

QIAsymphony® DSP Circulating DNA Kit

Gebruiksaanwijzing (Protocolblad)

circDNA_1000_DSP_V1, circDNA_2000_DSP_V3 en circDNA_4000_DSP_V3

Versie 2



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik

Voor gebruik met QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Duitsland

R2

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

Algemene informatie

Voor in-vitrodiagnostisch gebruik.

Dit protocol is bedoeld voor de zuivering van humaan circulerend celvrij DNA uit verse of bevroren humaan plasma en urine met behulp van de QIASymphony DSP Circulating DNA Kit en het QIASymphony SP-instrument.

Kit	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		
Catalogusnr.	937556		
Monstermateriaal	Humaan plasma: <ul style="list-style-type: none">• Uit bloedafnamebuisjes met ccfDNA profielstabilisatoren (bijvoorbeeld Cell-Free DNA BCT[®], Streck[®])• Uit bloedverzamelbuizen zonder ccfDNA profielstabilisatoren (bijvoorbeeld EDTA) Humane urine: <ul style="list-style-type: none">• Met cfdDNA profielstabilisatoren• Zonder cfdDNA profielstabilisatoren		
Naam protocol	circDNA_1000_DSP_V1	circDNA_2000_DSP_V3	circDNA_4000_DSP_V3
Standaard assaycontrolezet	ACS_circDNA_1000_DSP_V1	ACS_circDNA_2000_DSP_V3	ACS_circDNA_4000_DSP_V3
Elutievolume	60 µL	60 µL	60 µL
Vereiste softwareversie	Versie 5.0 of hoger	Versie 4.0 of hoger	Versie 5.0 of hoger
Vereiste softwareconfiguratie voor IVD-gebruik	Standaardprofiel 1	Standaardprofiel 1	Standaardprofiel 1

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (Safety Data Sheets; SDS) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

De lade 'Sample' (Monster)

Monstertype	Humaan plasma en urine (zie "Bereiding van monstermateriaal")
Monstervolume	Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis 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 .
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 www.qiagen.com .
Inzetstukken	Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis 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 .
Overige	Proteïnase K moet in slot A (positie 1, 2 en/of 3) worden toegevoegd

n.v.t. = niet van toepassing.

Vorbereitung van proteïnase K in de lade 'Sample' (Monster)

De QIASymphony DSP Circulating DNA Kit bevat gebruiksklare proteïnase K-oplossing die bij kamertemperatuur kan worden bewaard.

Opmerking: Wissel proteïnase K-flessen niet tussen verschillende partijnummers van kits. Gebruik alleen de proteïnase K-oplossing die is meegeleverd in de bijbehorende kit.

Opmerking: Buizen met proteïnase K worden in een buizendrager geplaatst. De buis met proteïnase K moet bij voorkeur in positie 1 geplaatst worden. Als er meerdere buizen geladen moeten worden, moeten deze in de posities 1, 2 en/of 3 in slot A van de lade 'Sample' (Monsterlade) worden geplaatst. Zie voor het vereiste type buizen de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com.

Aantal monsters*	circDNA_1000_DSP (µL)	circDNA_2000_DSP (µL)	circDNA_4000_DSP (µL)
8	1580	1980	2860
24	2540	3740	6380
48	3980	6380	11.660
72	5420	9020	18.040 [†]
96	6860	11.660	23.320 [†]

* Voor elk monster is 60 µL voor circDNA_1000_DSP, 110 µL voor circDNA_2000_DSP of 220 µL voor circDNA_4000_DSP nodig, plus een extra dood volume van 1100 µL [(n x 60, 110 of 220 µL) + 1100 µL].

[†] Voor circDNA_4000_DSP: Als er meer dan 48 monsters worden verwerkt, gebruik dan een tweede buis. Het maximale laadvolume per buis is 11.660 µL. Voor de tweede buis is een extra dood volume van 1100 µL nodig.

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

Positie A1 en/of A2	Reagenscartridge (RC)
Positie B1	n.v.t.
Tiprekhouder 1-18	Wegwerpbaar 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	Afvalvloeistoffenfles

De lade 'Eluate' (Eluaat)

Elutierek (het wordt aangeraden om slot 1, de koelpositie, te gebruiken)

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.

Benodigde plastic artikelen

Protocol circDNA_1000_DSP

Kunststof artikelen	Een batch	Twee batches	Drie batches	Vier batches
	24 monsters*	48 monsters*	72 monsters*	96 monsters*
Disposable filter-tips, 200 µl [†]	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl [†]	64	120	176	232
Sample prep cartridges [‡]	15	30	45	60
8-Rod Covers [§]	3	6	9	12

* Wanneer minder dan 24 monsters per batch worden gebruikt, zijn minder wegwerpbare filtertips per run 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.

Protocol circDNA_2000_DSP

Kunststof artikelen	Een batch	Twee batches	Drie batches	Vier batches
	24 monsters*	48 monsters*	72 monsters*	96 monsters*
Disposable filter-tips, 200 µl [†]	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl [†]	64	120	176	232
Sample prep cartridges [‡]	15	30	45	60
8-Rod Covers [§]	3	6	9	12

* Wanneer minder dan 24 monsters per batch worden gebruikt, zijn minder wegwerpbare filtertips per run 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.

Protocol circDNA_4000_DSP

Kunststof artikelen	Een batch	Twee batches	Drie batches	Vier batches
	24 monsters*	48 monsters*	72 monsters*	96 monsters*
Disposable filter tips- 200 µl [†]	28	56	84	112
Disposable filter tips- 1500 µl [†]	104	200	298	394
Sample prep cartridges [‡]	18	36	54	72
8-Rod Covers [§]	3	6	9	12

* Wanneer minder dan 24 monsters per batch worden gebruikt, zijn minder wegwerpbare filtertips per run 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: de gegeven aantallen filtertips kunnen afwijken van de aantallen die op het aanraakscherm worden weergegeven. Dit is afhankelijk van de instellingen (bijvoorbeeld het aantal gebruikte interne controles per batch).

Elutievolume

Geselecteerd elutievolume

60 μ L

Initieel elutievolume

75 μ L

Het elutievolume wordt op het aanraakscherm geselecteerd. Het gemiddelde beschikbare elutievolume is $\geq 60 \mu\text{L}$. In individuele gevallen kan het uiteindelijke eluaatvolume voor enkelvoudige monsters tot $5 \mu\text{L}$ kleiner zijn dan het geselecteerde volume (bijv. $55 \mu\text{L}$). Bij gebruik van een geautomatiseerd assay-setupsysteem dat het eluaatvolume niet controleert voordat het eluaat wordt overgebracht, wordt aangeraden om het werkelijke eluaatvolume te controleren.

Bewaring van eluaten

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 Circulating DNA 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.

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 16 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.

Na de monsterbereiding kunnen eluaten maximaal 1 maand bij 2-8 °C worden bewaard, en maximaal 2 maanden bij -20 °C of -80 °C. Bevroren eluaten mogen niet vaker dan 3 maal worden ontdooid.

Bereiding van monstermateriaal

Opmerking: Monsterstabiliteit is sterk afhankelijk van verschillende factoren, en houdt verband met de specifieke latere toepassing. Deze stabiliteit is voor de QIASymphony DSP Circulating DNA 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.

Humaan plasma

Bij het gebruik van bloedafnamebuisjes met ccfDNA profielstabilisatoren moeten de instructies van de fabrikant voor het voorbereiden, opslaan, vervoeren en hanteren van het plasma worden opgevolgd. Bij gebruik van bloedafnamebuisjes zonder ccfDNA profielstabilisatoren moeten, indien beschikbaar, de instructies van de fabrikant van de betreffende onderzoeksprocedure voor het voorbereiden, opslaan, vervoeren en algemene hantering van plasma worden opgevolgd. Raadpleeg voor meer *informatie ISO 20186-3:2019 (E) Moleculaire in-vitro diagnostische onderzoeken – Specificaties voor processen voorafgaand aan het onderzoek voor veneus volbloed – Deel 3: Geïsoleerd circulerend celvrij DNA uit plasma*.

Onafhankelijk van de instructies van de fabrikant van de bloedverzamelbuisjes moet rekening worden gehouden met de volgende aspecten in overeenstemming met ISO 20186-3:2019 (E) voor geautomatiseerde ccfDNA-extractie uit plasma met behulp van de QIASymphony DSP Circulating DNA Kit en het QIASymphony SP-instrument.

Voor plasmavoorbereiding kunnen bloedmonsters zonder ccfDNA profielstabilisator worden gebruikt (bijvoorbeeld EDTA bloedafnamebuisjes). Ook kan plasma worden gebruikt uit buizen met ccfDNA profielstabilisator (bijvoorbeeld Cell-Free DNA BCT van Streck).

Het wordt aangeraden om de plasmascheiding onmiddellijk naar de bloedafname uit te voeren, wanneer EDTA of citraat als antistollingsmiddel wordt gebruikt.

Voor bepaalde downstream toepassingen kan het nodig zijn om nucleïnezuren uit blaasjes te verwijderen of te minimaliseren. In zulke gevallen wordt aangeraden om na de initiële plasmabereiding een high-speed centrifugatiestap uit te voeren bij 16.000 x g, gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur (15–25 °C).

Na monsterafname en centrifugering kan het plasma maximaal 7 dagen bij kamertemperatuur, en maximaal 14 dagen bij 2–8 °C worden bewaard. Voor langdurige opslag tot maximaal 24 maanden wordt aangeraden om aliquots in te vriezen bij -20 °C of bij -80 °C. Bevroren plasma mag niet vaker dan 3 maal worden ontdooid. Herhaald invriezen en ontdooien leidt tot denaturatie en precipitatie van eiwitten, hetgeen mogelijk resulteert in verminderde opbrengsten van circulerende celvrije nucleïnezuren. Het wordt aanbevolen plasma in een waterbad 30 minuten lang bij 30 °C te ontdooien. Als er cryoprecipitaten zichtbaar zijn in de monsters, moeten ze verwijderd worden voordat de monsters in het instrument geladen worden. Cryoprecipitaten kunnen worden opgelost door het monster te vortexen (zorg ervoor dat eventueel schuim dat aan de bovenkant zichtbaar is wordt verwijderd voordat het monster op het instrument wordt geladen). Cryoprecipitaten kunnen ook worden verwijderd door centrifugeren en overbrengen van het supernatant, zonder de pellets te verstoren, naar een secundaire monsterbuis (zie de lijst met laboratoriummaterialen die u kunt vinden onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com). Start onmiddellijk met de zuiveringsprocedure.

Humane urine

Vanwege de snelle afbraak van ccfDNA na urineafname, wordt sterk aangeraden om urinemonsters onmiddellijk te stabiliseren. Voor de QIASymphony DSP Circulating DNA Kit werden typische latere toepassingen gebruikt om aanbevelingen op te stellen voor de behandeling en stabilisatie van urine. Hoewel de kit wordt gebruikt als startpunt voor meerdere latere toepassingen, moet als onderdeel van de ontwikkeling van de latere toepassing de behandeling van urine voor elk van deze workflows worden bepaald. Bij het gebruik van een in de handel verkrijgbare cfDNA profielstabilisator de instructies van de fabrikant worden opgevolgd.

Gestabiliseerde humane urine

Gestabiliseerde urine kan maximaal 7 dagen bij kamertemperatuur (15–25 °C) of bij 2–8 °C worden bewaard. Voor langdurige opslag tot maximaal 24 maanden wordt aangeraden om aliquots in te vriezen bij -20 °C of bij -80 °C.

Gestabiliseerde urinemonsters hoeven niet te worden voorbehandeld. Het wordt aangeraden om urinemonsters na stabilisatie gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur (15-25 °C) te centrifugeren bij lage snelheid (1900 x g), om cellen voorafgaand aan de extractie van ccfDNA te verwijderen. Als er na het centrifugeren precipitaat zichtbaar is in supernatanten, verwarm de monsters dan in een waterbad tot 25 °C om de precipitaten op te lossen. Breng vóór het starten van een run gestabiliseerde urinemonsters over naar een secundaire monsterbuis, en plaatst deze buis vervolgens in de monsterdrager (zie de lijst met laboratoriummaterialen [labware] die te vinden is onder het tabblad 'Resources' [Hulpmiddelen] van de productpagina op www.qiagen.com).

Humane urine 'non-stabilized' (niet-gestabiliseerd)

Controleer voordat u een protocol start waarbij Buffer ATL moet worden gebruikt, of er in die buffer geen precipitaat is gevormd. Los het precipitaat indien nodig op door de buffer onder voorzichtig schudden te verwarmen in een waterbad op 70 °C. Zuig luchtballen van het oppervlak van Buffer ATL op.

Opmerking: Buffer ATL (4 x 50 mL, cat.nr. 939016) maakt geen deel uit van de QIASymphony DSP Circulating DNA Kit en moet afzonderlijk worden besteld.

Het wordt aangeraden om urinemonsters onmiddellijk na afname gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur (15–25 °C) te centrifugeren bij lage snelheid (1900 x g), om cellen te verwijderen. Niet-gestabiliseerde urinemonsters moeten worden voorbehandeld.

Belangrijk: Monsters moeten vóór het starten van de voorbehandeling op kamertemperatuur (15–25 °C) worden gebracht.

Belangrijk: Het centrifugeren en de voorbehandeling moeten binnen 4 uur na het afnemen van het urinemonster worden uitgevoerd.

- Meng 1500 µL urine (circDNA_1000_DSP) 2500 µL urine (circDNA_2000_DSP) of 4500 µL urine (circDNA_4000_DSP) met respectievelijk 150 µL- 250 µL of 450 µL Buffer ATL.
- Incubeer de monsters gedurende 1 uur bij kamertemperatuur (15–25 °C).
- Centrifugeer de monsters gedurende 10 minuten bij 1900 x g bij kamertemperatuur (15–25 °C).
- Als er na het centrifugeren precipitaat zichtbaar is in het supernatant, verwarm de monsters dan in een waterbad tot 25 °C om de precipitaten op te lossen.
- Breng het supernatant over naar een secundaire monsterbuis, en plaatst deze buis vervolgens in de monsterdrager (zie de lijst met laboratoriummaterialen [labware] die te vinden is onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com).

Belangrijk: De stabiliteit en integriteit van ccfDNA in niet-gestabiliseerde urine is beperkt. Het wordt aangeraden om maximaal één batch met 24 monsters per QIASymphony-run te laden, om de tijd dat de urinemonsters in het apparaat staan zo kort mogelijk te houden.

Belangrijke punten voordat de monsters worden geladen


















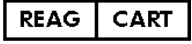
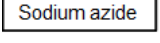


- Zorg dat er geen schuim wordt gevormd in of op de monsters.
- Monsters moeten vóór het starten van de run op kamertemperatuur (15–25 °C) worden gebracht.

Interfererende stoffen

Plasmamonsters met hoge concentraties gammaglobuline (> 30 g/L) kunnen een verminderde opbrengst van circulerend celvrij DNA opleveren.

Symbolen

De volgende symbolen worden in de gebruiksaanwijzing of op de verpakking en etiketten weergegeven:

Symbol	Symboldefinitie
	Bevat voldoende reagentia voor <N> reacties
	Uiterste gebruiksdatum
	Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese regelgeving 2017/746 inzake in-vitrodiagnostische medische hulpmiddelen.
	In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel
	Catalogusnummer
	Partijnummer
	Materiaalnummer (m.b.t. labeling van componenten)
	Bestanddelen
	Bevat
	Nummer
	Global Trade Item Number (Artikelnummer wereldhandel)
Rn	'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer
	Temperatuurbepierking
	Fabrikant
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Waarschuwing/voorzichtig
	Proteïnase K
	Wellnummer (d.w.z. reagenscartridge-well)
	Reagenscartridge
	Natriumazide
	Ethanol
	Uniek hulpmiddel-identificatienummer

Revisiegeschiedenis

Revisie	Beschrijving
R1, juni 2022	Versie 2, revisie 1 <ul style="list-style-type: none">• Update naar versie 2 voor naleving van IVDR• Bewoording voor Verwerking van specimens bijgewerkt om rekening te houden met ISO 20186-3:2019 (E) Moleculaire in-vitrodiagnostische onderzoeken — Specificaties voor processen voorafgaand aan het onderzoek voor veneus volbloed – Deel 3: Geïsoleerd circulerend celvrij DNA uit plasma
R2, januari 2023	Versie 2, revisie 2 <ul style="list-style-type: none">• Geüpdatet om BioScript voor 1 mL monstervolume toe te voegen (circDNA 1000 DSP)• Geüpdatet naar V3 voor circDNA_2000 en circDNA_4000

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 of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). De gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, moeten altijd als wettelijk beschermd worden beschouwd, zelfs als ze niet specifiek als zodanig zijn aangegeven.

01/2023 HB-3034-S01-002 © 2022 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.