

Juli 2023

Gebruiksaanwijzing (protocolblad) QIASymphony® SP-instrument

Voor de PreAnalytiX QIASymphony PAXgene® Blood ccfDNA Kit en PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube

PAXgene Blood ccfDNA IVD-protocollen:

PAXcircDNA_2400, PAXcircDNA_4800, PAXcircDNA_PrimaryTube_2400, en PAXcircDNA_PrimaryTube_4000

Versie 1

IVD

Voor in-vitrodiagnostisch gebruik



REF

768566



PreAnalytiX GmbH
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Zwitserland

EC

REP

R4

MAT

Handelsmerken: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH)
QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group)
BD™ (Becton Dickinson and Company)
Corning®, Falcon® (Corning, Inc.)
Eppendorf®, LoBind® (Eppendorf AG)
Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.)
Starlab® (Starlab International GmbH).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

HB-2866-S01-004 © 2023 PreAnalytiX GmbH. Tenzij anders vermeld, zijn PreAnalytiX, het PreAnalytiX-logo en alle overige handelsmerken eigendom van PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

PreAnalytiX-distributeurs

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

Algemene informatie

Voor in-vitrodiagnostisch 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.

De zuiveringsprocedure is geoptimaliseerd voor gebruik met plasma dat afkomstig is van humaan veneus volbloed afgenomen in PAXgene Blood ccfDNA Tubes. Zie voor instructies voor het bloedafnameproces de gebruiksaanwijzing van de PAXgene Blood ccfDNA Tube op de productpagina (www.preanalytix.com).

Er zijn vier verschillende protocollen opgesteld voor geautomatiseerde isolatie van ccfDNA in plasma dat afkomstig is van humaan veneus volbloed afgenomen in PAXgene Blood ccfDNA Tubes. In de standaardversies kunnen de monsterinvoervolumes van 2,4 of 4,8 mL plasma worden geselecteerd. Daarnaast kan met protocollen voor het hanteren van primaire buisjes de PAXgene Blood ccfDNA Tube rechtstreeks op het QIASymphony SP-instrument worden geplaatst. Protocollen voor het hanteren van primaire buisjes zijn beschikbaar voor invoervolumes 2,4 en 4,0 mL plasma (zie de tabellen op de volgende pagina's).

Elk plasmavolume dat wordt gebruikt voor de extractie van ccfDNA vereist het relevante monsterinvoervolume, met inbegrip van dood volume en het relevante protocolscript zoals is weergegeven in tabel 1.

Tabel 1. Protocoloverzicht

| Monstermateriaal | Humaan plasma afkomstig uit veneus volbloed dat is afgenomen met PAXgene Blood ccfDNA Tubes | | | |
|---------------------------------------|---|---|---|--|
| Kit | QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)(192), cat.nr. 768566 | | | |
| Softwareversie | Versie 5.0 of hoger | | | |
| Softwareconfiguratie voor IVD-gebruik | Standaardprofiel 1 | | | |
| Protocollen | Protocollijn | Monsterinvolumen (incl. dood volume) (mL) | Monstervolume gebruikt voor ccfDNA-extractie (mL) | (Assay Control_) Protocolnaam |
| | Standaard | 2,8 5,3 | 2,4 4,8 | (ACS_) PAXcircDNA_2400 (ACS_) PAXcircDNA_4800 |
| | Hanteren van primaire buisjes | in overeenstemming met selectietool | 2,4 4,0 | (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400 (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000 |

Plasmabereiding kon worden uitgevoerd met behulp van (A) het standaardprotocol met dubbele centrifugatie of (B) hanteren van primaire buisjes: rechtstreeks verwerken van de eenmalige enkel-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) met 1600–3000 × 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: meng voor de beste prestaties het monster door het drie keer om te draaien en de buisjes vooraf de verwerking weer op kamertemperatuur te laten komen, indien de monsters vooraf het centrifugeren gekoeld worden bewaard.

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 min bij kamertemperatuur (15-25 °C) met 1600-3000 × g met behulp van een gebalanceerde centrifuge.

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

4. Pipetteer het benodigde plasmavolume (zie gedeelte "Monstervolume", pagina 9) in een polystyreen rondbodembuisje van 14 mL, 17 × 100 mm, Let daarbij op dat u niet het residuele bloedcelpellet verstoord, indien aanwezig.
5. Breng de rondbodembuis 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 voor dat er geen schuim wordt gevormd in of op het oppervlak van plasmamonsters. Schuim of luchtballen op monsters kunnen ertoe leiden dat een verkeerd monstervolume wordt gepipetteerd.

Opmerking: Na het overbrengen van plasma in een secundair buisje, 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: laat plasmamonsters voor de run op kamertemperatuur komen (15-25 °C) als deze vooraf zijn opgeslagen (bijv. bewaard bij 2-8 °C of bevroren bij -20 °C of -80 °C).

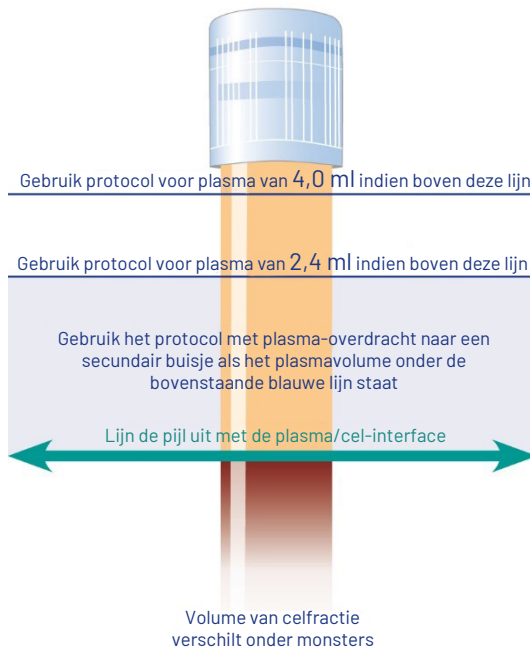
B) Plasmabereiding uit bloed voor gebruik met primaire buisjes op het QIASymphony SP-instrument

1. Centrifugeer de PAXgene Blood ccfDNA Tube gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur (15–25 °C) met $3000 \times g$ 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: meng voor de beste prestaties het monster door het drie keer om te draaien en de buisjes vooraf de verwerking weer op kamertemperatuur te laten komen, indien de monsters vooraf het centrifugeren gekoeld worden bewaard.

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 1). 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.

Bepaal het optimale protocol om PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) rechtstreeks te verwerken op het QIASymphony SP-instrument.



Afbeelding 1. Bepalen van plasmavolume met behulp van de PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (Deze afbeelding dient enkel ter illustratie. Niet uitdraaien, gezien de werkelijke maten afwijken: niet voor gebruik met monsters).

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 op duidelijke scheiding voordat u het buisje in het instrument plaatst.

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

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. In het geval dat er lagere plasmavolumes dan 2,8 en 5,3 mL beschikbaar zijn, kan middels de **Less Sample-modus** (Kleiner monster) dat in het protocol is geïntegreerd worden gebruikt om lagere plasmavolumes over te brengen. In dat geval wordt er minder monster door het instrument overgebracht. Wat het verschil in gepipetteerd plasmavolume is, wordt vastgelegd in het resultaatbestand. 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 mL (PAXcircDNA 2400 protocol) en 4,1 mL (PAXcircDNA 4800 protocol). 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 en beschreven in gedeelte 'B) Plasmabereiding uit bloed voor gebruik met primaire buisjes op het QIASymphony SP-instrument' op pagina 6.

De lade 'Sample' (Monster)

Tabel 2. Informatie voor het opzetten van de monsterlade*

| | |
|---|---|
| Monstertype | Humaan plasma afkomstig uit veneus volbloed dat is afgenomen met de PAXgene Blood ccfDNA Tubes |
| Monsterinvoervolume (incl. dood volume) | 2,8 mL (PAXcircDNA_2400); 5,3 mL (PAXcircDNA_4800) Zie PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Zie PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000) |
| Primaire monsterbuizen | 10 mL PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 × 100 mm (BD™, cat.nr. 768165) |
| Secondaire monsterbuizen | 14 mL, 17 × 100 mm polystyrene rondbodem (Corning®, cat.nr. 352051) |
| Inzetten | n.v.t. |
| Overige | Proteïnase K vereist in Tubes 14 mL, 17 × 100 mm polystyrene rondbodembuisjes (Corning, cat.nr. 352051); gebruik alleen posities 1 en 2 van de buisjesdrager (voor slot A) |

* Zie ook de lijst met laboratoriummateriaal (Labware) onder het tabblad 'Product Resources' op www.qiagen.com of het tabblad 'Resources' op www.preanalytix.com.

n.v.t., niet van toepassing.

Monsterbuisjes voor buisjesdrager

Tabel 3. Informatie voor het opzetten van de buisjesdrager*

| Naam op aanraak-scherm | Leverancier | Materiaal | Voorbeeldcat.nr. | Inzet | PAXcirc DNA_2400 | PAXcirc DNA_4800 | PAXcircDNA_PrimaryTube_2400 | PAXcirc DNA_Primary Tube_4000 |
|---|----------------------|--|------------------|------------------------|--|--|---|-------------------------------|
| BD #352051 FalconPP 17 × 100 | Corning [†] | 14 mL Falcon® polystyrene rondbo- dembuis 17 × 100 mm | 352051 | Geen inzet nodig | 2,8 mL [‡] 1,6 mL [§] (Enable Less Sample (Gebruik minder monster)- modus) | 5,3 mL [‡] 4,1 mL [§] (Enable Less Sample (Gebruik minder monster)- modus) | n.v.t. | n.v.t. |
| BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100 | BD | 10 mL PAXgene Blood ccfDNA Tube 16 × 100 mm | 768165 | Geen inzet nodig | n.v.t. | n.v.t. | Zie PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool | |

* Zie ook de lijst met laboratoriummateriaal (Labware) onder het tabblad 'Product Resources' op www.qiagen.com of het tabblad 'Resources' op www.prealanalytix.com.

[†] Voorheen geleverd door BD.

[‡] Minimaal monstervolume nodig per monster per protocol (met inbegrip van dood volume); stollingsdetectie mogelijk.

[§] Lager minimum monstervolume middels **Enable Less Sample-modus** (Kleiner monster toestaan). **Enable Less Sample-modus** (Kleiner monster toestaan) is ontworpen om alle beschikbare vloeistof te gebruiken in combinatie met vloeistofpeildetectie en stollingsdetectie. **Enable Less Sample-modus** (Kleiner monster toestaan) leidt tot het markeren van monsters als **onduidelijk**.

n.v.t., niet van toepassing.

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

| | |
|---------------------------|--|
| Positie A1 en/of A2 | Reagenscartridge |
| 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)

| | |
|------------------------------|----------------------------|
| Verpakkingsdooshouder 1-4 | Lege verpakkingsdozen |
| Afvalzakhouder | Afvalzak |
| Houder afvalvloeistoffenfles | Lege afvalvloeistoffenfles |

De lade 'Eluate' (Eluaat)

| Leverancier | Materiaal | Voorbeeldcat.nr. | Categorie | Naam op aanraakscherm | Adapter op Elutieslot 1 (gekoeld) |
|-------------|--|--------------------------------|--|--|--|
| QIAGEN | Elution Microtubes CL 96 | Meegeleverd met de kit (19588) | Deep Well | QIA#19588* EMTR | Elution Microtube Rack QS |
| Eppendorf® | 1,5 mL DNA LoBind® Tube | 0030108,051 | Tube,1,5 mL | EP#0030108.051** T1.5 Snap Cap | Snap-Cap Microtube |
| Sarstedt® | 1,5 mL Microtube, PP, zonder starand | 72607 | Tube, 1,5 mL / Tube, 1,5 mL Adapter V1 (no BC) | SAR#72.607* T1.5 Screw/SAR#72.607** T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS |
| Sarstedt | 2,0 mL Microtube, PP, zonder starand | 72693 | Tube 2,0 mL / Tube_2.0 AdapterV1 (no BC) | SAR#72.693 *T2.0 Screw | Microtube Screw Cap QS |
| Starlab® | 1,5 mL Microtube, conisch buisje met schaalverdeling, zonder starand | E1415-2231 | Tube, 1,5 mL / Tube_1,5 mL AdapterV1 (no BC) | SL#E1415-2231 *T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS, 24-wells, cat.nr. 9020674 (koelslot 1) |
| | | | | SL#E1415-2231 **T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS (koelslot 1) |
| | | | | SL#E1415-2231 T1.5 Screw | 1,5/2,0 mL QS (niet-koelende slots 2-4) |

* Geeft laboratoriummateriaal aan dat gekoeld kan worden met een koeladapter met streepjescode (overdraagbaar en geschikt voor gebruik op QIASymphony AS).

** Geeft laboratoriummateriaal aan dat gekoeld kan worden met een koeladapter zonder streepjescode (niet overdraagbaar en niet geschikt voor gebruik op QIASymphony AS).

Benodigde plastic artikelen

| Plastic artikelen | PAXcircDNA_2400 | | PAXcircDNA_4800 | |
|----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | PAXcircDNA PrimaryTube_2400 | | PAXcircDNA PrimaryTube_4000 | |
| | Eén batch, 24 monsters* | Twee batches, 48 monsters* | Eén batch, 24 monsters* | Twee batches, 48 monsters* |
| Disposable filter-tips, 200 µl† | 24 | 48 | 24 | 48 |
| Disposable filter-tips, 1500 µl† | 64 | 128 | 104 | 200 |
| Sample prep cartridges§ | 15 | 30 | 18 | 36 |
| 8-Rod Covers¶ | 3 | 6 | 3 | 6 |
| | Drie batches, 72 monsters* | Vier batches, 96 monsters* | Drie batches, 72 monsters* | Vier batches, 96 monsters* |
| Disposable filter-tips, 200 µl† | 72 | 96 | 72 | 96 |
| Disposable filter-tips, 1500 µl† | 192 | 256 | 296 | 392 |
| Sample prep cartridges§ | 45 | 60 | 54 | 72 |
| 8-Rod Covers¶ | 9 | 12 | 9 | 12 |

* Bij gebruik van minder dan 24 monsters per batch zijn minder wegwerpbare filtertips per run nodig. Voor het uitvoeren van meerdere voorraadscans zijn extra wegwerpbare filtertips nodig.

† Er zitten 32 filtertips in een filtertiprek.

‡ Het aantal benodigde filtertips is inclusief tips voor 1 voorraadscan per reagenscartridge.

§ Er zitten 28 monsterbereidingscartridges in een verpakkingsdoos.

¶ Er zitten twaalf 8-Rod Covers in een verpakkingsdoos.

Opmerking: het aantal filtertips kan afwijken van het aantal dat op het aanraakscherm wordt weergegeven. Dit is afhankelijk van de instellingen. Wij raden aan om het maximaal mogelijke aantal tips te plaatsen.

Elutievolume

| 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.

Bereiding van proteïnase K in positie 1 (en, indien vereist, in positie 2) van slot A

De QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA 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 | 11.660† |
| 96 | 11.660† | 23.320† |

* 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).

Revisiegeschiedenis van document

| Datum | Wijzigingen |
|---------|--|
| 04/2021 | Eerste uitgave |
| 05/2022 | {(CE-IVD) op sommige plekken verwijderd Een van de opmerkingen bij protocolstap 5 bij paragraaf 'A) Plasmabereiding uit bloed voor standaardprotocollen' bijgewerkt. Hoofdstuk 'Monstervolume' bijgewerkt. www.preanalytix.com toegevoegd met betrekking tot waar informatiebronnen kunnen worden gevonden. |
| 07/2023 | Adres van PreAnalytiX GmbH veranderd van 'Feldbachstrasse' naar 'Garstligweg 8'. Bijgewerkt naar nieuwe merkrichtlijnen. |



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.preanalytix.com en www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische dienst van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

**Better samples
More to explore**

Bekijk meer informatie op: www.preanalytix.com

HB-2886-S01-004 07/2023

 **PreAnalytiX**
A QIAGEN / BD Company