke eluaatvolume in de laatste elutiebus voor het QIAGEN EMT-rek (cat.nr. 19588) en Sarstedt-buisjes van 1,5 mL met schroefdop (cat.nr. 72.607). In individuele gevallen kan het uiteindelijke eluaatvolume voor enkelvoudige monsters tot 5 µL kleiner zijn.

† Het aanvankelijke volume van de elutiebuffer is nodig om er zeker van te zijn dat het daadwerkelijke eluaatvolume gelijk is aan het geselecteerde volume.

Vorraadscan

Voordat een run wordt gestart, controleert het apparaat of er voldoende verbruiksartikelen in de corresponderende laden zijn geplaatst voor de partijen die in de wachtrij staan.

Bereiding van monstermateriaal

Zie 'Afname en preparatie van specimen', pagina 16.

Opslag van ccfDNA

Na de monstervoorbereiding kunnen ccfDNA eluaten bewaard worden bij -20 of -80 °C. Bevroren eluaten mogen niet vaker dan drie maal worden ontdooid. Raadpleeg voor de meest actuele informatie over de stabiliteit van ccfDNA in eluaten de productpagina op www.qiagen.com of www.PreAnalytiX.com.

Protocoloverzicht

Tabel 1. Protocoloverzicht

| Monster | Verwerking van PAXgene Blood ccfDNA Tubes | Monsterinvoervolume (incl. dood volume) (mL) | Monstervolume gebruikt voor ccfDNA-extractie (mL) | Elutievolume (µL) | QIASymphony SP instrumentprotocol |
|--|---|--|---|-------------------|-----------------------------------|
| Uit humaan veneus volbloed afkomstig plasma wordt verzameld in PAXgene bloed ccfDNA Tubes. | 2× centrifugeren van plasma in secundair buisje | 2,8 | 2,4 | 60 | PAXcircDNA_2400 |
| | | 5,3 | 4,8 | 60 | PAXcircDNA_4800 |
| | 1x centrifugeren, directe verwerking op QIASymphony SP-instrument | In overeenstemming met selectietool | 2,4 | 60 | PAXcircDNA PrimaryTube_2400 |
| | | | 4,0 | 60 | PAXcircDNA PrimaryTube_4000 |

Wat u moet weten voordat u begint

- Draag bij het werken met chemicaliën en biologische monsters altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg de bijbehorende veiligheidsinformatiebladen (VIB's) voor meer informatie.
- Zorg dat u weet hoe u het QIASymphony SP-instrument moet bedienen. Raadpleeg de gebruikershandleidingen van uw instrument voor bedieningsinstructies.
Opmerking: Vereiste softwareconfiguratie voor IVD-gebruik **Standaardprofiel 1**.
- Lees voorafgaand aan de procedure het hoofdstuk "Principes van de procedure".
- Zorg ervoor dat u bekend bent met het protocolblad en de lijst met laboratoriummaterialen (labware) (deze zijn te vinden onder de tabbladen "Product Resource" (Producthulpmiddelen) en "Resources" (Hulpmiddelen) van de productpagina's op respectievelijk www.qiagen.com en www.PreAnalytiX.com.)
- Zorg dat de RC nooit hard wordt geschud, anders kan schuim worden gevormd. Schuimvorming kan leiden tot problemen bij het detecteren van het vloeistofniveau.

- Bloed moet worden afgenomen in PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD; PreAnalytiX, cat.nr. 768165). Raadpleeg voor instructies voor afname en hantering van bloed en plasmaverwerking de Gebruiksaanwijzing van de buisjes die u kunt vinden onder de tabbladen "Product Resources" (productbronnen) en "Resources" (bronnen) op de productpagina op respectievelijk www.qiagen.com of www.PreAnalytiX.com.

Wat u moet doen voordat u begint

- Controleer voordat u de procedure start of de magnetische deeltjes volledig zijn geresuspendeerd. Vortex de container met de magnetische deeltjes vóór het eerste gebruik krachtig gedurende minimaal 3 min.
- Zorg dat het doorprikdeksel op de RC is geplaatst en dat het deksel van het buisje met magnetische deeltjes is verwijderd, of, als u een gedeeltelijk gebruikte RC gebruikt, controleer of de afdichtingsstrips voor hergebruik zijn verwijderd.
- Proteïnase K zit niet in de RC maar moet door de gebruiker worden geleverd (monsterlade, slot A, positie 1 en/of 2). Zorg dat het juiste volume proteïnase K beschikbaar is.

De QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit bevat gebruiksklare proteïnase K-oplossing. Proteïnase K kan op kamertemperatuur (15-25 °C) worden bewaard. We raden voor langdurige opslag aan om de enzymflacons met proteïnase K te bewaren bij 2-8 °C.

| Aantal monsters | PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400* (µL) | PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* (µL) |
|-----------------|---|---|
| 8 | 1980 | 2860 |
| 24 | 3740 | 6380 |
| 48 | 6380 | 11660 [†] |
| 96 | 11660 [†] | 23320 [†] |

* Voor elk monster is 110 µL (voor 2400 µL plasma) of 220 µL (voor 4800/4000 µL plasma) nodig, plus een extra dood volume van 1100 µL [(n × 110 of 220 µL) + 1100 µL].

[†] Gebruik een secundaire buis als er meer dan 11.660 µL nodig is (Corning, cat.nr. 352051). Voor de tweede buis is een extra dood volume van 1100 µL nodig.

Opmerking: Buizen met proteïnase K worden in een buizendrager geplaatst. De buisjesdrager met proteïnase K moet op positie 1 en 2 in slot A van de lade 'Sample' (Monster) worden geplaatst. We raden u voor proteïnase K aan polystyrene rondbodembuizen van 14 mL, 17× 100 mm te gebruiken (Corning, cat.nr. 352051).

- Als de monsters zijn voorzien van een barcode, plaatst u de monsters zodanig in de buisjeshouder dat de streepjescodes naar de streepjescodelezer aan de linkerkant van het QIASymphony SP-instrument zijn gericht.
- Zie voor informatie over de monsterbuizen en de minimale monstervolumes compatibel met de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder de tabbladen "Product Resource" (productbron) en "Resources" (bronnen) van de productpagina's op respectievelijk www.qiagen.com en www.PreAnalytiX.com.

Protocol: Geautomatiseerde zuivering van ccfDNA op het QIASymphony SP-instrument

Gedetailleerde informatie voor elk protocol, met inbegrip van volumes en buisjes, wordt verstrekt in het protocolblad en de lijst met laboratoriummaterialen (labware), die u kunt vinden onder de tabbladen "Product Resource" (productbron) en "Resources" (bronnen) van de productpagina's op respectievelijk www.qiagen.com en www.PreAnalytiX.com. Voor de bereiding van monstermateriaal (plasma afkomstig uit humaan veneus volbloed dat wordt afgenomen in de PAXgene Blood ccfDNA Tube), raadpleegt u de paragrafen "Afname en preparatie van specimen" en "Bereiding van monstermateriaal" in dit handboek en de gebruiksaanwijzing, die u kunt vinden onder de tabbladen 'Product Resources' (productbronnen) en 'Resources' (bronnen) van de productpagina op respectievelijk www.qiagen.com of www.PreAnalytiX.com.

1. Sluit alle lades en de kap.
2. Zet het QIASymphony SP-instrument aan en wacht tot op het scherm 'Sample Preparation' (Monsterbereiding) wordt weergegeven en de initialisatieprocedure is voltooid.
3. De aan-uitknop bevindt zich op de linkeronderhoek van het QIASymphony SP-instrument.
4. Meld u aan bij het instrument.

Plaats het benodigde elutierek in de lade 'Eluate' (Eluaat).

Plaats geen 96-wellsplaat in 'Elution slot 4' (Elutieslot 4). 'Elution slot 1' (Elutieslot 1), met de corresponderende koeladapter, moet worden gebruikt.

Als u een 96-wellsplaat gebruikt, zorg dan dat de plaat in de juiste richting is geplaatst, omdat een verkeerde richting ertoe kan leiden dat monsters in vervolganalyses met elkaar worden verward.

Als u het Elution Microtubes CL-rek gebruikt, verwijder dan de bodem door het rek te draaien tot de bodem eruit komt.

5. Controleer of de lade 'Waste' (Afval) goed is voorbereid en voer een voorraadscan uit voor de lade 'Waste' (Afval), inclusief de tipgoot, het tipparkeerstation, een lege afvalcontainer, en lege verpakkingsdozen. Vervang indien nodig de afvalzak voor tips.
6. Plaats de benodigde RC('s) en verbruiksartikelen in de lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia en verbruiksartikelen).
7. Controleer of de componenten van de lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia en verbruiksartikelen) aanwezig zijn.
8. Plaats de monsters in de juiste monsterhouder en plaats deze in de lade 'Sample' (Monster).

Opmerking: Naast de reguliere verwerking met het overbrengen van plasma in een passend secundair buisje (14 mL Falcon® polystyreen rondbodembuisje 17 × 100 mm) dat in de juiste monsterhouder wordt geplaatst, maakt de workflow voor het primaire buisje van de PAXgene Blood ccfDNA Tube ook de extractie mogelijk van ccfDNA direct uit de PAXgene Blood ccfDNA Tube (10 mL PAXgene Blood ccfDNA Tube, 16 × 100 mm). Raadpleeg voor meer informatie over de verwerking van het primaire buisje het protocolblad, de lijst met laboratoriummaterialen (labware) en de gebruiksaanwijzing voor de buisjes die u kunt vinden onder de tabbladen 'Product Resources' (productbronnen) en 'Resources' (bronnen) op de productpagina op respectievelijk **www.qiagen.com** of **www.PreAnalytiX.com**.

9. Voer voor elke batch monsters en voor de proteïnase K die moeten worden verwerkt de benodigde gegevens in met behulp van het aanraakscherm.

Voer de volgende gegevens in:

- Monstergegevens (selecteer afhankelijk van de gebruikte monsterrekken BD #352051 FalconPP 17 × 100 of BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100)
- Het protocol dat moet worden gebruikt (Assay Control Set [assaycontroleset])
- Het elutievolume en de uitvoerpositie

Nadat u informatie over de partij hebt ingevoerd, verandert de status van 'LOADED' (Geladen) in 'QUEUED' (In de wachtrij). Zodra er een partij in de wachtrij staat, wordt de knop Run (Verwerken) weergegeven.

10. Plaats de proteïnase K in de juiste monsterdrager op positie 1 en 2 en plaats deze in slot A van de lade 'Sample' (Monster).
11. Definieer de proteïnase K door op de knop **IC** te drukken.
12. Druk op de knop Run (Verwerken) om de zuiveringsprocedure te starten. Alle stappen van de verwerking worden volledig automatisch uitgevoerd. Na afloop van de protocolrun verandert de status van de batch van RUNNING (Bezig met verwerken) in COMPLETED (Voltooid).
13. Neem het elutierek met het gezuiverde ccfDNA uit de lade 'Eluate' (Eluaat). Bevestig de verwijdering van het elutierek met de software van het QIASymphony SP-instrument.
14. Het ccfDNA is klaar voor gebruik of kan worden bewaard bij -20°C of -80°C , tot maximaal 6 maanden. QIAGEN raadt aan de elutieplaat direct nadat de run is voltooid uit de lade 'Eluate' (Eluaat) te verwijderen. Als elutieplaten Instrument na afloop van de run in het QIASymphony SP-instrument blijven staan, kan, afhankelijk van de temperatuur en luchtvochtigheid, condensatie of verdamping bij de platen optreden.

Opmerking: U kunt de koelfunctie van het QIASymphony SP-instrument gebruiken voor runs die 's nachts worden uitgevoerd.

In het algemeen worden magnetische deeltjes niet overgedragen naar eluaten. Als er overdracht plaatsvindt, zullen de magnetische deeltjes in het eluaat de meeste vervolgtoeepassingen niet negatief beïnvloeden.

Als magnetische deeltjes moeten worden verwijderd voordat downstream toepassingen worden uitgevoerd, plaatst u de buizen of platen eerst in een geschikte magneet en brengt u de eluaten vervolgens over in een schone buis (zie 'Bijlage: Kwantificering van ccfDNA'). Voor elke elutieplaat wordt een resultatenbestand gemaakt.

15. Als een RC slechts gedeeltelijk is gebruikt, sluit hem dan na afloop van de protocolrun af met de meegeleverde sealstrips voor hergebruik om verdamping te voorkomen.

Opmerking: Zie voor meer informatie over het bewaren van gedeeltelijk gebruikte RC's 'Opslag en verwerking van reagentia'.

16. Gooi gebruikte monsterbuisjes en afval weg in overeenstemming met de plaatselijk geldende veiligheidsvoorschriften. Zie 'Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen' voor veiligheidsinformatie.

17. Reinig het QIASymphony SP-instrument.

Volg de onderhoudsinstructies in de gebruikershandleidingen die met uw instrument zijn meegeleverd. Zorg dat u de tipbeveiligingen regelmatig reinigt om het risico van kruisbesmetting tot een minimum te beperken.

18. Sluit de laden van het apparaat en schakel het QIASymphony SP-instrument uit.

Kwaliteitscontrole

Elke partij van de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit wordt, in overeenstemming met het ISO-gecertificeerde kwaliteitsbeheersysteem van QIAGEN, getest tegen vooraf vastgestelde specificaties om een consistente kwaliteit van het product te waarborgen.

Beperkingen

De prestaties van het systeem zijn vastgesteld in prestatiebeoordelingsonderzoeken voor het zuiveren van ccfDNA in plasma dat afkomstig is van humaan veneus volbloed dat wordt afgenomen in PAXgene Blood ccfDNA Tubes.

De prestatiekenmerken van de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit zijn vastgesteld met 18S ribosomale en DYS14 Y-chromosomale ccfDNA-fragmenten in plasma.

Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de werking van het systeem te controleren voor procedures die in het eigen laboratorium worden gebruikt en die niet zijn opgenomen in de prestatiebeoordelingsonderzoeken van QIAGEN en PreAnalytiX.

Om het risico van een negatieve invloed op de diagnostische resultaten zo klein mogelijk te houden, moeten de juiste controles worden gebruikt voor vervolgtoeepassingen. Gegenereerde diagnostische resultaten moeten worden geïnterpreteerd in combinatie met overige klinische bevindingen of laboratoriumresultaten.

Gids voor probleemoplossing

Deze gids voor probleemoplossing kan helpen bij het oplossen van problemen die kunnen optreden. Ga voor contactgegevens en een lijst met veelgestelde vragen naar de productpagina op www.PreAnalytiX.com of www.qiagen.com.

| Opmerkingen en suggesties | |
|--|---|
| Algemeen werk | |
| a) Foutmelding op het aanraakscherm | Als tijdens een protocolrun een foutmelding wordt weergegeven, raadpleeg dan de gebruikershandleidingen van uw apparaat. |
| b) Variërend eluaatvolume na runs die 's nachts worden uitgevoerd | Om de doorvoer te optimaliseren ondersteunt de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit het 's nachts verwerken van monsters door het koelen van eluaten op het Qiasymphony SP-instrument. Bij lange koeltijden kunnen eluaatvolumes afhankelijk van de temperatuur en vochtigheid in het laboratorium veranderen. Als het gekozen volume bijvoorbeeld 60 µL was bij 15-25 °C en 30-60% vochtigheid, kan het volume na 12 uur opslag op het instrument binnen het bereik van 50-85 µL liggen. |
| Cryoprecipitaten na het ontdooien van plasmamonsters | |
| a) In het plasma vormen zich cryoprecipitaten. | Om de vorming van cryoprecipitaten te voorkomen, kan de plasma worden gedurende 30 minuten op 30 °C worden ontdooid, in plaats van op kamertemperatuur. Niet ontdooien bij lage temperaturen (bijv. 4 °C). Meng de buisjes na het ontdooien 30 seconden met de vortexmixer. |
| b) Een lage ccfDNA-opbrengst uit plasma na verwijdering van cryoprecipitaten | Het plasma niet centrifugeren om cryoprecipitaten te verwijderen, omdat deze ccfDNA kunnen bevatten. |
| Onvoldoende plasmavolume van PAXgene Blood ccfDNA Tubes | |
| a) Er is minder dan 10 mL bloed afgenomen in de PAXgene Blood ccfDNA Tube. | Waarborg dat 10 mL bloed wordt afgenomen in de PAXgene Blood ccfDNA Tube. Zie de gebruiksaanwijzing van de PAXgene Blood ccfDNA Tube. |
| b) Hoge celfractie | Hoge celfractie (hematocriet) in humaan volbloed (bijvoorbeeld boven 51% voor mannen of 47% voor vrouwen) kan leiden tot een lager plasmavolume. |
| c) Lage plasmaopbrengst na centrifugeren | Langere opslag- en transporttijden van het bloed of andere dan de gespecificeerde centrifugeeromstandigheden kunnen van invloed zijn op de plasmaopbrengst. |

| Opmerkingen en suggesties | |
|--|--|
| Precipitaat in de container van een geopende reagenscartridge (RC) in de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit | |
| a) Verdamping van buffer | Overmatige verdamping kan leiden tot verhoogde zoutconcentraties in buffers. Verwijder de RC. Zorg dat u de containers met buffers van een gedeeltelijk gebruikte RC goed afsluit met sealstrips voor hergebruik wanneer ze niet worden gebruikt voor zuivering. |
| b) Opslag van RC | Als een RC beneden 15 °C wordt bewaard, kunnen precipitaten worden gevormd. |
| Lage opbrengst van ccfDNA | |
| a) De magnetische deeltjes waren niet volledig geresuspendeerd | Voordat u de procedure start, dient u ervoor te zorgen dat de magnetische deeltjes volledig zijn geresuspendeerd. Vortex vóór gebruik gedurende minimaal 3 min. Onvolledige resuspensie kan leiden tot pipetteerfouten. |
| b) De pipettip is verstopt door onoplosbaar materiaal | Onoplosbaar materiaal is niet uit het monster verwijderd voordat de QIASymphony SP-instrument zuiveringsprocedure werd gestart. |
| c) Het monstermateriaal bevat een lage concentratie ccfDNA | Door zeer lage hoeveelheden ccfDNA in plasmamonsters kan de meting van de ccfDNA-concentratie, afhankelijk van de gebruikte kwantificeringsmethode, lastig zijn. Het gebruik van gevoelige qPCR wordt aanbevolen om de ccfDNA-concentratie in eluaten te controleren. |
| d) RC niet weer goed gesloten | Uitwisseling met omgevingslucht kan leiden tot verminderde stabiliteit van buffers, en daarmee tot verlaagde efficiëntie van ccfDNA-extractie, met een gedeeltelijk gebruikte RC. Zorg dat u voorzichtig de containers met buffers van een gedeeltelijk gebruikte RC goed afsluit met sealstrips voor hergebruik wanneer ze niet worden gebruikt voor zuivering. |
| Lage ccfDNA-prestaties bij latere toepassingen | |
| a) Door vacuümcentrifugering geconcentreerd eluaat | Concentreer het eluaat niet met behulp van vacuümcentrifugering (bijv. in een SpeedVac® of een soortgelijk instrument). Dit kan leiden tot degradatie als gevolg van hoge temperaturen en geconcentreerde zouten in het eluaat, die latere toepassingen kunnen verstoren. |
| b) Carry-over van bead | In het algemeen worden magnetische deeltjes niet overgedragen naar eluaten. Als er overdracht plaatsvindt, zullen de magnetische deeltjes in het eluaat de meeste vervolgt toepassingen niet negatief beïnvloeden. Als er zeer hoge hoeveelheden eluaten nodig zijn voor bepaalde latere assays, kunnen eluaten worden afgedraaid en worden overgebracht naar een schoon buisje. |











Opmerkingen en suggesties

Geen/onvolledige overbrenging van monsters

| | | |
|----|--|--|
| a) | Er is een onjuist monstervolume geladen voor standaardprotocollen. | Als er minder dan het gespecificeerde monstervolume is geladen, is er een verhoogd risico dat onduidelijke vlaggen aan het monster worden toegekend, of dat het monster niet wordt overgebracht (ongeldige vlag). Laad de juiste hoeveelheid monster zoals beschreven in het bijbehorende protocolblad en lijst met laboratoriummaterialen. |
| b) | Luchtballen of schuim in de monsterbuis | Luchtballen of schuim in de monsterbuis en/of de monsterinvoerbus kunnen leiden tot een onjuiste vloeistofniveaudetectie en vervolgens tot onvolledig overbrengen van het monster. Verwijder luchtballen uit de monsterbuis. |

Symbolen

De volgende symbolen kunnen in de gebruiksaanwijzing of op de verpakking en etiketten zijn weergegeven. Aanvullende symbolen worden uitgelegd in Inhoud van de kit (pagina 9).

| Symbol | Symboldefinitie |
|---|---|
|  $\Sigma <N>$ | Bevat voldoende reagentia voor $<N>$ tests Geeft het totale aantal IVD-tests aan dat met de IVD kan worden uitgevoerd. |
|  | Uiterste gebruiksdatum |
|  | In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel |
|  | CE-markering. Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese regelgeving 2017/746 inzake in-vitrodiagnostische medische hulpmiddelen. |
|  | Catalogusnummer |
|  | Partijnummer |
|  | Materiaalnummer (m.b.t. labeling van componenten) |
|  | Componenten (d.w.z. een lijst met wat in de verpakking zit) |
|  | Bevat (inhoud) |
|  | Aantal (m.b.t. flacons, flessen) |
|  | Global Trade Item Number (Artikelnummer wereldhandel) |
| Rn | 'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing (Handleiding); 'n' is het revisienummer |



Temperatuurbepering



Fabrikant



Raadpleeg de gebruiksaanwijzing



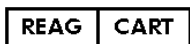
Voorzichtig



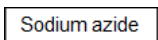
Proteïnase K



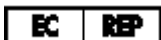
Wellnummer (d.w.z. RC-well)



Reagenscartridge



Natriumazide



Europese gemachtigde vertegenwoordiger in
overeenstemming met Verordening (EU) 2017/746.

Bijlage: Kwantificering van ccfDNA

Vanwege zeer lage concentraties ccfDNA in monstermateriaal wordt het meten van DNA met een spectrofotometer niet aanbevolen. Om de concentratie van ccfDNA te bepalen, moet een gevoelige en nauwkeurige kwantitatieve assay op basis van fluorescentie, of een real-time PCR-assay worden gebruikt.

Als er magnetische deeltjes moeten worden verwijderd, zet de buis met het DNA dan op een geschikte magnetische scheider (bijvoorbeeld de QIAGEN 12-Tube Magnet, cat.nr. 36912) totdat de magnetische deeltjes zijn gescheiden.

Indien er DNA aanwezig is in de microtiterplaten moet de microtiterplaat op een geschikte magnetische scheider geplaatst worden (bijvoorbeeld de QIAGEN 96-Well Magnet Type A, cat.nr. 36915) totdat de magnetische deeltjes zijn gescheiden. Als er geen geschikte magnetische scheider beschikbaar is, centrifugeer de buis met het DNA dan 1 minuut op maximale snelheid in een microcentrifuge om eventueel nog aanwezige magnetische deeltjes in een pellet te verzamelen.

Bestelgegevens

| Product | Inhoudsopgave | Cat.nr. |
|--|--|---------|
| PreAnalytiX | | |
| QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192) | Bevat 2 RC's, proteïnase K-buisjes en accessoires | 768566 |
| PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)(100) | 100 buisjes: 16 × 100 mm, 1,5 mL additief, 10 mL bloedafnamevolume | 768165 |
| QIAGEN | | |
| QIASymphony SP instrument | QIASymphony monsterbereidingsmodule, 1 jaar garantie op onderdelen en arbeidsloon | 9001297 |
| Verwante producten van QIAGEN | | |
| Proteinase K (10 mL) | 1 × 10 mL-fles | 19134 |
| Reagent Cartridge Holder (2) | RC-houder voor gebruik in combinatie met het QIASymphony SP-instrument | 997008 |
| Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym | Koeladapter voor buisjes van 2 ml met schroefdop. Voor gebruik in de lade 'Eluate' (Eluaat) van het QIASymphony SP-instrument | 9020674 |
| Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym | Koeladapter voor EMT-rekken. Voor gebruik in de lade 'Eluate' (Eluaat) van het QIASymphony SP- instrument | 9020730 |
| Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym | Koeladapter voor 1,5 mL Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock-buizen. Voor gebruik in de lade 'Eluate' (Eluaat) van het QIASymphony SP- instrument | 9020731 |
| Sample Prep Cartridges, 8-well (336) | 8-wells monsterbereidingscartridges voor gebruik met het QIASymphony SP-instrument | 997002 |

| Product | Inhoudsopgave | Cat.nr. |
|--------------------------------------|---|-----------------|
| 8-Rod Covers (144) | 8-Rod Covers voor gebruik met het QIASymphony SP-instrument | 997004 |
| Filter-Tips, 200 µL (1024) | Wegwerpfiltertips, in een rek; (8 × 128). Voor gebruik in combinatie met de QIAcube [®] - en QIASymphony SP/AS-instrumenten | 990332 |
| Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024) | Wegwerpfiltertips, in een rek; (8 × 128). Voor gebruik in combinatie met de QIASymphony SP/AS-instrumenten | 997024 |
| Tip Disposal Bags (15) | Afvalzakken voor tips, voor gebruik met het QIASymphony SP-instrument | 9013395 |
| 12-Tube Magnet | Magneet voor het scheiden van magnetische deeltjes in buisjes van 12 × 1,5 mL of 2 mL | 36912 |
| 96-Well Magnet Type A | Magneet voor het scheiden van magnetische deeltjes in wells van 96-wells-platen, 2 × 96-Well Microplates FB | 36915 |
| Reuse Seal Set (20) | Afdichtingssets voor hergebruik, om gedeeltelijk gebruikte QIASymphony RC's af te sluiten | 997006 |
| Elution Microtubes CL (24 × 96) | Niet-steriele buisjes van polypropyleen (0,85 ml maximumcapaciteit, minder dan 0,7 ml opslagcapaciteit, 0,4 ml elutiecapaciteit); 2304 in rekken van 96; inclusief doppenstrips | 19588 |
| Caps for Elution Microtubes (50 × 8) | Dopjes voor Elution Microtubes (50 × 8) | 19591 |
| 14 mL Falcon Tube | Polystyreen rondebodemuisje 17 × 100 mm gebruikt als monsterdrager voor het QIASymphony SP-instrument | Corning, 352051 |

Geschiedenis van herziening document

| Revisie | Beschrijving |
|-------------------|---|
| R1, mei 2021 | Eerste uitgave |
| R2, mei 2022 | In sommige gevallen is "(CE-IVD)" verwijderd. De tabel met inhoud van de kit is bijgewerkt. www.PreAnalytiX.com met betrekking tot waar informatiebronnen kunnen worden gevonden. "Specimens" is gespecificeerd als "bloedspecimens" in het gedeelte Veiligheidsinformatie. "Gooi monster- en assayafval weg" is gewijzigd in "Gooi biologisch gevaarlijke materialen en kitafval weg" in het gedeelte Veiligheidsinformatie. De paragrafen "A) Plasmabereiding uit bloed voor standaardprotocollen" en "B) Plasmabereiding uit bloed voor gebruik met primaire buisjes op het QIASymphony SP-instrument" zijn bijgewerkt. |
| R3, februari 2023 | Adres van PreAnalytiX GmbH veranderd van 'Feldbachstrasse' naar 'Garstligweg 8'. Update van gedeelte Voorzorgsmaatregelen. Toegevoegde informatie voor noodgevallen in het gedeelte Veiligheidsinformatie. Gecorrigeerd catalogusnummer van Proteïnase K(100 mL) in Bestelgegevens. Wijzigingen in layout en bewerkingen. |

Opmerkingen

Opmerkingen



Zie de (gebruikers) handleiding van de betreffende PreAnalytiX®- en QIAGEN®-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules. PreAnalytiX en QIAGEN Handleidingen en gebruikershandleidingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische dienst van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Ga voor meer informatie naar: www.PreAnalytiX.com

HB-2866-003 02/2023

