

# QIAsymphony® DSP Circulating DNA Kit Gebrauchsanweisung (Protokollblatt)

circDNA\_2000\_DSP\_V2 und circDNA\_4000\_DSP\_V2

Version 2

**IVD**

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen

Zur Verwendung mit dem QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit

**CE**

**REF**

937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Deutschland

R1

Protokollblätter sind online unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar.

## Allgemeine Informationen

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen.

Dieses Protokoll gilt für die Aufreinigung von zirkulierender zellfreier Human-DNA aus frischen oder gefrorenem Humanplasma und -urin mit dem QIASymphony DSP Circulating DNA Kit und dem QIASymphony SP Gerät.

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit	
Katalog-Nr.	937556	
Probenmaterial	Humanplasma: <ul style="list-style-type: none"><li>• Aus Blutentnahmeröhrchen mit ccfDNA-Profilstabilisatoren (z. B. Cell-Free DNA BCT®, Streck®)</li><li>• Aus Blutentnahmeröhrchen ohne ccfDNA-Profilstabilisatoren (z. B. EDTA)</li></ul> Humanurin: <ul style="list-style-type: none"><li>• Mit cfDNA-Profilstabilisatoren</li><li>• Ohne cfDNA-Profilstabilisatoren</li></ul>	
Protokollbezeichnung	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Standard-Assay-Kontroll-Set	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Elutionsvolumen	60 µl	60 µl
Erforderliche Softwareversion	Version 4.0 oder höher	Version 5.0 oder höher
Erforderliche Softwarekonfiguration für die IVD-Verwendung	Standardprofil 1	Standardprofil 1

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien stets einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

## Schublade „Sample“ (Probe)

<b>Probentyp</b>	Humanplasma und -urin (siehe „Vorbereitung des Probenmaterials“)
Probenvolumen	Abhängig vom verwendeten Probenröhrchentyp Weitere Informationen hierzu können Sie der Labormaterialliste entnehmen, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> verfügbar ist.
Primärprobenröhrchen	n. z.
Sekundärprobenröhrchen	Weitere Informationen hierzu können Sie der Labormaterialliste entnehmen, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> verfügbar ist.
Einsätze	n. z.
Sonstiges	Proteinase K muss auf Platz A (Position 1, 2 und/oder 3) gesetzt werden.

n. z. = nicht zutreffend

## Vorbereitung der Proteinase K in der Schublade „Sample“

Der QIASymphony DSP Circulating DNA Kit enthält eine gebrauchsfertige Proteinase-K-Lösung, die bei Raumtemperatur gelagert werden kann.

Hinweis: Rörchen mit Proteinase K werden in einen Rörchenträger gesetzt. Die Rörchen mit Proteinase K müssen in Position 1, 2 und/oder 3 von Stellplatz A der Schublade „Sample“ (Probe) gesetzt werden. Den erforderlichen Rörchentyp können Sie der Labormaterialliste entnehmen, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar ist.

Anzahl Proben*	circDNA_2000_DSP (µl)	circDNA_4000_DSP (µl)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11 660
72	9020	18 040†
96	11 660	23 320†

\* Je Probe sind bei circDNA\_2000\_DSP 110 µl und bei circDNA\_4000\_DSP 220 µl sowie ein zusätzliches Totvolumen von 1100 µl erforderlich [(n x 110 oder 220 µl) + 1100 µl].

† Bei circDNA\_4000\_DSP: Wenn mehr als 48 Proben verarbeitet werden, verwenden Sie ein zweites Rörchen. Das maximale Füllvolumen je Rörchen beträgt 11,660 µl. Beim zweiten Rörchen ist ein zusätzliches Totvolumen von 1100 µl erforderlich.

## Schublade „Reagents and Consumables“ (Reagenzien und Verbrauchsmaterialien)

Position A1 und/oder A2	Reagenzienkartusche (Reagent Cartridge, RC)
Position B1	n. z.
Halter für Spitzenracks, Positionen 1–18	Einmal-Filterspitzen, 200 µl oder 1500 µl
Halter für Verbrauchsartikel-Container 1–4	Verbrauchsartikel-Container enthalten Probenvorbereitungskartuschen oder 8-Rod Covers.

n. z. = nicht zutreffend

## Schublade „Waste“ (Abfall)

Halter für Verbrauchsartikel-Container 1–4	Leercontainer für Verbrauchsartikel
Halter für Abfallbeutel	Abfallbeutel
Halter für Flüssigabfallbehälter	Flüssigabfallbehälter

## Schublade „Eluate“ (Eluat)

Elutionsrack (es wird empfohlen Platz 1, Kühlposition, zu verwenden)	Weitere Informationen hierzu können Sie der Labormaterialliste entnehmen, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> verfügbar ist.
--	---

## Erforderliche Kunststoff-Verbrauchsartikel

### Protokoll circDNA\_2000\_DSP

Kunststoff-Verbrauchsartikel	Eine Charge 24 Proben*	Zwei Chargen 48 Proben*	Drei Chargen 72 Proben*	Vier Chargen 96 Proben*
Disposable filter-tips, 200 µl <sup>††</sup>	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>††</sup>	56	112	168	224
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	15	30	45	60
8-Rod Covers <sup>§</sup>	3	6	9	12

\* Bei Verwendung von weniger als 24 Proben je Charge verringert sich die Anzahl der pro Lauf benötigten Einmal-Filterspitzen.

<sup>†</sup> Jedes Spitzenrack enthält 32 Filterspitzen.

<sup>†</sup> Bei der Anzahl der erforderlichen Filterspitzen sind die für 1 Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche benötigten Filterspitzen eingerechnet.

<sup>§</sup> Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenvorbereitungskartuschen.

<sup>§</sup> Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Rod Covers.

### Protokoll circDNA\_4000\_DSP

Kunststoff-Verbrauchsartikel	Eine Charge 24 Proben*	Zwei Chargen 48 Proben*	Drei Chargen 72 Proben*	Vier Chargen 96 Proben*
Disposable filter-tips, 200 µl <sup>††</sup>	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>††</sup>	96	192	288	384
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	18	36	54	72
8-Rod Covers <sup>§</sup>	3	6	9	12

\* Bei Verwendung von weniger als 24 Proben je Charge verringert sich die Anzahl der pro Lauf benötigten Einmal-Filterspitzen.

<sup>†</sup> Jedes Spitzenrack enthält 32 Filterspitzen.

<sup>†</sup> Bei der Anzahl der erforderlichen Filterspitzen sind die für 1 Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche benötigten Filterspitzen eingerechnet.

<sup>§</sup> Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenvorbereitungskartuschen.

<sup>§</sup> Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Rod Covers.

Hinweis: Die angegebene Anzahl von Filterspitzen kann je nach Einstellung, von der auf dem Touchscreen angezeigten Anzahl abweichen, z. B. die Anzahl der pro Charge verwendeten internen Kontrollen.

## Elutionsvolumen

Ausgewähltes Elutionsvolumen

60 µl

Anfängliches Elutionsvolumen

75 µl

Das Elutionsvolumen wird auf dem Touchscreen ausgewählt. Das mittlere verfügbare Elutionsvolumen ist  $\geq 60$  µl. Im Einzelfall kann das endgültige Eluatvolumen bei Einzelproben bis zu 5 µl unter dem ausgewählten Volumen liegen (z. B. 55 µl). Bei Verwendung eines automatischen Assay-Systems, welches das Eluatvolumen vor dem Transfer nicht prüft, wird empfohlen, das tatsächliche Eluatvolumen zu kontrollieren.

## Lagerung von Eluaten

Hinweis: Die Stabilität von Eluaten hängt stark von verschiedenen Faktoren ab und steht in Verbindung mit der jeweiligen nachgelagerten Anwendung. Dies wurde für das QIASymphony DSP Circulating DNA Kit in Verbindung mit exemplarischen nachgelagerten Anwendungen nachgewiesen. Es obliegt dem Anwender, die Gebrauchsanweisung zu der speziellen, in seinem Labor nachgelagerten Anwendung zu lesen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um richtige Lagerungsbedingungen festzulegen.

Es wird empfohlen, die Eluatplatte unmittelbar nach Abschluss des Laufs aus der Schublade „Eluate“ (Eluat) zu nehmen. Elutionsplatten können nach Abschluss eines Laufs über Nacht im QIASymphony SP verbleiben (maximal 16 Stunden einschließlich Laufzeit; empfohlene Umgebungsbedingungen: 18–26 °C bei 20-75% relativer Luftfeuchtigkeit). Je nach Temperatur und Luftfeuchtigkeit kann es im Eluat zu Kondensation oder Verdunstung kommen.

Die Eluate können nach der Probenvorbereitung bei 2–8 °C maximal 1 Monat und bei –20 °C oder bei –80 °C für bis zu 2 Monate gelagert werden. Gefrorene Eluate dürfen maximal 3-mal aufgetaut werden.

## Vorbereitung des Probenmaterials

Hinweis: Die Probenstabilität hängt von verschiedenen Faktoren ab und bezieht sich auf die spezielle nachgelagerte Anwendung. Dies wurde für das QIASymphony DSP Circulating DNA Kit in Verbindung mit exemplarischen nachgelagerten Anwendungen nachgewiesen. Es obliegt dem Anwender, die Gebrauchsanweisung zu der speziellen, in seinem Labor nachgelagerten Anwendung zu lesen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um richtige Lagerungsbedingungen festzulegen.

## Humanplasma

Bei der Verwendung von Blutentnahmeröhrchen mit ccfDNA-Profilstabilisatoren müssen die Anweisungen des Herstellers bei der Vorbereitung, Lagerung und dem Transport sowie bei der allgemeinen Handhabung von Proben beachtet werden. Bei der Verwendung von Blutentnahmeröhrchen ohne ccfDNA-Profilstabilisatoren müssen, sofern verfügbar, die Anweisungen des Anbieters des speziellen Untersuchungsverfahrens bei der Vorbereitung, Lagerung und dem Transport sowie bei der allgemeinen Handhabung von Plasma beachtet werden. Weitere Informationen finden Sie in der ISO 20186-3:2019 (E) Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren - Spezifikationen für präanalytische Prozesse für venöse Vollblutproben - Teil 3: Aus Plasma isolierte zirkulierende zellfreie DNA.

Unabhängig von den Anweisungen des Herstellers der Blutentnahmeröhrchen sollten die folgenden Aspekte der ISO 20186-3:2019 (E) zur automatischen ccfDNA-Extraktion aus Plasma mithilfe des QIASymphony DSP Circulating DNA Kit und des QIASymphony SP Geräts berücksichtigt werden.

Blutproben ohne ccfDNA-Profilstabilisator können für die Plasmavorbereitung (z. B. in EDTA-Blutentnahmeröhrchen) verwendet werden. Plasma aus Röhrchen mit ccfDNA-Profilstabilisator (z. B. in Cell-Free DNA BCT von Streck) können ebenfalls verwendet werden.

Bei Verwendung von EDTA oder Citrat als Antikoagulans wird empfohlen, die Plasmatrennung unmittelbar nach der Blutentnahme durchzuführen.

Bei bestimmten nachgelagerten Anwendungen kann es erforderlich sein, Nukleinsäuren aus Vesikeln auszuschließen oder zu minimieren. In solchen Fällen wird empfohlen, das gewonnene Plasma bei Raumtemperatur (15–25 °C) 10 Minuten lang mit 16.000 x g bei hoher Geschwindigkeit zu zentrifugieren.

Nach Gewinnung und Zentrifugation kann das Plasma bei Raumtemperatur bis zu 7 Tage oder bei 2–8 °C bis zu 14 Tage gelagert werden. Zur längerfristigen Lagerung über bis zu 24 Monate wird das Einfrieren der Aliquote bei –20 °C oder –80 °C empfohlen. Gefrorenes Plasma darf maximal 3-mal aufgetaut werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen führt zur Denaturierung und Ausfällung von Proteinen, wodurch sich die Ausbeute an zirkulierenden, zellfreien Nukleinsäuren verringern kann. Es wird empfohlen, Plasma 30 Minuten lang in einem Wasserbad bei 30 °C aufzutauen. Falls Kryopräzipitate in den Proben sichtbar sind, müssen Sie vor dem Laden der Proben auf das Gerät entfernt werden. Kryopräzipitate können durch Vortexen der Probe aufgelöst werden (stellen Sie sicher, dass auf der Probe sichtbarer Schaum vor dem Laden der Probe auf das Gerät entfernt wird). Alternativ können Kryopräzipitate durch Zentrifugieren und Übertragen des Überstands ohne Aufwirbeln des Pellets auf ein Sekundärröhrchen entfernt werden (siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)) zu finden ist. Starten Sie den Aufreinigungsvorgang sofort.

## Humanurin

Aufgrund des schnellen Abbaus von ccfdNA nach der Urinentnahme wird dringend empfohlen, Urinproben sofort zu stabilisieren. Exemplarische nachgelagerte Anwendungen wurden für das QIASymphony DSP Circulating DNA Kit verwendet, um Empfehlungen für die Handhabung und Stabilisierung von Urin festzulegen. Obwohl das Kit als Front-End für mehrere nachgelagerte Anwendungen verwendet wird, muss die Handhabung von Urin für solche Arbeitsabläufe im Rahmen der Entwicklung der nachgelagerten Anwendung bestimmt werden. Wenn alternativ ein im Handel erhältlicher cfDNA-Profilstabilisator für Urin verwendet wird, müssen die Anweisungen des Herstellers beachtet werden.

### Humanurin, stabilisiert

Stabilisierter Urin kann bei Raumtemperatur (15–25 °C) oder bei 2–8 °C bis zu 7 Tage gelagert werden. Zur längerfristigen Lagerung über bis zu 24 Monate wird das Einfrieren der Aliquote bei –20 °C oder –80 °C empfohlen.

Stabilisierte Urinproben erfordern keine Probenvorbehandlung. Nach der Stabilisierung wird empfohlen, die Urinproben bei Raumtemperatur (15–25 °C) 10 Minuten lang mit geringer Drehzahl (1900 x g) zu zentrifugieren, um vorhandene Zellen vor der Extraktion der ccfdNA zu entfernen. Wenn nach dem Zentrifugieren Niederschläge in den Überständen sichtbar sind, erwärmen Sie die Proben im Wasserbad auf 25 °C, um die Niederschläge aufzulösen. Transferieren Sie stabilisierte Urinproben vor dem Start des Laufs in ein Sekundärprobenröhrchen und laden Sie dieses auf den Probenträger (siehe Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar ist).

### Humanurin, unstabilisiert

Bevor Sie ein Protokoll starten, bei dem Buffer ATL verwendet wird, überprüfen Sie, ob sich im Buffer ATL ein Niederschlag gebildet hat. Lösen Sie ggf. den Niederschlag durch Erwärmen auf 70 °C im Wasserbad unter leichtem Schütteln auf. Saugen Sie Blasen an der Oberfläche des Buffer ATL ab.

**Hinweis:** Buffer ATL (, 4 x 50 ml, Kat.-Nr. 939016) ist nicht Bestandteil des QIASymphony DSP Circulating DNA Kit und muss separat bestellt werden.

Es wird empfohlen, die Urinproben sofort nach der Entnahme bei Raumtemperatur (15–25 °C) 10 Minuten lang mit geringer Drehzahl (1900 x g) zu zentrifugieren, um vorhandene Zellen zu entfernen. Unstabilisierte Urinproben erfordern eine Vorbehandlung.

**Wichtig:** Äquilibrieren Sie die Proben vor Beginn der Vorbehandlung auf Raumtemperatur (15–25 °C).

**Wichtig:** Zentrifugation und Vorbehandlung müssen innerhalb von 4 Stunden nach der Entnahme der Urinprobe durchgeführt werden.

- Mischen Sie 2500 µl (circDNA\_2000\_DSP) oder 4500 µl (circDNA\_4000\_DSP) Urin mit 250 µl bzw. 450 µl Buffer ATL.
- Inkubieren Sie die Proben 1 Stunde lang bei Raumtemperatur (15–25 °C).
- Zentrifugieren Sie die Proben bei Raumtemperatur (15–25 °C) 10 Minuten lang bei 1900 x g.
- Wenn nach dem Zentrifugieren Niederschläge im Überstand sichtbar sind, erwärmen Sie die Proben im Wasserbad auf 25 °C, um die Niederschläge aufzulösen.
- Transferieren Sie die Überstände in ein Sekundärprobenröhrchen und laden Sie dieses auf den Probenträger (siehe Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resource“ (Ressource) auf der Produktseite unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar ist).

**Wichtig:** Die Stabilität und Integrität von ccDNA in unstabilierten Urinproben ist begrenzt. Es wird empfohlen, je QIASymphony Lauf maximal eine Charge mit 24 Proben zu laden, um den Zeitraum zu minimieren, für den sich die Urinproben im Gerät befinden.

### Wichtige Hinweise, die vor dem Laden der Proben beachtet werden müssen

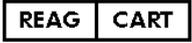
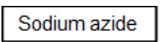
- Vermeiden Sie Schaumbildung in und auf den Proben.
- Die Proben müssen vor Start des Protokolllaufs auf Raumtemperatur (15–25 °C) äquilibriert werden.

### Störsubstanzen

Hohe Konzentrationen von Gammaglobulin (> 30 g/l) in Plasmaproben können zur einer geringeren Ausbeute an zirkulierender zellfreier DNA führen.

## Symbole

Die folgenden Symbole werden in der Gebrauchsanweisung oder auf der Verpackung und Kennzeichnung verwendet:

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Inhalt ausreichend für <N> Reaktionen
	Verfallsdatum
	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der europäischen Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.
	In-vitro-Diagnostikum
	Katalognummer
	Chargennummer
	Materialnummer (Kennzeichnung von Komponenten)
	Komponenten
	Enthält
	Anzahl
	Internationale Artikelnummer (Global Trade Item Number, GTIN)
<b>R<sub>n</sub></b>	R steht für Revision der Gebrauchsanweisung, n ist die Revisionsnummer
	Zulässiger Temperaturbereich
	Hersteller
	Gebrauchsanweisung beachten
	Warnung/Vorsicht
	Proteinase K
	Kavitätsnummer (d. h. Kavität der Reagenzienkartusche)
	Reagenzienkartusche
	Natriumazid
	Ethanol
	Unique Device Identifier (eindeutige Gerätekennung)

## Bearbeitungsverlauf

Revision	Beschreibung
R1, Juni 2022	Version 2, Revision 1 <ul style="list-style-type: none"><li>• Aktualisierung auf Version 2 für die Compliance mit der IVDR</li><li>• Die Formulierung der Probenhandhabung wurde zur Übereinstimmung mit der ISO 20186-3:2019 (E) Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren - Spezifikationen für präanalytische Prozesse für venöse Vollblutproben - Teil 3: Aus Plasma isolierte zirkulierende zellfreie DNA</li></ul>

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im Handbuch oder Benutzerhandbuch des jeweiligen QIAGEN®-Kits. QIAGEN Kit-Handbücher und Benutzerhandbücher sind unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden,

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.  
06/2022 HB-3034-S01-001© 2022 QIAGEN,. Alle Rechte vorbehalten.