

Maart 2017

# Gebruiksaanwijzing (Handboek) QIAsymphony<sup>®</sup> DSP Circulating DNA-kit



192

Versie 1



Voor in-vitrodiagnostiek



937556



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1  
40724 Hilden  
DUITSLAND



1103177NL

---

# Inhoudsopgave

|   |    |
|---|----|
| Beoogd gebruik.....                                       | 3  |
| Samenvatting en uitleg .....                              | 3  |
| Principes van de procedure.....                           | 4  |
| Meegeleverde materialen .....                             | 7  |
| Inhoud van de kit.....                                    | 7  |
| Benodigde maar niet meegeleverde materialen .....         | 8  |
| Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen .....              | 9  |
| Bewaren en hanteren van reagentia.....                    | 11 |
| Componenten van de kit .....                              | 11 |
| Afname en bereiding van monsters .....                    | 12 |
| Procedure .....   | 13 |
| Geautomatiseerde opzuivering met de QIASymphony SP .....  | 13 |
| Protocol: Opzuivering van circulerend celvrij DNA.....    | 19 |
| Kwaliteitscontrole.....                                   | 22 |
| Beperkingen.....  | 22 |
| Symbolen .....  | 24 |
| Oplossen van problemen.....                               | 26 |
| Bijlage: Kwantificering van circulerend celvrij DNA ..... | 30 |
| Bestelinformatie .....                                    | 31 |

---

# Beoogd gebruik

De QIASymphony DSP Circulating DNA-kit maakt gebruik van magnetische-deeltjestechnologie voor de geautomatiseerde isolatie en opzuivering van humaan circulerend celvrij DNA uit biologische monsters.

Het product is bedoeld voor toepassing door beroepsmatige gebruikers, bijvoorbeeld analisten en artsen die zijn opgeleid in moleculair-biologische technieken.

De QIASymphony DSP Circulating DNA-kit is bedoeld voor gebruik in de in-vitrodiagnostiek.

## Samenvatting en uitleg

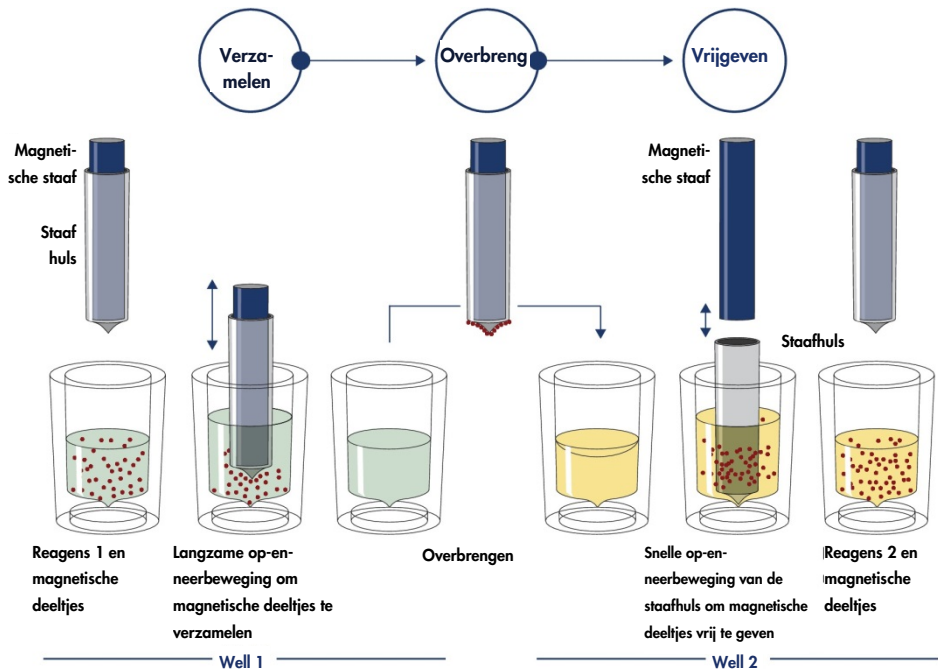
Circulerende celvrije nucleïnezuren (ccfDNA's) zijn aanwezig in plasma en urine, doorgaans als korte fragmenten, < 1000 bp (DNA); < 1000 nt (RNA), of zelfs met een lengte van slechts 20 nt (miRNA's). De concentratie van circulerende celvrije nucleïnezuren in biologische vloeistoffen, zoals plasma of urine, is doorgaans laag en varieert aanzienlijk tussen verschillende personen. De concentratie ccfDNA kan variëren van 1-100 ng/ml. Het QIASymphony DSP Circulating DNA-systeem is een gebruiksklaar *in vitro* systeem voor de kwalitatieve opzuivering van humaan circulerend celvrij DNA uit humane plasma en urine, met gebruik van het QIASymphony SP-apparaat.

De QIASymphony DSP Circulating DNA-kit levert reagentia voor de volledig geautomatiseerde isolatie en gelijktijdige opzuivering van humaan ccfDNA uit biologische monsters. De werkingseigenschappen zijn niet voor elke bloedafnamebuis vastgesteld; deze moeten door de gebruiker gevalideerd worden. Magnetische-deeltjestechnologie maakt het mogelijk om nucleïnezuren van hoge kwaliteit, vrij van eiwitten, nucleases en andere verontreinigingen op te zuiveren. Het opgezuiverde ccfDNA kan in een breed scala aan downstream toepassingen gebruikt worden. De QIASymphony SP voert alle stappen van de opzuiveringsprocedure uit.

In één run kunnen maximaal 96 monsters, in batches van 24, worden verwerkt. Het kan nodig zijn om urinemonsters handmatig voor te behandelen.

## Principes van de procedure

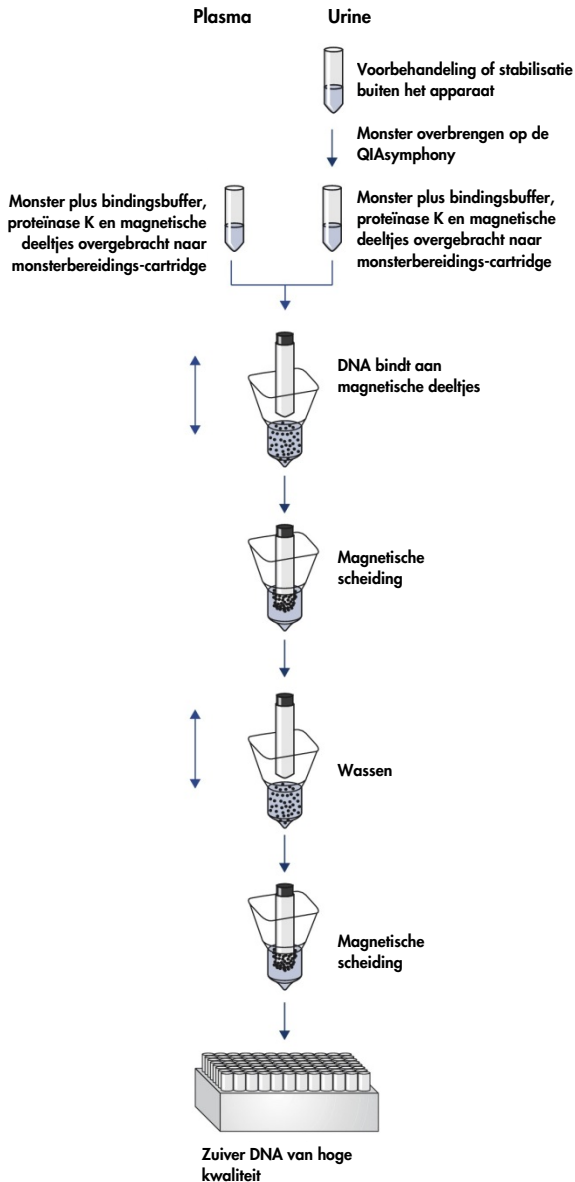
In de QIASymphony-technologie worden de snelheid en efficiëntie van de opzuivering van nucleïnezuren met behulp van anionenuitwisseling gecombineerd met het gemak van het werken met magnetische deeltjes (Afbeelding 1 hieronder). De opzuiveringsprocedure is zo ontwikkeld dat een veilige en reproduceerbare hantering van potentieel infectieuze monsters is gegarandeerd. De procedure bestaat uit 3 stappen: binden, wassen en elueren (zie de flowchart, blz. 6). De gebruiker kan kiezen uit verschillende volumes van de in te voeren monsters.



---

**Afbeelding 1. Schematische weergave van het principe van de QIASymphony SP.** De QIASymphony SP verwerkt een monster dat magnetische deeltjes bevat als volgt: Een magnetisch staafje, met daaromheen een beschermende huls, wordt in een well met 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. Deze stappen worden tijdens het verwerken van het monster meerdere malen herhaald. De QIASymphony SP maakt gebruik van een magneetkop met een raster van 24 magnetische staafjes, zodat hij maximaal 24 monsters tegelijkertijd kan verwerken.

## Procedure QIAasympy DSP Circulating DNA



# Meegeleverde materialen

## Inhoud van de kit

| <b>QIASymphony DSP Circulating DNA Kit</b> |  | <b>(192)</b>  |             |             |
|--|--|---|-------------|-------------|
| <b>Catalogusnummer</b>                     |  | <b>937556</b>   |             |             |
| <b>Aantal reacties</b>                     |  | <b>192</b>  |             |             |
| <b>Identiteit</b>                          |  | <b>Aantal</b>   |             |             |
| RC   | Reagent cartridge<br>(reagenscartridge)*     | <table border="1"><tr><td><b>REAG</b></td><td><b>CART</b></td></tr></table> † | <b>REAG</b> | <b>CART</b> |
| <b>REAG</b>                                | <b>CART</b>                                  |   |             |             |
| PROTK                                      | QIAGEN Proteinase K<br>(QIAGEN proteïnase K) | 6 x 10 ml   |             |             |
| PL   | Piercing lid<br>(doorprikdeksel)             | 2   |             |             |
| RSS  | Reuse Seal Set‡ (sealset<br>voor hergebruik) | 2   |             |             |
|  | Gebruiksaanwijzing (Handboek)                | 1   |             |             |

\* Bevat natriumazide als conserveermiddel.

† Zie blz. 24 voor een lijst symbolen met definities.

‡ Een sealset voor hergebruik bevat 8 Reuse Seal Strips (sealstrips voor hergebruik).

# Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Draag wanneer u met chemicaliën werkt altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB of MSDS) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

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

- QIASymphony SP (cat. nr. 9001297)
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (monsterbereidingscartridges, 8-wells cartridges) (cat. nr. 997002)
- 8-Rod Covers (8-staafhulzen) (cat. nr. 997004)
- Filter-Tips (filtertips), 1500 µl (cat. nrs. 990332 en 997024)
- Sample tubes (monsterbuizen) Zie voor compatibele primaire en secundaire typen buizen de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
- Elutiebuizen of -platen. Zie voor compatibele elutiebuizen en -platen de lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
- PBS-buffer (phosphate-buffered saline, kan nodig zijn om monstervolumes aan te vullen)
- Vortexer
- ATL-buffer (voor de voorbehandeling van urinemonsters; cat. nr. 939016)
- Zie voor aanvullende materialen die nodig zijn voor de voorbehandeling en stabilisatie van urinemonsters het protocolblad dat te vinden is onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).



# Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Voor in-vitrodiagnostiek

Lees alle instructies zorgvuldig door voordat u de kit gebruikt.

Draag wanneer u met chemicaliën werkt altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de betreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB of MSDS). Deze zijn on-line beschikbaar in pdf-formaat via [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety). Hier vindt u de SDS's van alle kits en kit-componenten van QIAGEN, die u kunt bekijken en afdrukken.

## **WAARSCHU** Risico van persoonlijk letsel

### **WING**

Voeg nooit direct bleekwater of een zure oplossing toe aan het afval van de monsterbereiding.



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

De volgende bepalingen met betrekking tot gevaren en voorzorgsmaatregelen zijn van toepassing op componenten van de QIASymphony DSP Circulating DNA-kit.

## **MBS3**

Bevat: Natriumazide. Waarschuwing! Kan bij doorslikken schadelijk zijn. Bij onwel voelen een GIFCENTRUM of een arts raadplegen.

## Proteïnase K



Bevat: Proteïnase K. Gevaar! Licht irriterend voor de huid. Kan bij inhaleren symptomen van allergie of astma, of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken. Inademing van stof/ rook/ gas/ nevel/ damp/ spuitnevel vermijden. Inhoud/ container naar een erkende stortlocatie afvoeren. Als u ademhalingsklachten krijgt: een GIFCENTRUM of arts raadplegen. NA INADEMING: Als het slachtoffer moeite heeft met ademen, breng hem/haar dan in de frisse lucht en laat hem/haar rusten in een houding die het ademen vergemakkelijkt. Ademhalingsbescherming dragen.

## QSE2



Gevaar! Veroorzaakt ernstige brandwonden op de huid en schade aan het oog. Inhoud/ container afvoeren naar een erkende 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 arts of GIFCENTRUM raadplegen. Achter slot bewaren. Beschermende handschoenen/ beschermende kleding/ oogbescherming/ gezichtsbescherming dragen.

## QSW9



Bevat: alcohol. Gevaar! Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Licht ontbrandbare vloeistof en damp. Inhoud/ container naar een erkende stortlocatie afvoeren. Bij aanhoudende oogirritatie:

---

medische hulp inschakelen. Verwijderd houden van warmte/ vonken/ open vuur/ hete oppervlakken. - Niet roken. In een goed geventileerde ruimte bewaren. Koel bewaren. Beschermende handschoenen/ beschermende kleding/ oogbescherming/ gezichtsbescherming dragen.

## Bewaren en hanteren van reagentia

De QIASymphony DSP Circulating DNA-kit moet rechtstreeks bij kamertemperatuur (15–25 °C) worden bewaard. De magnetische deeltjes in de reagenscartridges (RC) blijven actief wanneer ze bij deze temperatuur worden bewaard.

**Opmerking:** De houdbaarheidsdatum van de kit ("Expiration date") staat vermeld op het etiket van de doos van de QIASymphony DSP Circulating DNA-kit. In de "Result file" (het resultatenbestand) staan alleen de houdbaarheidsdatums van de reagenscartridge (RC).

Gebruik de QIASymphony DSP Circulating DNA-kit niet meer na het verstrijken van de houdbaarheidsdatum.

### Componenten van de kit

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

Bewaar reagenscartridges (RC) niet bij temperaturen beneden 15 °C.

Gedeeltelijk gebruikte reagenscartridges (RC) kunnen maximaal 4 weken worden bewaard, wat een rendabel hergebruik van reagentia en flexibeler monsterverwerking mogelijk maakt. Als een reagenscartridge (RC) gedeeltelijk is gebruikt, dient u onmiddellijk na afloop van de

---

protocolru de dop van de container waar de magnetische deeltjes in zitten terug te plaatsen en de reagenscartridge (RC) met de meegeleverde sealstrips voor hergebruik af te sluiten, om verdamping te voorkomen.

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

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

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

## Afname en bereiding van monsters

Raadpleeg voor meer informatie over de geautomatiseerde procedure (waaronder informatie over de monsterbuizen die bij een specifiek protocol kunnen worden gebruikt) en over specifieke voorbehandelingen van monsters het betreffende protocolblad dat te vinden is onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

---

# Procedure

## Geautomatiseerde opzuivering met de QIASymphony SP

De QIASymphony SP maakt geautomatiseerde monsterbereiding gemakkelijk en handig. Monsters, reagentia en verbruiksartikelen, en eluaten, worden gescheiden in verschillende laden. U plaatst vóór de run eenvoudig de monsters, de in speciale cartridges geleverde reagentia en de al in rekjes verpakte verbruiksartikelen in de juiste laden. Start het protocol en neem na de verwerking van het monster het gezuiverde DNA uit de lade "Eluate" (Eluaatlade). Raadpleeg voor aanwijzingen met betrekking tot de bediening de gebruikershandleidingen die bij uw apparaat zijn geleverd.

**Opmerking:** Optioneel onderhoud is niet noodzakelijk voor een goede werking van het apparaat, maar wordt sterk aangeraden om het risico van contaminatie te verlagen.

Het scala aan beschikbare protocollen wordt voortdurend uitgebreid. Aanvullende protocollen van QIAGEN kunnen gratis worden gedownload op [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

Reagenscartridges (RC) in de lade "Reagents and Consumables" (Reagentia- en verbruiksartikelenlade) plaatsen

De reagentia voor de opzuivering van DNA zitten in een innovatieve reagenscartridge (RC) (afbeelding 2, blz. 14). Elke container van de reagenscartridge (RC) bevat een specifiek reagens, bijvoorbeeld magnetische deeltjes, bindingsbuffer, wasbuffer of elutiebuffer. Gedeeltelijk gebruikte reagenscartridges (RC) kunnen weer worden afgesloten met Reuse Seal Strips (RSS) voor hergebruik op een later tijdstip. Zo ontstaat na afloop van de opzuiveringsprocedure geen afval van overgebleven reagentia.



**Afbeelding 2. Reagenscartridge (RC) voor de QIASymphony.** De reagenscartridge (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 frame van de reagenscartridge, vortex hem krachtig gedurende minimaal 3 minuten en plaats hem vóór het eerste gebruik terug in het frame van de reagenscartridge.

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

Plaats de reagenscartridge (RC) in de houder voor de reagenscartridge. Plaats voordat u een reagenscartridge (RC) voor het eerst gebruikt de doorprikdeksel (PL) op de reagenscartridge (RC) (Afbeelding 2 above).

**Opmerking:** De doorprikdeksel (PL) is scherp. Wees voorzichtig wanneer u hem op de reagenscartridge (RC) plaatst. Zorg dat u de doorprikdeksel (PL) in de juiste oriëntatie op de reagenscartridge (RC) plaatst.

---

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

U kunt gedeeltelijk gebruikte reagenscartridges (RC) bewaren totdat u ze weer nodig hebt, zie "Reagent Storage and Handling", blz. 11.

**Opmerking:** Proteïnase K moet worden toegevoegd zoals is beschreven in het protocolblad dat te vinden is onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

**Opmerking:** Zorg dat de reagenscartridges, containers met magnetische deeltjes en flessen proteïnase K niet worden overgeplaatst naar een andere kit met een verschillend lotnummer.

Plastic artikelen in de lade "Reagents and Consumables" plaatsen

Monsterbereidingscartridges, 8-staafhulzen (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" geplaatst.

**Opmerking:** Verzekert u ervan dat de deksels van de verpakkingsdozen zijn verwijderd voordat u de dozen in de lade "Reagents and Consumables" plaatst.

**Opmerking:** Tips zijn voorzien van filters om kruiscontaminatie te helpen voorkomen.

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

**Opmerking:** Vul de rekken tips of de dozen voor monsterbereidingscartridges of 8-staafhulzen niet bij voordat u een nieuwe protocolrun start. De QIASymphony SP kan gedeeltelijk gebruikte rekken tips en dozen cartridges en hulzen gebruiken.

---

Zie voor de benodigde verbruiksartikelen het betreffende protocolblad dat te vinden is onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Zie voor bestelinformatie van plastic artikelen blz. 31.

### De lade "Waste" (Afvallade) vullen

De tijdens een run gebruikte monsterbereidingscartridges en 8-staafhulzen worden in lege verpakkingendozen in de lade "Waste" geplaatst. Controleer of er voldoende lege verpakkingendozen in de lade "Waste" staan voor het plasticafval dat tijdens de protocolrun ontstaat.

**Opmerking:** Verzeker u ervan dat de deksels van de verpakkingendozen zijn verwijderd voordat u de dozen in de lade "Waste" plaatst. Als u verpakkingendozen van 8-staafhulzen gebruikt voor het verzamelen van gebruikte monsterbereidingscartridges en 8-staafhulzen, controleer dan of de dozen-spacer is verwijderd.

Aan de voorzijde van de lade "Waste" dient een zak voor gebruikte filtertips te worden bevestigd.

**Opmerking:** Het systeem controleert niet of er een disposable 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 apparaat zijn geleverd. Leeg na maximaal 96 monsterbereidingen de afvalzak voor tips, om te voorkomen dat de tips vastlopen.

Vloeibaar afval dat tijdens de opzuiveringsprocedure wordt gegenereerd, wordt opgevangen in een afvalcontainer. De lade "Waste" 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” vullen

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

## Voorraadscan

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

## Bereiding van monstermateriaal

De QIAAsymphony DSP Circulating DNA-kits zijn gemaakt voor de geautomatiseerde opzuivering van circulerend celvrij DNA uit humane plasma en urine (tabel 1, blz. 18).

Zorg dat er geen schuim wordt gevormd in of op de monsters. Schuim op monsters kan ertoe leiden dat een verkeerd monstervolume wordt gepipetteerd. Afhankelijk van het uitgangsmateriaal kan een voorbehandeling van het monster nodig zijn. Monsters moeten vóór het starten van de run op kamertemperatuur (15–25 °C) worden gebracht.

Raadpleeg voor meer informatie over de geautomatiseerde procedure (waaronder informatie over de monsterbuizen die bij een specifiek protocol kunnen worden gebruikt) en over specifieke voorbehandelingen van monsters het betreffende protocolblad dat te vinden is onder het tabblad “Resources” van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## DNA bewaren

Na de monsterbereiding kunnen de eluaten maximaal 1 maand bij 2-8 °C worden bewaard. Voor langdurige bewaring kunnen eluaten worden bewaard bij –20 °C of bij –80 °C. Bevroren eluaten mogen niet vaker dan drie maal worden ontdooid.

## Overzicht van het protocol

**Tabel 1. Overzicht van het protocol**

| <b>Monster</b> | <b>Monstervolume (µl)</b> | <b>Elutievolume (µl)</b> | <b>Protocol QIAasymphony SP</b> |
|----------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Plasma, urine  | 2000                      | 60                       | circDNA_2000_DSP                |
|                | 4000                      | 60                       | circDNA_4000_DSP                |

### Belangrijke punten voordat u begint

- Zorg dat u bekend bent met het bedienen van de QIAasymphony SP. Raadpleeg voor aanwijzingen met betrekking tot de bediening de gebruikershandleidingen die bij uw apparaat zijn geleverd.
- Optioneel onderhoud is niet noodzakelijk voor een goede werking van het apparaat, maar wordt sterk aangeraden om het risico van contaminatie te verlagen.
- Lees voordat u met de procedure begint "Principles of the Procedure", blz. 4.
- Zorg ervoor dat u vertrouwd bent met het protocolblad van de procedure die u gaat gebruiken. (Protocolbladen zijn te vinden onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).)
- Zorg dat de reagenscartridge (RC) nooit hard wordt geschud, anders kan schuim worden gevormd. Schuimvorming kan leiden tot problemen bij het detecteren van het vloeistofniveau.
- Controleer voordat u begint met een voorbehandeling 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.

## Wat u moet doen voordat 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 reagenscartridge is geplaatst en dat de deksel van de container met magnetische deeltjes is verwijderd, of, als u een gedeeltelijk gebruikte reagenscartridge gebruikt, controleer of de sealstrips voor hergebruik zijn verwijderd.
- Proteïnase K zit niet in de reagenscartridge maar moet door de gebruiker worden geleverd (monsterlade, slot A, positie 1 en/of 2). Zorg dat het juiste volume proteïnase K beschikbaar is. (Zie voor gedetailleerde informatie het protocolblad dat te vinden is onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).
- Als de monsters zijn voorzien van een streepjescode, plaats de monsters dan zo in de buizendrager dat de streepjescodes naar de streepjescodelezer aan de linkerzijde van de QIAsymphony SP zijn gericht.
- Zie voor informatie over de monsterbuizen die bij een bepaald protocol kunnen worden gebruikt de betreffende lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
- Zie voor informatie over minimale monstervolumes voor secundaire buizen de betreffende lijst met laboratoriummaterialen (labware) die te vinden is onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Protocol: Opzuivering van circulerend celvrij DNA

Hieronder wordt een algemeen protocol voor het gebruik van QIAsymphony DSP-kits gegeven. Gedetailleerde informatie over elk protocol, inclusief volumes en buizen, wordt gegeven in de protocolbladen die te vinden zijn onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

1. Sluit alle laden en de kap.

2. Zet de QIASymphony SP aan en wacht tot het scherm "Sample Preparation" (Monstervoorbereiding) verschijnt en de initialisatieprocedure is voltooid.  
De aan/uitknop zit linksonderaan op de hoek van de QIASymphony SP.
3. Meld u aan op het apparaat.
4. Plaats het benodigde elutierek in de lade "Eluate".  
Plaats geen 96-wellsplaat in "Elution slot 4" (Elutieslot 4). "Elution slot 1", met de corresponderende koeladapter, moet worden gebruikt.  
Als u een 96-wellsplaat gebruikt, zorg dan dat de plaat in de juiste oriëntatie is geplaatst, omdat een verkeerde oriëntatie ertoe kan leiden dat monsters in downstream analyses 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" goed is voorbereid en voer een voorraadscan uit voor de lade "Waste", inclusief de tipgoot en het vloeibare afval. Vervang indien nodig de afvalzak voor tips.
6. Plaats de benodigde reagenscartridge(s) en verbruiksartikelen in de lade "Reagents and Consumables".
7. Voer een voorraadscan uit voor de lade "Reagents and Consumables".
8. Plaats de monsters in de juiste monsterdrager en plaats deze in de lade "Sample" (Monsterlade).
9. Voer voor elke batch monsters en voor de proteïnase K die moeten worden verwerkt de benodigde gegevens in met behulp van het aanraakscherm.  
Voer de volgende gegevens in:
  - Monstergegevens (afhankelijk van de gebruikte monsterrekken)
  - Het protocol dat moet worden gebruikt (Assay Control Set [assaycontroleset])
  - Het elutievolume en de uitvoerpositie

---

Nadat u de gegevens over de batch hebt ingevoerd, verandert de status van **“LOADED”** (Geplaatst) in **“QUEUED”** (In wachtrij). Zodra één batch in de wachtrij is gezet, verschijnt de knop **“Run”** (Run).

10. Plaats de proteïnase K in de juiste monsterdrager op positie 1 en 2 en plaats deze in slot A van de lade **“Sample”**.

11. Definieer de proteïnase K door op de knop **“IC”** (IC) te drukken.

12. Druk op de knop **“Run”** om de opzuiveringsprocedure te starten.

Alle stappen van de verwerking worden volledig automatisch uitgevoerd. Na afloop van de protocolrun verandert de status van de batch van **“RUNNING”** (Run bezig) in **“COMPLETED”** (Voltooid).

13. Neem het elutierek met de opgezuiverde nucleïne-zuren uit de lade **“Eluate”**.

14. Het DNA is klaar voor gebruik of kan worden bewaard bij 2–8 °C, –20 °C of –80 °C.

Wij raden aan om de elutieplaat direct na afloop van de run uit de lade **“Eluate”** te nemen. Als elutieplaten na afloop van de run in de QIASymphony SP blijven staan, kan, afhankelijk van de temperatuur en luchtvochtigheid, condensatie of verdamping bij de platen optreden.

Over het algemeen vindt geen carry-over plaats van magnetische deeltjes in eluaten. Als carry-over plaatsvindt, zullen de magnetische deeltjes in het eluaat de meeste downstream toepassingen niet negatief beïnvloeden.

Als magnetische deeltjes moeten worden verwijderd voordat downstream toepassingen worden uitgevoerd, plaatst u de buizen of platen eerst in een geschikte magneet en brengt u de eluaten vervolgens over in een schone buis (zie **“Appendix: Quantification of circulating cell-free DNA”**, blz. 30).

Voor elke elutieplaat wordt een resultatenbestand gemaakt.

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

---

**Opmerking:** Zie voor meer informatie over het bewaren van gedeeltelijk gebruikte reagenscartridges (RC), "Reagent Storage and Handling", blz. 11.

16. Gooi gebruikte monsterbuizen en afval weg in overeenstemming met de plaatselijk geldende veiligheidsvoorschriften.

Zie voor veiligheidsinformatie "Warnings and Precautions", blz. 9.

17. Reinig de QIASymphony SP.

Volg de onderhoudsinstructies uit de gebruikershandleidingen die bij uw apparaat zijn geleverd. Zorg dat u de tipbeveiligingen regelmatig reinigt om het risico van kruiscontaminatie tot een minimum te beperken.

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

## Kwaliteitscontrole

Elke lot QIASymphony DSP Circulating DNA-kit wordt, in overeenstemming met het ISO-gecertificeerde kwaliteitsbeheersysteem van QIAGEN, getest tegen vooraf vastgestelde specificaties, om een consistente kwaliteit van het product te waarborgen.

## Beperkingen

De goede werking van het systeem is vastgesteld in kwaliteitsbeoordelings-onderzoeken, waarin humaan circulerend celvrij DNA werd geïsoleerd uit humane plasma en urine.

Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de werking van het systeem te valideren voor procedures die in het eigen lab worden gebruikt en die niet zijn opgenomen in de kwaliteitsbeoordelings-onderzoeken van QIAGEN.

Om het risico van een negatieve invloed op de diagnostische resultaten zo klein mogelijk te houden, dienen goede controles voor downstream-toepassingen te worden gebruikt. Voor verdere validering worden de richtlijnen van de "International Conference on Harmonisation

---

*of Technical Requirements (ICH)" in: "ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology", aanbevolen.*

Alle diagnostische resultaten die worden gegenereerd moeten in samenhang met andere klinische bevindingen of laboratoriumuitslagen worden geïnterpreteerd.

# Symbolen

De symbolen in de volgende tabel worden in deze gebruiksaanwijzing gebruikt.



<N>

Bevat reagentia in voldoende hoeveelheden voor <N> reacties



Houdbaar tot



Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek



Catalogusnummer



Lotnummer



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



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



Bevat (inhoud)



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



*Global Trade Item Number* (GTIN-nummer)



Rn

“R” staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing (Handboek); “n” is het revisienummer



Temperatuurlimiet



Fabrikant



Raadpleeg de gebruiksaanwijzing



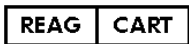
Voorzichtig



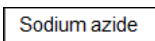
Proteïnase K



Nummer van de well (van de reagenscartridge)



Reagenscartridge



Natriumazide

# Oplossen van problemen

De informatie in dit hoofdstuk kan u helpen bij het oplossen van problemen die zich kunnen voordoen. Zie voor contactgegevens de achterzijde van deze gebruiksaanwijzing of ga naar [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Opmerkingen en suggesties

---

### Algemeen werk

|                                  |  |
|----------------------------------|--|
| Foutmelding op het aanraakscherm | Als tijdens een protocolrun een foutmelding wordt weergegeven, raadpleeg dan de gebruikershandleidingen van uw apparaat. |
|----------------------------------|--|

### Precipitaat in reagenscontainer van geopende cartridge van de QIASymphony DSP-kit

- |   |   |
|---|---|
| a) Verdamping van buffer                | Overmatige verdamping kan leiden tot verhoogde zoutconcentraties in buffers. Gooi de reagenscartridge (RC) weg. Zorg dat u de containers met buffers van een gedeeltelijk gebruikte reagenscartridge (RC) goed afsluit met sealstrips voor hergebruik wanneer ze niet worden gebruikt voor opzuivering. |
| b) Bewaren van de reagenscartridge (RC) | Als een reagenscartridge (RC) beneden 15 °C wordt bewaard, kunnen precipitaten worden gevormd.  |

### Lage opbrengst aan DNA

- |  |  |
|--|--|
| a) De magnetische deeltjes waren niet volledig geresuspendeerd | Controleer vóór u de procedure start of de magnetische deeltjes volledig geresuspendeerd zijn. Vortex vóór gebruik gedurende minimaal 3 minuten. |
|--|--|

## Opmerkingen en suggesties

---

- b) De pipettip was verstopt door onoplosbaar materiaal
- Onoplosbaar materiaal is niet uit het monster verwijderd voordat werd gestart met de opzuiveringsprocedure van de QIAsymphony.
- Gebruik indien nodig voorbehandelingsprocedures zoals beschreven in het betreffende protocolblad dat te vinden is onder het tabblad "Resources" van de productpagina op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).
- c) Monstermateriaal bevat lage concentraties circulerend celvrij DNA
- Vanwege zeer lage concentraties circulerend celvrij DNA in monstermateriaal kan de DNA-concentratie mogelijk niet worden gedetecteerd, afhankelijk van de gebruikte kwantificeringsmethode.
- Het gebruik van gevoelige qPCR wordt aanbevolen om de DNA-concentratie in eluaten te controleren.
- d) Niet volledig hersluiten van de reagenscartridge
- 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 reagenscartridge goed afsluit met sealstrips voor hergebruik wanneer ze niet worden gebruikt voor opzuivering.

## Opmerkingen en suggesties

---

- e) Snelle afbraak van circulerend celvrij DNA in een niet-gestabiliseerd urinemonster

Vanwege de snelle afbraak van circulerend celvrij DNA in niet-gestabiliseerde urinemonsters na monsterafname, is het mogelijk dat in eluaten geen of lage DNA-concentraties worden gedetecteerd. Het wordt aanbevolen om urinemonsters te stabiliseren zoals is beschreven in het corresponderende protocolblad.

U kunt urinemonsters ook direct na afname en centrifugering een ATL-voorbehandeling geven en daarna DNA-extractie op het apparaat uitvoeren, zoals beschreven in het corresponderende protocolblad.

### Geen/onvolledige overbrenging van monsters

- a) Er is een onjuist monstervolume geladen

Als er minder dan respectievelijk 2,4 ml monstervolume en 4,5 mm monstervolume is geladen, is er een verhoogd risico dat onduidelijke vlaggen aan het monster worden toegekend, of dat het monster niet wordt overgebracht (ongeldige vlag).

Laad de juiste hoeveelheid monster zoals is beschreven in de corresponderende lijst met laboratoriummaterialen (labware). Als er onvoldoende monster beschikbaar is, voeg dan PBS toe aan het monster tot het vereiste monstervolume, voordat u het monster laadt.

## Opmerkingen en suggesties

---

- b) Luchtbellen of schuim in de monsterbuis      Luchtbellen of schuim in de monsterbuis en/of de monsterinvoerbus kunnen leiden tot een onjuiste vloeistofniveaudetectie en vervolgens tot onvolledig overbrengen van het monster. Verwijder luchtbellen uit de monsterbuis.

### Luchtbellen op tips zichtbaar tijdens de run van het apparaat

Gebruik van  
FIX-laboratoriummateriaal  
in combinatie met een  
verminderd  
monsterinvoervolume

Als er minder dan respectievelijk 2,1 ml monstervolume en 4,1 mm monstervolume wordt geladen met gebruik van FIX-laboratoriummateriaal, is er een verhoogd risico dat een verminderd monstervolume wordt overgebracht, wat niet door het apparaat wordt gedetecteerd. Dit kan leiden tot schuimvorming tijdens het overbrengen van het monster en/of de daaropvolgende bindingsstap.

Laad de juiste hoeveelheid monster zoals is beschreven in de corresponderende lijst met laboratoriummaterialen (labware) wanneer u FIX-laboratoriummaterialen gebruikt. Als er onvoldoende monster beschikbaar is, voeg dan PBS toe aan het monster tot het vereiste monstervolume, voordat u het monster laadt.

---

## Bijlage: Kwantificering van circulerend celvrij DNA

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

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

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

# Bestelinformatie

| Product   | Inhoudsopgave  | Cat. nr. |
|---|--|----------|
| QIASymphony DSP Circulating DNA-kit (192)             | Bevat 2 reagenscartridges en proteïnase K-buizen en accessoires  | 937556   |
| <b>QIASymphony SP</b>                                 |  |          |
| QIASymphony SP  | QIASymphony monsterbereidingsmodule, 1 jaar garantie op onderdelen en arbeidsloon  | 9001297  |
| <b>Bijbehorende producten</b>                         |  |          |
| Buffer ATL (4 x 50 ml)                                | 4 x 50 ml ATL-buffer voor de voorbehandeling van urinemonsters   | 939016   |
| Proteïnase K (10 ml)                                  | 1 x 10 ml-fles   | 1105392  |
| Reagent Cartridge Holder (2)                          | Houder voor reagenscartridge, voor gebruik met de QIASymphony SP   | 997008   |
| Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym                       | Koeladapter voor 2 ml-buizen met schroefdop. Voor gebruik in de lade "Eluate" van de QIASymphony                         | 9020674  |
| Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym                        | Koeladapter voor EMT-rekken Voor gebruik in de lade "Eluate" van de QIASymphony  | 9020730  |
| Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym | Koeladapter voor 1,5 ml Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock-buizen. Voor gebruik in de lade "Eluate" van de QIASymphony | 9020731  |
| Sample Prep Cartridges, 8-well (336)                  | 8-wells monsterbereidingscartridges voor gebruik met de QIASymphony SP   | 997002   |
| 8-Rod Covers (144)                                    | 8-staafhulzen voor gebruik met de QIASymphony SP   | 997004   |

| <b>Product</b>                  | <b>Inhoudsopgave</b>   | <b>Cat. nr.</b> |
|---------------------------------|--|-----------------|
| Filter-Tips, 200 µl (1024)      | Disposable filtertips in rek; (8 x 128). Voor gebruik met de QIAcube® en de QIASymphony SP/AS  | 990332          |
| Filter-Tips, 1500 µl (1024)     | Disposable filtertips in rek; (8 x 128). Voor gebruik met de QIASymphony SP/AS   | 997024          |
| Tip Disposal Bags (15)          | Afvalzakken voor tips, voor gebruik met de QIASymphony SP  | 9013395         |
| 12-Tube Magnet                  | Magneet voor het scheiden van magnetische deeltjes in buizen 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-wellsplaten, 2 x 96-Well Microplates FB   | 36915           |
| Reuse Seal Set (20)             | Sealsets voor hergebruik, om gedeeltelijk gebruikte QIASymphony reagenscartridges af te sluiten  | 997006          |
| Elution Microtubes CL (24 x 96) | Niet-steriele buizen van polypropyleen (maximale capaciteit 0,85 ml, opslagcapaciteit minder dan 0,7 ml, elutiecapaciteit 0,4 ml); 2304 in rekken van 96; inclusief doppenstrips | 19588           |

Raadpleeg voor bijgewerkte licentie-informatie en productspecifieke disclaimers het desbetreffende handboek van de QIAGEN-kit of de gebruikershandleiding. Handboeken van QIAGEN-kits en gebruikershandleidingen zijn beschikbaar op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) of kunnen worden opgevraagd bij de afdeling QIAGEN Technical Services of uw lokale QIAGEN-vestiging.



De aankoop van dit product geeft de koper het recht om het product te gebruiken voor het uitvoeren van diagnostische diensten voor humane in-vitrodiagnostiek. Hierbij wordt door de aanschaf geen algemeen patent of andere licentie van enige aard verleend anders dan dit specifieke recht van gebruik.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAAsymphony®, QIAcube® [QIAGEN Group]; Eppendorf® [Eppendorf AG].

Gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als zijnde niet wettelijk beschermd.

#### **Beperkte licentieovereenkomst voor de QIAAsymphony DSP Circulating DNA-kit**

Gebruik van dit product houdt in dat de koper of gebruiker van het product akkoord gaat met de volgende punten:

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de bij het product en deze handleiding geleverde protocollen en is uitsluitend voor gebruik met componenten uit de kit. QIAGEN verleent geen licentie onder zijn intellectuele eigendommen om de bijgesloten componenten van deze kit te gebruiken of te incorporeren met andere componenten die niet in deze kit zijn opgenomen, met uitzondering van toepassingen die zijn beschreven in de bij het product geleverde protocollen, dit handboek en aanvullende protocollen die beschikbaar zijn via [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Sommige van deze aanvullende protocollen zijn verstrekt door QIAGEN-gebruikers, voor QIAGEN-gebruikers. Deze protocollen zijn niet uitvoerig door QIAGEN getest of geoptimaliseerd. QIAGEN garandeert deze protocollen niet en verstrekt ook geen waarborg dat deze de rechten van derden niet schenden.
2. Buiten de expliciet vermelde licenties verstrekt QIAGEN geen waarborg dat deze kit en/of het gebruik ervan de rechten van derden niet schendt.
3. Deze kit en de componenten ervan zijn gelicenseerd voor eenmalig gebruik. Ze mogen niet worden hergebruikt, bijgewerkt of doorverkocht.
4. QIAGEN wijst specifiek alle andere dan de uitdrukkelijk vermelde, expliciete of impliciete, licenties af.
5. De koper en gebruiker van de kit gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen, en niemand anders toestaan stappen te ondernemen, die kunnen leiden tot enige handeling die hierboven als verboden is vermeld, of die dergelijke handelingen mogelijk maken. QIAGEN kan naleving van de verboden van deze beperkte licentieovereenkomst bij elke rechtbank afdwingen en zal alle gemaakte kosten van rechtbanken en onderzoeken terugvorderen, met inbegrip van honoraria van advocaten, bij elke handeling om naleving van deze beperkte licentieovereenkomst of intellectuele eigendomsrechten met betrekking tot de kit en/of de componenten ervan af te dwingen.

Zie voor bijgewerkte licentievoorwaarden [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

HB-2309-002 1103177NL 157018501 03/2017

© 2017 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.



