

Mei 2021

Gebruiksaanwijzing (handleiding)

QIASymphony[®] PAXgene[®]
Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)



192

Versie 1



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik



768566



PreAnalytiX GmbH, Feldbachstrasse, CH - 8634
Hombrechtikon, Zwitserland



R1

1123518NL



A QIAGEN / BD Company

Handelsmerken: PAXgene®, PreAnalytiX® [PreAnalytiX GmbH]; QIAGEN®, QIAcube®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Corning®, Falcon® (Corning, Inc.); Eppendorf® (Eppendorf AG); SpeedVac® (Thermo Fisher Scientific of zijn dochterondernemingen). Gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd.

Beperkte licentieovereenkomst voor de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit

Door dit product te gebruiken, 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 het paneel bevinden. PreAnalytiX® geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten onderdelen van dit paneel te gebruiken of samen te stellen met onderdelen die niet bij het paneel 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 dit paneel en/of het gebruik ervan geen rechten van derden schenden.
3. Dit paneel en de onderdelen ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, opgeknaapt of doorverkocht.
4. PreAnalytiX doet in het bijzonder afstand van enige andere licenties die worden genoemd of geïmpliceerd, anders dan de uitdrukkelijk gestelde.
5. De koper en gebruiker van het paneel gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen en niemand anders toestaan stappen te ondernemen die tot bovenstaande verboden handelingen kunnen leiden of deze vergemakkelijken. PreAnalytiX mag de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst afdwingen bij de rechter en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten, inclusief advocaatkosten, verhalen bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht in verband met het paneel en/of de onderdelen ervan af te dwingen.

Zie voor bijgewerkte licentievoorwaarden www.qiagen.com en www.PreAnalytiX.com.

HB-2866-001 1123518 © 2021 PreAnalytiX GmbH, alle rechten voorbehouden.

Inhoud

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 bereiding van specimens.....	16
Procedure	21
Overzicht: Automatische zuivering van ccfDNA op het QIASymphony SP-instrument	21
Overzicht van het protocol	26
Protocol: Automatische zuivering van ccfDNA op het QIASymphony SP-instrument .	29
Kwaliteitscontrole.....	32
Beperkingen.....	32
Problemen oplossen	34
Symbolen	36

Bijlage: Kwantificering van ccfDNA.....	38
Bestelgegevens.....	39
Revisiegeschiedenis van document.....	41

Beoogd gebruik

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

De QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) maakt gebruik van de technologie van magnetische deeltjes voor de automatische isolatie en zuivering van ccfDNA uit menselijk plasma.

De QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) is bestemd voor in-vitrodiagnostisch gebruik door professionals, zoals technici en artsen die zijn opgeleid in moleculaire biologische technieken.

Beoogde gebruiker

Deze kit is bestemd voor professioneel gebruik.

Het product dient uitsluitend te worden gebruikt door personeel dat specifiek 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 (circulating cell-free DNA, ccfDNA) is doorgaans aanwezig in plasma als korte fragmenten (<1000 bp). De concentratie van ccfDNA in plasma is doorgaans laag (kan gaan van 1 tot 100 ng/ml) en varieert aanzienlijk tussen personen. De CE-gemarkeerde PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) in combinatie met de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) vormt een gestandaardiseerde workflow voor de afname, opslag en transport van bloed; de stabilisatie van DNA in een gesloten buis; en de daaropvolgende isolatie en zuivering van ccfDNA uit menselijk plasma met behulp van het QIAGEN® QIASymphony SP-instrument.

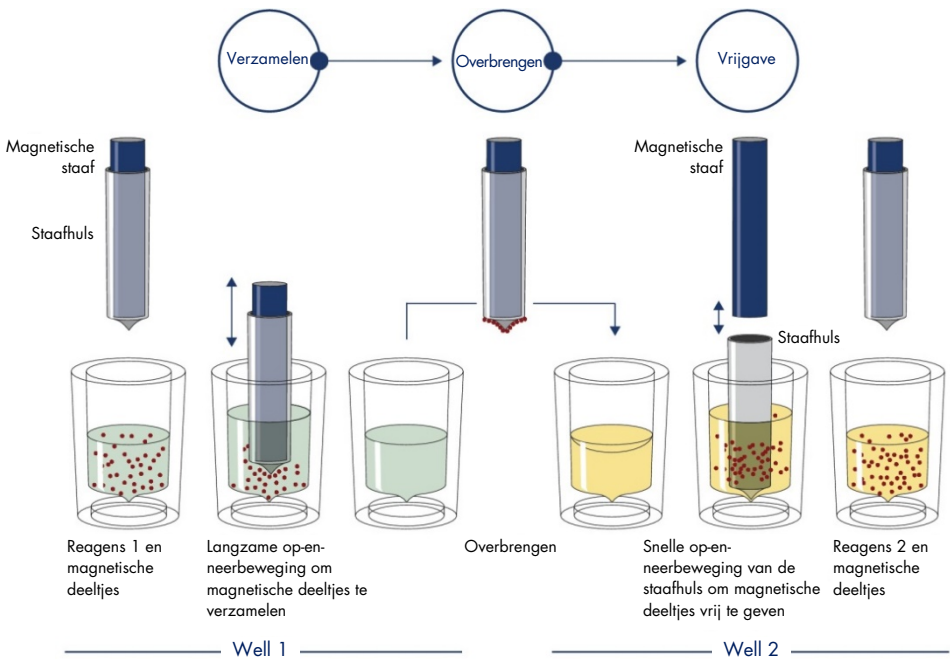
Protocollen op het QIASymphony SP-instrument worden aangeboden voor extractie van ccfDNA uit 2,4 en 4,8 ml plasma gegenereerd uit PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) door dubbele centrifugatie. Het plasma wordt overgebracht en verwerkt in een secundaire buis op het QIASymphony SP-instrument.

Als alternatief zijn protocollen voor hantering van primaire buizen op het QIASymphony SP-instrument beschikbaar voor een involume van 2,4 en 4 ml plasma. In dat geval is geen tweede centrifugatiestap of plasma-overdracht naar een secundaire buis nodig.

De technologie van magnetische deeltjes van de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit maakt de zuivering mogelijk van hoogwaardig ccfDNA dat vrij is van eiwitten, nucleasen en andere onzuiverheden. Het QIASymphony SP-instrument voert alle stappen van de zuiveringsprocedure uit. In één run kunnen maximaal 96 monsters, in batches van 24, worden verwerkt. Voor de isolatie van genomisch DNA (genomic DNA, gDNA) uit de cellulaire fractie met nuclease van bloed afgenomen in PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) op het QIASymphony SP-instrument raadpleegt u de instructies in de Gebruiksaanwijzing PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) (www.PreAnalytiX.com).

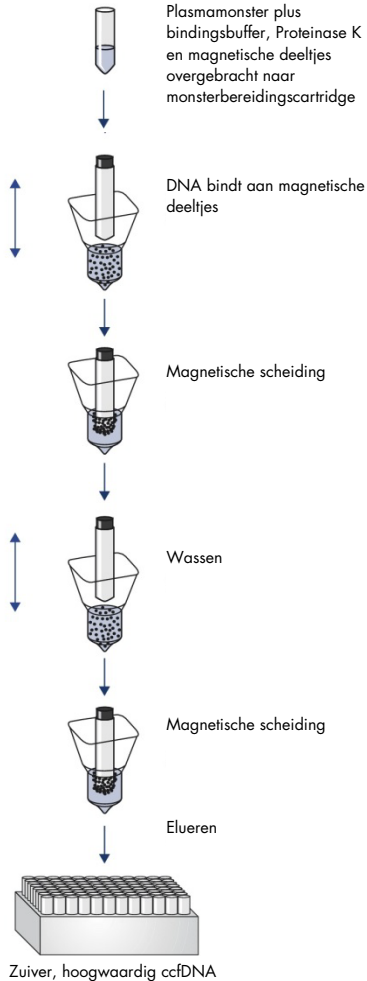
Principes van de procedure

In de technologie van het QIAAsymphony SP-apparaat worden de snelheid en efficiëntie van de opzuivering 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 infectieuze monsters is gegarandeerd. De procedure bestaat uit 3 stappen: binden, wassen en elueren (Afbeelding 2). De gebruiker kan kiezen uit verschillende volumes van de in te voeren monsters.



Afbeelding 1. Schematische weergave van het principe van het QIAAsymphony SP-instrument. Het QIAAsymphony SP-instrument verwerkt als volgt een monster dat magnetische deeltjes bevat: 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 malen herhaald. Het QIAAsymphony 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 (CE-IVD). ccfDNA-fragmenten worden geïsoleerd van plasma gegenereerd uit humaan veneus volbloed afgenomen in de PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Tijdens de eerste verwerkingsstap worden plasma-eiwitten afgebroken door Proteinase K, terwijl het ccfDNA bindt aan het oppervlak van de magnetische deeltjes. Drie wasstappen garanderen dat verontreinigingen worden verwijderd. Tot slot wordt het ccfDNA geëluëerd uit de magnetische deeltjes en is het klaar voor gebruik in vervolgtoeepassingen.

Meegeliverde materialen

Inhoud van de kit

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)		(192)		
Catalogusnr.		768566		
Aantal reacties		192		
Afkorting	Identiteit	Aantal	Actieve ingrediënten	Concentratie [%]**
RC	Reagent cartridge*† (reagenscartridge)	2	Niet-ionogeen reinigingsmiddel Magnetisch deeltje voor anionenuitwisseling NaOH Ethanol	≥0,5 – <10 [w/w] N.v.t. ≥0,05 – <0,1 [w/w] ≥70 – <90 [v/v]
PROTK	Proteinase K† (proteinase K)	5 x 10 ml	Proteinase K	≥1 – <3 % [w/w]
PL	Piercing lid (doorprikdeksel)	2	—	N.v.t.
RSS	Reuse Seal Set† (afdichtingsset voor hergebruik)	2	—	N.v.t.
	Elution Microtubes CL, racked* (elutie- microbuisjes CL, in rek)	2	—	N.v.t.
	Caps for Elution Microtubes* (doppen voor elutie-microbuisjes)	1 x (55 x 8)	—	N.v.t.
	Gebruiksaanwijzing (Handleiding)	1	—	N.v.t.
	PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	1	—	N.v.t.

* Bevat natriumazide als conserveermiddel.

† Zie pagina 36 voor een lijst symbolen en definities.

‡ Een Reuse Seal Set bevat 8 afdichtingsstrips voor hergebruik.

* Ook afzonderlijk verkrijgbaar, zie Bestelgegevens.

** Maximale concentratie in enkele well.

Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Wanneer u werkt met chemische en biologische monsters moet u altijd de universele voorzorgsmaatregelen volgen en een geschikte labjas, wegwerphandschoenen en veiligheidsbril dragen volgens het beleid en de procedures van uw instelling. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

Zorg ervoor dat instrumenten zijn gecontroleerd en gekalibreerd volgens de aanbevelingen van de fabrikant.

- Sample Prep Cartridges, 8-well (QIAGEN, cat.nr. 997002)
- 8-Rod Covers (QIAGEN, cat.nr. 997004)
- Filter-Tips, 200 µl en 1500 µl (QIAGEN, cat.nrs. 990332 en 997024, respectievelijk)
- Tip Disposal Bags (QIAGEN, cat.nr. 9013395)
- PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (PreAnalytiX, cat.nr. 768165)
- Monsterbuizen. Zie voor compatibele primaire en secundaire typen buizen de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Product Resources' (Bronnen producten) van de productpagina op www.qiagen.com.
- Zie voor compatibele typen elutiebuizen de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Product Resources' (Bronnen producten) van de productpagina op www.qiagen.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 competente instantie van de lidstaat waar de gebruiker en/of de patiënt zich bevindt.

Veiligheidsinformatie

Wanneer u werkt met chemische en biologische monsters moet u altijd de universele voorzorgsmaatregelen volgen en een geschikte labjas, wegwerphandschoenen en veiligheidsbril dragen volgens het beleid en de procedures van uw instelling. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB). Ze zijn online beschikbaar in pdf-formaat via www.qiagen.com/safety. Hier vindt u de veiligheidsinformatiebladen van alle kits en kitcomponenten van PreAnalytiX, die u kunt bekijken en afdrukken.

- Alle chemische en biologische materialen zijn potentieel gevaarlijk. Specimens zijn potentieel besmettelijk en dienen als biologisch gevaarlijk materiaal te worden behandeld.
- Gooi afval van het monster en de assay weg conform uw lokale veiligheidsprocedures.

Voorzorgsmaatregelen

Buffers in de reagenscartridge (RC) bevatten natriumazide. Als u buffers uit de kit hebt gemorst, moeten die worden opgenomen met geschikt laboratoriumreinigingsmiddel en water. Als de gemorste vloeistof potentieel infectieuze 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 een veiligheidsbril/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

Proteinase K



Bevat: Proteinase 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 een veiligheidsbril/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming. Draag ademhalingsbescherming. Bij blootstelling of zorgen: raadpleeg een vergiftigingencentrum of arts. Het slachtoffer in de frisse lucht brengen en laten rusten in een houding die het ademen vergemakelijkt.

QSE2



Bevat: Natriumhydroxide. Gevaar! Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. Voer de inhoud/verpakking af naar een goedgekeurde stortlocatie. Bij contact met de ogen: Voorzichtig afspoelen 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 een vergiftigingencentrum of een arts raadplegen. Achter slot bewaren. Draag een veiligheidsbril/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

QSW9



Bevat: Ethanol. Gevaar! Licht ontbrandbare vloeistof en damp. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Uit de buurt houden van hitte/vonken/open vuur/hete oppervlakken. Niet roken. Draag een veiligheidsbril/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

Opslag en verwerking van reagentia

De QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) moet rechtstreeks bij kamertemperatuur (15–25 °C) worden bewaard. De magnetische deeltjes in de reagenscartridges (RC's) blijven actief wanneer ze binnen deze temperatuurgrenzen worden bewaard.

Opmerking: de houdbaarheidsdatum van de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) staat vermeld op het etiket van de doos. Deze houdbaarheidsdatum geldt voor de reagenscartridge.

Gebruik de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) niet meer na het verstrijken van de houdbaarheidsdatum.

Componenten van de kit

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

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

Open RC's van de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) kunnen tot 4 weken worden bewaard op kamertemperatuur (15–25 °C). Door hergebruik van de cartridges worden kosten bespaard en kunnen monsters flexibeler worden verwerkt. 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 RC worden afgesloten met de meegeleverde afdichtingsstrips voor hergebruik, om verdamping te voorkomen.

Om verdamping van reagens te voorkomen, mag de 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 open 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 decontaminatie), omdat blootstelling kan leiden tot versnelde veroudering van de RC's en buffers.

Let op de houdbaarheidsdata en opslagcondities die op de verpakking en etiketten van alle componenten staan vermeld. Gebruik geen componenten waarvan de uiterste gebruiksdatum is verstreken of die onjuist zijn opgeslagen.

Afname en bereiding van specimens

De zuiveringsprocedure is geoptimaliseerd voor gebruik met plasma dat afkomstig is van bloed afgenomen in PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). Voor informatie over het afnemen van bloed, het hanteren van deze buizen en het bereiden van plasma raadpleegt u de Gebruiksaanwijzing PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) onder de tabbladen 'Product Resources' (Bronnen producten) en 'Resources' (Bronnen) van de productpagina's op www.qiagen.com en www.PreAnalytiX.com, respectievelijk.

Plasmabereiding kon worden uitgevoerd met behulp van (A) het standaardprotocol met dubbele centrifugatie of (B) hanteren van primaire buisjes: rechtstreeks verwerken van de eenmalige gecentrifugeerde PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) op het QIASymphony SP-instrument.

A) Plasmabereiding uit bloed voor standaardprotocollen

1. Centrifugeer de PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur (15–25 °C) met 1600–3000 × *g* (eerste centrifugatie) en gedurende 10 minuten met 1600–3000 × *g* (tweede centrifugatie) 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: laat voor de beste prestaties de buisjes vooraf de verwerking weer op kamertemperatuur 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 15 minuten bij kamertemperatuur (15-25 °C) met 1600–3000 × g (eerste centrifugatie) en gedurende 10 minuten met 1600–3000 × g (tweede centrifugatie) 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' op pagina 21) in een polystyreen buis met ronde bodem van 14 ml, 17 x 100 mm. Let er daarbij op dat u niet het residuele bloedcelpellet verstoort, indien aanwezig.
5. Breng de buis met ronde bodem 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 geen schuim wordt gevormd in of op de plasmamonsers. Schuim of luchtballen op monsters kunnen ertoe leiden dat een verkeerd monstervolume wordt gepipetteerd.

Opmerking: na bloedafname en centrifugatie stabiliseren de PAXgene Blood ccfDNA Tubes (IVD) het ccfDNA (ccfDNA-profiel) in plasma op 2–8 °C tot 7 dagen voor de plasmaverwerking. Voor langere opslag wordt het aanbevolen om aliquots te bevriezen.

Opmerking: laat plasmamonsers voor de run op kamertemperatuur komen (15–25 °C) als ze vooraf zijn opgeslagen (bijv. bewaard bij 2-8 °C of bevroren bij –20 of –70 °C/–80 °C).

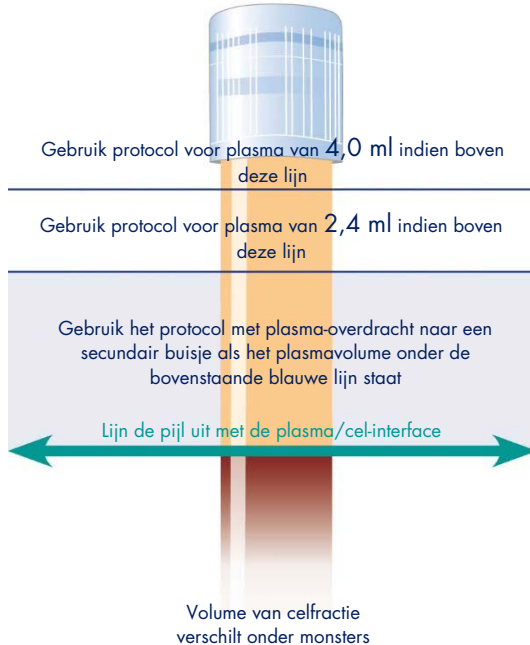
B) Plasmabereiding uit bloed voor gebruik met primaire buisjes op het QIASymphony SP-instrument

1. Centrifugeer de PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur (15–25 °C) met $3.000 \times g$ 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: laat voor de beste prestaties de buisjes vooraf de verwerking weer op kamertemperatuur 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 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.

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



Afbeelding 3. 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.

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

Opmerking: het verwijderen van de sluiting van de buizen en hanteren van open buizen moeten voorzichtig gebeuren om het risico op morsen, kruisbesmetting tussen buizen en blootstelling van het bloed te beperken.

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

C) Verwerkte plasmamonsters uit de PAXgene Blood ccfDNA Tube invriezen en ontdooien

1. Voor het invriezen brengt u het plasma over naar geschikte buisjes (bijv. cryovials) die in een geschikt rek zijn geplaatst.
2. Het plasma moet worden ingevroren en opgeslagen bij $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Voor opslag onder $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ vriest u het plasma eerst gedurende minstens 24 uur in bij $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en brengt u het dan naar -70 of $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3. Ontdooi het plasma bij kamertemperatuur ($15\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Opmerking: niet ontdooien bij lage temperaturen (bijv. $4\text{ }^{\circ}\text{C}$).

4. Indien er zich cryoprecipitaten vormen in het plasma, vortext u de buis gedurende 30 s na het ontdooien en gebruikt u het monster voor de ccfDNA-isolatieprocedure van het QIASymphony SP-instrument zonder verdere behandeling.

Opmerking: het centrifugeren van het plasma om cryoprecipitaten te verwijderen wordt niet aanbevolen, aangezien ze ccfDNA kunnen bevatten.

Opmerking: om de vorming van cryoprecipitaten te vermijden, kan plasma gedurende 30 minuten worden ontdooid op $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ in plaats van kamertemperatuur.

Procedure

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

Het QIASymphony SP-instrument maakt een eenvoudige en comfortabele automatische monsterbereiding mogelijk. Monsters, reagentia en 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. Indien het beschikbare plasmavolume lager is dan 2,8 of 5,3 ml, kunnen middels de Less Sample-modus (Kleiner monster) die in het protocol is geïntegreerd automatisch lagere plasmavolumes worden overgebracht. In dit geval wordt door het instrument een kleiner monster overgebracht en wordt het overgebrachte volume vastgelegd in het resultatenbestand. Daarnaast worden de betreffende monsters gemarkeerd als onduidelijk (foutcode 140043, Enable Less Sample-modus (Kleiner monster toestaan)). De minimale plasmainvoervolumes om de Less Sample-modus (Kleiner monster) te activeren bedragen 1,6 ml 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 gedeelte '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 4). Elke container van de RC bevat een specifiek reagens, bijvoorbeeld magnetische deeltjes, bindingsbuffer, wasbuffer of elutiebuffer. Gedeeltelijk gebruikte RC's kunnen weer worden afgesloten met afdichtingsstrips voor hergebruik op een later tijdstip. Zo ontstaat na afloop van de zuiveringsprocedure geen afval van overgebleven reagentia.



Afbeelding 4. 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 geresuspendeerd zijn. Verwijder de container met magnetische deeltjes uit het RC-frame, vortex hem krachtig gedurende minimaal 3 minuten en plaats hem vóór het eerste gebruik terug in het RC-frame.

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

Plaats de RC in de RC-houder. Plaats voordat u een RC voor het eerst gebruikt de doorprikdeksel op de RC (Afbeelding 4).

Opmerking: de doorprikdeksel is scherp. Wees voorzichtig wanneer u de deksel op de RC plaatst. Zorg dat u de 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).

Deels gebruikte RC's kunnen worden opgeslagen tot ze opnieuw nodig zijn (zie 'Opslag en verwerking van reagentia' op pagina 14).

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

Opmerking: zorg dat de RC's, containers met magnetische deeltjes en flessen Proteinase 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 verpakkingsdozen 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 39.

De lade 'Waste' (Afval) vullen

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

Opmerking: controleer of de deksels van de verpakkingsdozen 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 verpakkingsdozen 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 wegwerpbaar 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' (Elutiepositie 1) uitsluitend met de bijbehorende koeladapter.

Geselecteerd elutievolume (µl)*	Aanvankelijk elutievolume (µl)†
60	75

* Dit is het minimaal toegankelijke eluaatvolume in de laatste elutiebuis 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.

Voorraadscan

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 bereiding van specimens', pagina 16.

Opslag van ccfDNA

Na de monsterbereiding kunnen ccfDNA-eluaten worden bewaard bij -20 of -80 °C. Bevroren eluaten mogen niet vaker dan drie maal worden ontdooid. Voor actuele informatie over ccfDNA-stabiliteit in eluaten raadpleegt u de productpagina op www.qiagen.com of www.PreAnalytiX.com.

Overzicht van het protocol

Tabel 1. Overzicht van het protocol

Monster	Verwerking van PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)	Monsterinvoer-volume (incl. dood volume) (ml)	Monstervolume gebruikt voor ccfDNA-extractie (ml)	Elutievolume (µl)	Protocol QIAasymphony SP-instrument
Plasma gegenereerd uit humaan veneus volbloed dat is afgenomen in PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)	2x centrifugatie, overdracht van plasma naar secundaire buis	2,8	2,4	60	PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	60	PAXcircDNA_4800
	Volgens selectietool		2,4	60	PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	60	PAXcircDNA PrimaryTube_4000

Wat u moet weten voor u begint

- Draag bij het werken met chemische en biologische monsters altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de relevante VIB's.
- Zorg dat u weet hoe u het QIAasymphony SP-instrument moet bedienen. Raadpleeg de gebruikershandleidingen van uw instrument voor bedieningsinstructies.
- Lees voorafgaand aan de procedure het hoofdstuk Principes van de procedure.
- Zorg dat u vertrouwd bent met het protocolblad en de lijst met laboratoriummaterialen (labware) (te vinden onder het tabblad 'Product Resources' (Bronnen producten) van de productpagina op www.qiagen.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). Voor instructies over het afnemen van bloed, het hanteren van monsters en het verwerken van plasma raadpleegt u de Gebruiksaanwijzing onder de tabbladen 'Product Resources' (Bronnen producten) en 'Resources' (Bronnen) van de productpagina op www.qiagen.com of www.PreAnalytiX.com, respectievelijk.

Wat u moet doen voor u begint

- Controleer voordat u de procedure start of de magnetische deeltjes volledig geresuspendeerd zijn. Vortex de container met de magnetische deeltjes vóór het eerste gebruik krachtig gedurende minimaal 3 minuten.
- Zorg dat de 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.
- Proteinase 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 Proteinase K beschikbaar is.

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

Aantal monsters	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400*	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000*
8	1980 µl	2860 µl
24	3740 µl	6380 µl
48	6380 µl	11660 µl†
96	11660 µl†	23320 µl†

* 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 x 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 Proteinase K worden in een buizendrager geplaatst. De buisjesdrager met Proteinase K moet op positie 1 en 2 in slot A van de lade 'Sample' (Monster) worden geplaatst. Het wordt aanbevolen voor Proteinase K polystyreen buizen met ronde bodem van 14 ml, 17 x 100 mm (Corning, cat.nr. 352051) te gebruiken.

- Als de monsters van streepjescodes zijn voorzien, 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 monsterbuisjes en minimale monstervolumes die compatibel zijn met de protocollen de betreffende lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad 'Product Resources' (Bronnen producten) van de productpagina op www.qiagen.com.

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

Gedetailleerde informatie over elk protocol, inclusief volumes en buizen, wordt gegeven in het protocolblad en de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden zijn onder het tabblad 'Product Resources' (Bronnen producten) van de productpagina op www.qiagen.com. Voor de bereiding van het monstermateriaal (plasma afkomstig van humaan veneus volbloed afgenomen in de PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)), raadpleegt u secties 'Afname en bereiding van specimens' en 'Bereiding van monstermateriaal' in deze handleiding en de gebruiksaanwijzing van de buizen onder de tabbladen 'Product Resources' (Bronnen producten) en 'Resources' (Bronnen) van de productpagina's op www.qiagen.com of www.PreAnalytiX.com, respectievelijk.

1. Sluit alle laden 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 in 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' (Elutiepositie 4). 'Elution slot 1' (Elutiepositie 1), met de overeenkomstige 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, de lege container voor vloeibaar afval en lege verpakkingsdozen. Vervang indien nodig de afvalzak voor tips.
6. Plaats de vereiste RC's en verbruiksartikelen in de lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia en verbruiksartikelen).
7. Voer een inventarisatiescan uit van de lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia en verbruiksartikelen).
8. Plaats de monsters in de juiste monsterhouder en plaats deze in de lade 'Sample' (Monster).

Opmerking: naast de gewone verwerking met plasma-overdracht naar een geschikte monsterhouder (Falcon® polystyreen buis met ronde bodem van 17 x 100 mm en 14 ml) maakt de PAXgene Blood ccfDNA Tube-workflow voor het hanteren van primaire buisjes ook de ccfDNA-extractie rechtstreeks van de PAXgene Blood ccfDNA Tube (10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), 16 x 100 mm) mogelijk. Voor meer informatie over het hanteren van primaire buisjes raadpleegt u het protocolblad, de lijst van laboratoriummaterialen (labware) en de Gebruiksaanwijzing onder de tabbladen 'Product Resources' (Bronnen producten) en 'Resources' (Bronnen) van de productpagina op www.qiagen.com of www.PreAnalytiX.com, respectievelijk.

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

Voer de volgende gegevens in:

- Monsterinformatie (afhankelijk van de gebruikte monsterrekken selecteert u BD #352051 FalconPP 17 x 100 of BD_#768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100)
- Het protocol dat moet worden gebruikt (Assay Control Set [assaycontrolezet])
- 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 één batch in de wachtrij is gezet, verschijnt de knop Run (Verwerken).

10. Plaats de Proteinase K in de juiste monsterdrager op positie 1 en 2 en plaats deze in slot A van de lade 'Sample' (Monster).
11. Definieer de Proteinase 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 opgezuiverde 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 en kan tot 6 maanden worden bewaard op $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ of $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

QIAGEN raadt aan de elutieplaat direct nadat de run is voltooid uit de lade 'Eluate' (Eluaat) te verwijderen. Afhankelijk van de temperatuur en vochtigheidsgraad kan er sprake zijn van condensatie of verdamping bij elutieplaten die in het QIASymphony SP-instrument worden gelaten nadat de run is voltooid.

Opmerking: met de koelfunctie van het QIASymphony SP-instrument kunnen ook 's nachts plaatsvinden.

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

Als magnetische deeltjes moeten worden verwijderd voordat vervolgtoeepassingen 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 afdichtingsstrips voor hergebruik om verdamping te voorkomen.

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

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 van uw instrument. Zorg dat u de tipbeveiligingen regelmatig reinigt om het risico van kruisbesmetting tot een minimum te beperken.

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

Kwaliteitscontrole

Elke partij van de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) 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 systeemprestaties zijn vastgelegd in evaluatiestudies waarbij ccfDNA van plasma dat afkomstig is van humaan veneus volbloed afgenomen in de PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) wordt gezuiverd.

De prestatiekenmerken voor de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) zijn vastgelegd 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 verifiëren 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. Diagnostische resultaten die worden gegenereerd, moeten worden geïnterpreteerd in combinatie met overige klinische bevindingen of laboratoriumbevindingen.

Problemen oplossen

Deze gids voor probleemoplossing kan helpen bij het oplossen van eventuele problemen. Voor contactgegevens en een lijst van veelgestelde vragen gaat u naar de betreffende 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) Variatie van eluaatvolume na nachtelijke runs
Om de doorvoer te optimaliseren, ondersteunt de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) de verwerking van monsters 's nachts door eluaten op het QIASymphony SP-instrument te koelen. Tijdens lange koelperioden kunnen de eluaatvolumes veranderen naargelang de temperatuur en vochtigheidsgraad in het laboratorium. Indien het gekozen volume bijvoorbeeld 60 µl was bij 15–25 °C en 30–60% vochtigheid, kan het volume in het bereik van 50–85 µl liggen na 12 uur opslag op het instrument.

Cryoprecipitaten na ontdooien van plasmamonsters

- a) Vorming van cryoprecipitaten in het plasma
Om de vorming van cryoprecipitaten te vermijden, kan het plasma gedurende 30 minuten worden ontdooid op 30 °C in plaats van kamertemperatuur. Niet ontdooien bij lagere temperaturen (bijv. 4 °C). Meng de buisjes 30 seconden na het ontdooien.
- b) Lage opbrengst van ccfDNA uit plasma na verwijdering van cryoprecipitaten
Centrifugeer het plasma niet om cryoprecipitaten te verwijderen, aangezien ze ccfDNA kunnen bevatten.

Onvoldoende plasmavolume uit PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)

- a) Er is minder dan 10 ml bloed afgenomen in PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)
Zorg dat 10 ml bloed wordt afgenomen in de PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Raadpleeg de Gebruiksaanwijzing PAXgene Blood ccfDNA Tube.
- b) Hoge cel fractie
Hoge cel fractie (hematocrietpeil) in humaan volbloed (bijv. boven 51% voor mannen of 47% voor vrouwen) kan leiden tot lagere plasmavolumes.
- c) Lage opbrengst van plasma na centrifugatie
Langere tijden voor de bloedopslag of -transport, of andere centrifugatie-omstandigheden dan opgegeven kunnen de opbrengst van plasma beïnvloeden.

Opmerkingen en suggesties

Precipitaat in container van geopende reagenscartridge (RC) in de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

- a) Verdamping van buffer Overmatige verdamping kan leiden tot verhoogde zoutconcentraties in buffers. Gooi de RC weg. Zorg dat u de containers met buffers van een gedeeltelijk gebruikte RC goed afsluit met afdichtingsstrips voor hergebruik wanneer ze niet worden gebruikt voor opzuivering.
- b) Opslag van RC Als een RC onder 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, moet u ervoor zorgen dat de magnetische deeltjes volledig zijn geresuspendeerd. Vortex vóór gebruik gedurende minimaal 3 minuten. Onvolledige resuspenzie kan leiden tot fouten bij het pipetteren.
- b) De pipettip was verstopt door onoplosbaar materiaal Onoplosbaar materiaal is niet uit het monster verwijderd voordat de zuiveringsprocedure met het QIASymphony SP-instrument werd gestart.
- c) Monstermateriaal bevat lage concentratie van ccfDNA Door zeer lage hoeveelheden ccfDNA in plasmamonsters kan de meting van de ccfDNA-concentratie lastig zijn afhankelijk van de gebruikte kwantificeringsmethode.
Het gebruik van gevoelige qPCR wordt aanbevolen om de ccfDNA-concentratie in eluaten te controleren.
- d) Onvolledige afsluiting van RC Uitwisseling met omgevingslucht kan leiden tot verminderde stabiliteit van buffers, en daarmee tot verlaagde efficiëntie van ccfDNA-extractie, met een gedeeltelijk gebruikte reagenscartridge RC. Zorg dat u de containers met buffers van een gedeeltelijk gebruikte RC voorzichtig afsluit met afdichtingsstrips voor hergebruik wanneer ze niet worden gebruikt voor opzuivering.

Lage ccfDNA-prestaties in vervolgtoeepassingen

- a) Eluaat geconcentreerd door vacuümcentrifugatie Concentreer het eluaat niet door vacuümcentrifugatie (bijv. in een SpeedVac® of vergelijkbaar instrument). Dit kan leiden tot degradatie door hoge temperaturen en geconcentreerde zouten in het eluaat, hetgeen de vervolgtoeepassingen kan hinderen.
- b) Carry-over van deeltjes In het algemeen worden magnetische deeltjes niet overgedragen naar eluaten. Als er carry-over plaatsvindt, zullen de magnetische deeltjes in het eluaat de meeste vervolgtoeepassingen niet negatief beïnvloeden. Indien zeer hoge porties van eluaten nodig zijn voor specifieke vervolgtoeepassingen, kunnen de eluaten afgedraaid worden en worden overgebracht naar een schone buis.

Geen/onvolledige overbrenging van monsters

- a) Verkeerd monstervolume is geladen voor standaardprotocollen Als er minder monstervolume is geladen dan opgegeven, 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 is beschreven in het overeenkomstige protocolblad en de lijst met laboratoriummaterialen (labware).
- b) Luchtbellen en/of schuim in de monsterbuis Luchtbellen of schuim in de monsterbuis en/of de monsterinvoerbuis kunnen leiden tot een verkeerde vloeistofniveaudetectie en vervolgens tot onvolledig overbrengen van het monster. Verwijder luchtbellen uit de monsterbuis.

Symbolen

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



<N>

Bevat voldoende reagentia voor <N> tests Geeft het totaal aantal IVD-tests aan dat kan worden uitgevoerd met de IVD.



Uiterste gebruiksdatum



Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek



CE-markering. Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese Richtlijn 2017/746 betreffende medische hulpmiddelen voor in-vitrodiagnostiek.



Catalogusnummer



Partijnummer



Materiaalnummer (m.b.t. labeling van componenten)



Componenten (d.w.z. een lijst met wat in de verpakking zit)



Bevat (inhoud)

NUM

Aantal (m.b.t. flacons, flessen)

GTIN

Global Trade Item Number

Rn

'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing (Handleiding); 'n' is het revisienummer



Temperatuurbeperving



Fabrikant



Raadpleeg de gebruiksaanwijzing



Let op

PROTK

Proteinase K

WELL

Wellnummer (RC-well)

REAG | **CART**

Reagenscartridge

Sodium azide

Natriumazide

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 PRC-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.

Breng de microtiterplaat met het DNA over naar een geschikte magnetische separator (zoals 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	Inhoud	Cat.nr.
PreAnalytiX		
QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) (192)	Bevat 2 RC's en Proteinase K-buizen en accessoires	768566
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD) (100)	100 buizen: 16 x 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 QIAGEN-producten		
Proteinase K (10 ml)	1 x 10 ml-fles	19133
Reagent Cartridge Holder (2)	RC-houder voor gebruik 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

Product	Inhoud	Cat.nr.
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
8-Rod Covers (144)	Hulzen voor 8 staafjes, voor gebruik in combinatie 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-instrument	990332
Filter-Tips, 1500 µl, Qsym SP (1024)	Wegwerpfiltertips, in een rek; (8 × 128). Voor gebruik in combinatie met het QIASymphony SP/AS-instrument	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 x 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 x 96-Well Microplates FB	36915

Product	Inhoud	Cat.nr.
Reuse Seal Set (20)	Afdichtingssets voor hergebruik, om gedeeltelijk gebruikte QIASymphony RC's af te sluiten	997006
Elution Microtubes CL (24 x 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 x 8)	Doppen voor elutie-microbuisjes (50 x 8)	19591
14 ml Falcon Tube	Polystyreen buis met ronde bodem 17 x 100 mm, gebruikt als monsterdrager voor het QIASymphony SP-instrument	Corning, 352051

Zie de (gebruikers)handleiding van de betreffende QIAGEN-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules. 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.

Revisiegeschiedenis van document

Revisie	Beschrijving
R1, mei 2021	Eerste uitgave

Bestellen www.qiagen.com/shop | Technische ondersteuning support.qiagen.com | Website www.qiagen.com of PreAnalytiX.com