

April 2021

# Gebruiksaanwijzing (protocolblad) QIASymphony<sup>®</sup> SP-instrument

Voor de PreAnalytiX QIASymphony PAXgene<sup>®</sup>  
Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) en PreAnalytiX PAXgene  
Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; **CE**<sub>0123</sub>)

PAXgene Blood ccfDNA IVD-protocollen:

PAXcircDNA\_2400, PAXcircDNA\_4800, PAXcircDNA\_PrimaryTube\_2400, en PAXcircDNA\_PrimaryTube\_4000

## Algemene informatie

Voor in-vitrodiagnostisch gebruik.

De QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) 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 (CE-IVD) en dient te worden gebruikt met het QIASymphony SP-apparaat.

De zuiveringsprocedure is geoptimaliseerd voor gebruik met plasma dat afkomstig is van humaan veneus volbloed afgenomen in PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD). Zie voor instructies voor het bloedafnameproces de gebruiksaanwijzing van de PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) op de productpagina ([www.PreAnalytiX.com](http://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 (CE-IVD). 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 (CE-IVD) 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. Algemene informatie voor gebruik van de QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

<b>Monstermateriaal</b>	Humaan plasma afkomstig uit veneus volbloed dat is afgenomen met PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)			
<b>Kit</b>	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, cat.nr. 768566			
<b>Softwareversie</b>	Versie 5.0 of hoger			
<b>Protocollen</b>	<b>Protocollijn</b>	<b>Monsterinvoervolume (incl. dood volume) (ml)</b>	<b>Monstervolume gebruikt voor ccfDNA-extractie (ml)</b>	<b>(Assay Control_) Protocolnaam</b>
	Standaard	2,8	2,4	(ACS_) PAXcircDNA_2400
		5,3	4,8	(ACS_) PAXcircDNA_4800
	Hanteren van primaire buisjes	in overeenstemming met selectietool	2,4	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400
			4,0	(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 enkelgecentrifugeerde 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 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 10 minuten 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' op pagina 5) in een polystyreen rondbodembuis van 14 ml, 17 x 100 mm. Let er 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 geen schuim wordt gevormd in of op de plasmamonsters. Schuim of luchtballen op monsters kunnen ertoe leiden dat een verkeerd monstervolume wordt gepipetteerd.

Opmerking: na bloedafname en centrifugatie kan het plasma maximaal 7 dagen worden bewaard bij 2–8 °C. Voor langere opslag wordt het aanbevolen om aliquots 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 of –70 °C/–80 °C).

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

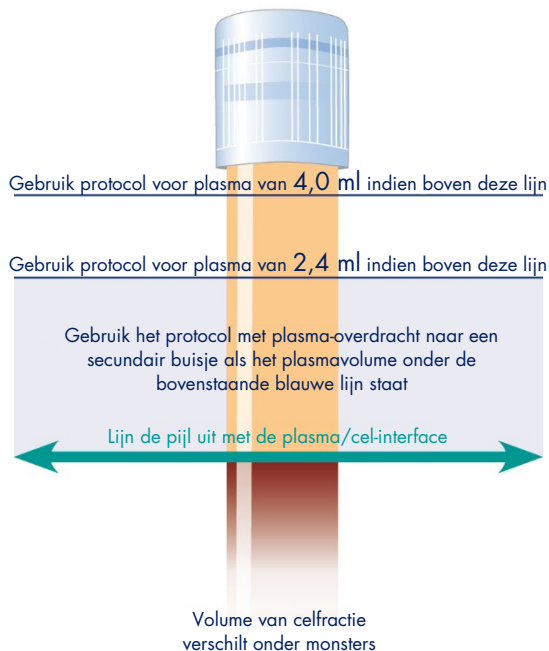
1. Centrifugeer de PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur (15–25 °C) met 3000 × g met behulp van een gebalanceerde uitzwaaiende emmercentrifuge. Indien er liever gebruik wordt gemaakt van remmen wordt aangeraden om het medium remniveau toe te passen en dient deze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

Opmerking: 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 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.

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.
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.

## 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 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 plasmavolumes 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 3.

## De lade 'Sample' (Monster)

Tabel 2. Informatie voor het opzetten van de monsterlade\*

Monstertype	Humaan plasma afkomstig uit veneus volbloed dat is afgenomen met PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)
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 monsterbuisen	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm (BD™, cat.nr. 768165)
Secondaire monsterbuisen	Polystyrene rondbodembuizen van 14 ml, 17 x 100 mm (Corning®, cat.nr. 352051)
Inzetten	n.v.t.
Overige	Proteinase K vereist in polystyrene rondbodembuizen van 14 ml, 17 x 100 mm (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](http://www.qiagen.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	Voorbeeld cat.nr.	Inzet	PAXcircDNA_2400	PAXcircDNA_4800	PAXcircDNA_PrimaryTube_2400	PAXcircDNA_PrimaryTube_4000
BD #352051 FalconPP 17 x 100	Corning <sup>†</sup>	14 ml Falcon <sup>®</sup> polystyrene round-bottom tube 17 x 100 mm	352051	Geen inzet nodig	2,8 ml <sup>‡</sup> 1,6 ml <sup>‡§</sup> (Enable Less Sample (Gebruik minder monster)-modus)	5,3 ml <sup>‡</sup> 4,1 ml <sup>‡§</sup> (Enable Less Sample (Gebruik minder monster)-modus)	n.v.t.	n.v.t.
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 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](http://www.qiagen.com).

<sup>†</sup> Voorheen geleverd door BD.

<sup>‡</sup> Minimaal monstervolume nodig per monster per protocol (met inbegrip van dood volume); stollingsdetectie mogelijk.

<sup>§</sup> 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 filertips, 200 µl 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 afvalvloeistoffles	Lege afvalvloeistoffles

## De lade 'Eluate' (Eluaatlade)

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, non-skirted	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, non-skirted	72693	Tube 2.0 ml/ Tube_2.0ml AdapterV1 (no BC)	SAR#72.693 *T2.0 Screw	Microtube Screw Cap QS
Starlab®	1.5 ml Microtube, graduated conical tube, non-skirted	E1415-2231	Tube, 1.5 ml/ Tube_1.5ml 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 <sup>††</sup>	24	48	24	48
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>††</sup>	64	128	104	200
Sample prep cartridges <sup>‡</sup>	15	30	18	36
8-Rod Covers <sup>†</sup>	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 <sup>††</sup>	72	96	72	96
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>††</sup>	192	256	296	392
Sample prep cartridges <sup>‡</sup>	45	60	54	72
8-Rod Covers <sup>†</sup>	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.

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

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

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

<sup>†</sup> 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. Wij adviseren om het hoogst mogelijke aantal filtertips te plaatsen.

## Elutievolume

Geselecteerd elutievolume (µl)*	Aanvankelijk elutievolume (µl) <sup>†</sup>
60	75

\* Dit is het minimaal toegankelijke eluatievolume 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 eluatievolume voor enkelvoudige monsters tot 5 µl kleiner zijn.

<sup>†</sup> Het aanvankelijke volume van de elutiebuffer is nodig om er zeker van te zijn dat het daadwerkelijke eluatievolume gelijk is aan het geselecteerde volume.



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

De QIAasymphony PAXgene Blood ccfDNA (CE-IVD) 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*	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: Buisen met proteïnase K worden in een buisendrager 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 x 100 mm te gebruiken (Corning, cat.nr. 352051)

## Revisiegeschiedenis

Datum	Wijzigingen
R1, 04/2021	Eerste uitgave.
R2, 04/2021	"(CE 0123)" in normale tekstopmaak vervangen zodat deze overeenstemt met de ontwerpvereisten van de IVDR Bijlage X

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

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

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

---

Bestellen [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Technische hulp [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)