

Април 2021 г.

# Инструкции за употреба на апарата QIAasymphony<sup>®</sup> SP (протоколен лист)

За набора PreAnalytiX QIAasymphony  
PAXgene<sup>®</sup> Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)  
и епруветката PreAnalytiX PAXgene  
Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; **CE**<sup>0123</sup>)

Протоколи за инвитро диагностика с PAXgene Blood  
ccfDNA:

PAXcircDNA\_2400, PAXcircDNA\_4800, PAXcircDNA\_PrimaryTube\_2400 и PAXcircDNA\_PrimaryTube\_4000

---

## Обща информация

За инвитро диагностика.

QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), за употреба на апарата QIASymphony SP, е предназначен за автоматизирано изолиране и пречистване на безклетъчна ДНК в кръвообращението (circulating cell-free DNA, ccfDNA) от плазма, генерирана от човешка венозна цяла кръв, взета в епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD).

Процедурата за пречистване е оптимизирана за употреба с плазма, генерирана от човешка венозна цяла кръв, взета в епруветките PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). Инструкции за процедурата за вземане на кръв ще намерите в инструкциите за употреба на епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) на уебсайта за продуктите ([www.PreAnalytiX.com](http://www.PreAnalytiX.com)).

Четири различни протокола са установени за автоматизирано изолиране на ccfDNA от плазма, генерирана от човешка венозна цяла кръв, взета в епруветките PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD). В стандартните версии може да се избира 2,4 или 4,8 ml плазма като входен обем на аликвотната част. Освен това протоколите за работа с първични епруветки позволяват директно поставяне на епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) на апарата QIASymphony SP. Протоколи за работа с първични епруветки има за 2,4 или 4,0 ml плазма като входен обем на аликвотната част (вижте таблиците на следващите страници).

Всеки обем плазма, използван за извличане на ccfDNA, изисква съответния входен обем на аликвотната част, включващ неизползваемия обем, и съответния протоколен сценарий, както е обобщено в таблица 1.

Таблица 1. Обща информация за употреба на набора QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

| <b>Материал в аликвотната част</b> | Човешка плазма, генерирана от венозна цяла кръв, взета в епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) |  |  |  |
|------------------------------------|---|--|--|--|
| <b>Набор</b>                       | QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD), 192, каталожен № 768566                                |  |  |  |
| <b>Версия на софтуера</b>          | Версия 5.0 или по-нова  |  |  |  |
| <b>Протоколи</b>                   | <b>Вид протокол</b>   | <b>Входен обем на аликвотната част (включващ неизползваемия обем) (ml)</b> | <b>Обем на аликвотната част, използван за извличане на ccfDNA (ml)</b> | <b>(Assay Control_) Име на протокола</b> |
|                                    | Стандартен  | 2,8  | 2,4  | (ACS_) PAXcircDNA_2400                   |
|                                    |   | 5,3  | 4,8  | (ACS_) PAXcircDNA_4800                   |
|                                    | Работа с първични епруветки   | според инструмента за избор  | 2,4  | (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400       |
|                                    |   |  | 4,0  | (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000       |

Подготовката на плазмата може да се извърши: А) със стандартния протокол с двойно центрофугиране или В) с протокола за работа с първични епруветки – директна обработка на еднократно центрофугираните епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) на апарата QIASymphony SP.

#### А) Подготовка на плазма от кръв за стандартни протоколи

1. Центрофугирайте епруветката PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) при стайна температура (15–25 °C) 15 минути на 1600–3000 x *g* с балансирана центрофуга с променлив ъгъл. Ако е желателно да се използва спирачка, се препоръчва тя да бъде на средно ниво и това да се валидира за конкретната процедура.

**Забележка:** За най-добри работни характеристики при аликвотни части, съхранявани в хладилник преди центрофугиране, оставете епруветките да се темперират до стайна температура преди обработката.

2. Пипетирайте плазмата в 15-ml епруветка с конично дъно за центрофуга (непредоставена), като внимавате да не нарушите целостта на образуваното ядро от клетъчната фракция.
3. Центрофугирайте приготвената 15-ml епруветка с конично дъно 10 минути при стайна температура (15–25 °C) на 1600–3000 x *g* с балансирана центрофуга.

**Забележка:** Не превишавайте препоръчаната от производителя на вторичната епруветка максимална скорост на центрофугиране.

4. Пипетирайте необходимия обем плазма (вижте раздел „Обем на аликвотната част“ на страница 6) в 14-ml епруветка 17 x 100 mm от полистирен с обло дъно, като внимавате да не нарушите целостта на остатъчната пелета от кръвни клетки, ако има такава.

5. Прехвърлете епруветката с обло дъно с алиquotната част от плазмата в носача за епруветки и заредете носача за епруветки във входното отделение за алиquotни части на апарата QIASymphony SP.

**Забележка:** За да получите максимално количество scfDNA, обработвайте максималния възможен обем плазма.

**Забележка:** Предотвратявайте образуване на пяна в алиquotните части от плазма или върху тях. Ако върху алиquotните части има пяна или въздушни мехурчета, може да не се пипетира точният необходим обем.

**Забележка:** След вземане на кръв и центрофугиране плазмата може да се съхранява при 2–8 °C до 7 дена. За по-продължително съхранение препоръчваме алиquotните части да се замразяват.

**Забележка:** Когато се използват оставени на съхранение алиquotни части от плазма (например съхранявани при 2–8 °C или замразени при -20 или -70 °C/-80 °C), те трябва да се темперират до стайна температура (15–25 °C) преди започване на обработката.

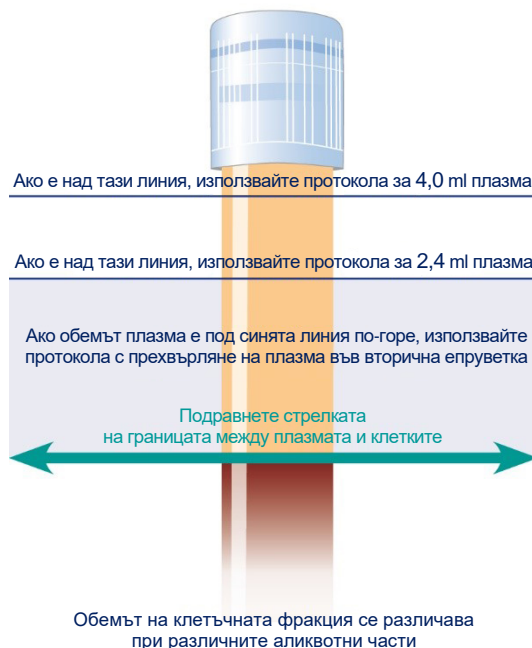
## **В) Подготовка на плазма от кръв за работа с първични епруветки на апарата QIASymphony SP**

1. Центрофугирайте епруветката PAXgene Blood scfDNA Tube (CE-IVD) при стайна температура (15–25 °C) 15 минути на 3000 x g с балансирана центрофуга с променлив ъгъл. Ако е желателно да се използва спирачка, се препоръчва тя да бъде на средно ниво и това да се валидира за конкретната процедура.

**Забележка:** За най-добри работни характеристики при алиquotни части, съхранявани в хладилник преди центрофугиране, оставете епруветките да се темперират до стайна температура преди обработката.

2. Извършете количествено определяне на обема плазма във всяка епруветка, след като я извадите от центрофугата, с инструмента за избор PAXgene Blood scfDNA Purification Protocol Selection Tool, предоставен с набора (фигура 1). След изваждането на епруветката от центрофугата синьозелената стрелка на инструмента се подравнява на границата между плазмата и клетките. Сините линии показват дали нивото на плазмата е достатъчно за протокола за работа с 2,4-ml или 4,0-ml първични епруветки. Колоната с плазма трябва да има височина минимум 2,3 cm за протокола за 2,4 ml и минимум 3,4 cm за протокола за 4,0 ml.

Определяне на оптималния протокол  
за директна обработка на епруветки  
PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)  
на апарата QIASymphony SP



Фигура 1. Определяне на обема плазма с инструмента за избор PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (само илюстративно; не отпечатвайте, защото реалният размер се различава – не трябва да се използва с аликвотни части).

**Забележка:** Ако не се е получило ясно разделяне на плазмата и клетъчната фракция или фазите неволно са се смесили след изваждането от центрофугата, центрофугирането трябва да се повтори.

3. Изваждайте капачките Hemogard Closure Cap от епруветките PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), преди да ги поставите на апарата QIASymphony SP за директно извличане на ccfDNA.
4. Поставете отворените епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), които съдържат достатъчно плазма, в носач за епруветки и заредете носача за епруветки във входното отделение за аликвотни части на апарата QIASymphony SP.

## Обем на аликвотната част

При обичайната процедура, за да се осигури прехвърляне на 2,4 ml (протокол PAXcircDNA\_2400) и 4,8 ml (протокол PAXcircDNA\_4800) аликвотна част от апарата, е необходим неизползваем обем съответно 0,4 и 0,5 ml, което означава, че входният обем на аликвотната част трябва да бъде съответно минимум 2,8 и 5,3 ml. Ако наличните обеми плазма са по-малки от 2,8 или 5,3 ml, интегрираната в протокола функция Less Sample mode (Режим за по-малка аликвотна част) позволява прехвърлянето на по-малки от посочените обеми. В този случай по-малко аликвотна част се прехвърля от апарата и прехвърленият обем се документира във файла с резултатите. Освен това съответните аликвотни части се отбелязват с флаг „неуточнени“ (код на грешка 140043, Enable Less Sample mode (Включен режим за по-малка аликвотна част)). Минималните входни обеми плазма за включване на Less Sample mode (Режим за по-малка аликвотна част) са 1,6 ml (протокол PAXcircDNA 2400) и 4,1 ml (протокол PAXcircDNA 4800). Аликвотните части няма да се обработят и ще се отбележат с флаг „невалидни“, ако бъде подаден по-малък обем аликвотна част. При процедурата за работа с първични епруветки необходимият обем аликвотна част се осигурява с използването на инструмента за избор PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool, предоставен с набора и описан в раздел „B) Подготовка на плазма от кръв за работа с първични епруветки на апарата QIASymphony SP“ на страница 4.

## Отделение „Sample“ (Аликвотна част)

Таблица 2. Информация за конфигурирането на отделението за аликвотни части\*

|   |   |
|---|---|
| <b>Вид на аликвотната част</b>  | Човешка плазма, генерирана от венозна цяла кръв, взета в епруветки PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD)   |
| <b>Входен обем на аликвотната част (включващ неизползваемия обем)</b> | 2,8 ml (PAXcircDNA_2400);<br>5,3 ml (PAXcircDNA_4800)<br>Вижте PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400)<br>Вижте PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000) |
| <b>Първични епруветки за аликвотни части</b>                          | 10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm (BD™, каталожен № 768165)  |
| <b>Вторични епруветки за аликвотни части</b>                          | 14-ml полистиренови епруветки 17 x 100 mm с обло дъно (Corning®, каталожен № 352051)  |
| <b>Вложки</b>   | n/a   |
| <b>Други</b>  | Proteinase K е необходима в 14-ml полистиренови епруветки 17 x 100 mm с обло дъно (Corning, каталожен № 352051); използвайте само позиции 1 и 2 на носача за епруветки (за гнездо A)  |

\* Вижте също така списъка Labware (Лабораторни изделия) на раздела Product Resources (Информация за изделия) на [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

n/a: не е приложимо.

## Епруветки за аликвотни части за носач за епруветки

Таблица 3. Информация за конфигурирането на носача за епруветки\*

| Име на сензорния екран             | Доставчик | Материал  | Примерен каталожен № | Вложка                 | PAXcircDNA_2400   | PAXcircDNA_4800   | PAXcircDNA_PrimaryTube_2400                                     | PAXcircDNA_PrimaryTube_4000 |
|------------------------------------|-----------|---|----------------------|------------------------|---|---|---|-----------------------------|
| BD #352051 FalconPP 17 x 100       | Coming†   | 14 ml Falcon® polystyrene round-bottom tube 17 x 100 mm | 352051               | Не е необходима вложка | 2,8 ml‡<br><b>(Enable Less Sample mode</b><br>(Включен режим за по-малка аликвотна част)) | 5,3 ml‡<br><b>(Enable Less Sample mode</b><br>(Включен режим за по-малка аликвотна част)) | n/a   | n/a                         |
| BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 x 100 | BD        | 10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 x 100 mm    | 768165               | Не е необходима вложка | n/a   | n/a   | Вижте PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool |                             |

\* Вижте също така списъка Labware (Лабораторни изделия) на раздела Product Resources (Информация за изделия) на [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

† Преди това са доставяни от BD.

‡ Минимален необходим обем за всяка аликвотна част за всеки протокол (включващ неизползваемия обем); позволява откриване на съсиреци.

§ Намален минимален обем аликвотна част с използване на Enable Less Sample mode (Включен режим за по-малка аликвотна част). Enable Less Sample mode (Включен режим за по-малка аликвотна част) е предвиден за използване на цялата налична течност в комбинация с функциите за установяване на нивото на течността и откриване на съсиреци. Когато се използва Enable Less Sample mode (Включен режим за по-малка аликвотна част), аликвотните части се отбелязват с флаг „неуточнени“.

n/a: не е приложимо.

## Отделение „Reagents and Consumables“ (Реактиви и консумативи)

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| Позиция A1 и/или A2              | Касета с реактиви   |
| Позиция B1                       | n/a   |
| Държач за статив с връхчета 1–17 | Филтърни връхчета за еднократна употреба, 200 µl или 1500 µl                      |
| Държач за модулна кутия 1–4      | Модулни кутии, съдържащи касети за подготовка на аликвотни части или 8-Rod Covers |

n/a: не е приложимо.

## Отделение „Waste“ (Отпадъци)

|                                 |                              |
|---------------------------------|------------------------------|
| Държач за модулна кутия 1–4     | Празни модулни кутии         |
| Държач за торба за отпадъци     | Торба за отпадъци            |
| Държач за съд за течни отпадъци | Празен съд за течни отпадъци |

## Отделение „Eluate“ (Елуат)

| Доставчик  | Материал  | Примерен каталожен №        | Категория  | Име на сензорния екран                                   | Адаптер на гнездо за елуиране 1 (с охлаждане)                                |
|------------|---|-----------------------------|--|--|--|
| QIAGEN     | Elution Microtubes CL 96                              | Доставя се с набора (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**<br>T1.5 Snap Cap                        | Snap-Cap Microtube   |
| Sarstedt®  | 1.5 ml Microtube, PP, non-skirted                     | 72607                       | Tube, 1.5 ml/<br>Tube, 1.5 ml Adapter V1 (no BC) | SAR#72.607*<br>T1,5 Screw/<br>SAR#72.607**<br>T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS   |
| Sarstedt   | 2.0 ml Microtube, PP, non-skirted                     | 72693                       | Tube 2.0 ml/<br>Tube_2.0ml AdapterV1 (no BC)     | SAR#72.693*<br>T2.0 Screw                                | Microtube Screw Cap QS   |
| Starlab®   | 1.5 ml Microtube, graduated conical tube, non-skirted | E1415-2231                  | Tube, 1.5 ml/<br>Tube_1.5ml AdapterV1 (no BC)    | SL#E1415-2231*<br>T1.5 Screw                             | Microtube Screw Cap QS, 24-wells, каталожен № 9020674 (гнездо с охлаждане 1) |
|            |   |                             |  | SL#E1415-2231<br>**T1,5 Screw                            | Microtube Screw Cap QS (гнездо с охлаждане 1)                                |
|            |   |                             |  | SL#E1415-2231<br>T1,5 Screw                              | 1,5/2,0 ml QS (гнезда без охлаждане 2-4)                                     |

\* Означава лабораторни изделия, които може да се охладят с адаптер за охлаждане с баркод (може да се прехвърлят и използват на QIASymphony AS).

\*\* Означава лабораторни изделия, които може да се охладят с адаптер за охлаждане без баркод (не може да се прехвърлят и използват на QIASymphony AS).



## Необходими пластмасови изделия

| Пластмасови изделия               | PAXcircDNA_2400                         |   | PAXcircDNA_4800                         |   |
|-----------------------------------|---|---|---|---|
|                                   | PAXcircDNA PrimaryTube_2400             |   | PAXcircDNA PrimaryTube_4000             |   |
|                                   | Една партида,<br>24 аликвотни<br>части* | Две партиди,<br>48 аликвотни<br>части*    | Една партида,<br>24 аликвотни<br>части* | Две партиди,<br>48 аликвотни<br>части*    |
| Disposable filter-tips, 200 µl††  | 24                                      | 48  | 24                                      | 48  |
| Disposable filter-tips, 1500 µl†† | 64                                      | 128                                       | 104                                     | 200                                       |
| Sample prep cartridges§           | 15                                      | 30  | 18                                      | 36  |
| 8-Rod Covers¶                     | 3                                       | 6   | 3                                       | 6   |
|                                   | Три партиди,<br>72 аликвотни<br>части*  | Четири партиди,<br>96 аликвотни<br>части* | Три партиди,<br>72 аликвотни<br>части*  | Четири партиди,<br>96 аликвотни<br>части* |
| Disposable filter-tips, 200 µl††  | 72                                      | 96  | 72                                      | 96  |
| Disposable filter-tips, 1500 µl†† | 192                                     | 256                                       | 296                                     | 392                                       |
| Sample prep cartridges§           | 45                                      | 60  | 54                                      | 72  |
| 8-Rod Covers¶                     | 9                                       | 12  | 9                                       | 12  |

\* Използване на по-малко от 24 аликвотни части на една партида намалява необходимия брой филтърни връхчета за еднократна употреба за едно изпълнение. Извършването на повече от едно сканиране на материалите изисква допълнителни филтърни връхчета за еднократна употреба.

† На един статив има 32 филтърни връхчета.

‡ Необходимият брой филтърни връхчета включва филтърни връхчета за 1 сканиране на материалите на всяка касета с реактиви.

§ В една модулна кутия има 28 касети за подготовка на аликвотни части.

¶ В една модулна кутия има дванадесет 8-Rod Covers.

**Забележка:** Посоченият брой филтърни връхчета може да се различава от показания на сензорния екран в зависимост от настройките. Препоръчваме да се зарежда максималният възможен брой връхчета.

## Обем за елуиране

| Избран обем за елуиране (µl)* | Начален обем за елуиране (µl)† |
|-------------------------------|--------------------------------|
| 60                            | 75                             |

\* Това е минималният достъпен обем на елуата в епруветката за окончателното елуиране за статива QIAGEN EMT (каталожен № 19588) и 1,5-ml епруветки Sarstedt Screw Cap Tube (каталожен № 72.607). В отделни случаи окончателният обем на елуата за единични аликвотни части може да бъде до 5 µl по-малък.

† Началният обем на буфера за елуиране, необходим, за да бъде действителният обем на елуата същият като избрания.

## Приготвяне на Proteinase K на позиция 1 (и ако е необходимо, на позиция 2) на гнездо А

Наборът QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) съдържа готов за употреба разтвор Proteinase K. Proteinase K може да се съхранява при стайна температура (15–25 °C). За продължително съхранение препоръчваме шишетата с ензим Proteinase K да се съхраняват при 2–8 °C.

| Номер на аликвотната част | PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400* | PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* |
|---------------------------|--|--|
| 8                         | 1980 µl                                      | 2860 µl                                      |
| 24                        | 3740 µl                                      | 6380 µl                                      |
| 48                        | 6380 µl                                      | 11 660 µl†                                   |
| 96                        | 11 660 µl†                                   | 23 320 µl†                                   |

\* За всяка аликвотна част са необходими 110 µl (за 2400 µl плазма) или 220 µl (за 4800/4000 µl плазма) плюс допълнителен неизползваем обем 1100 µl [(n × 110 или 220 µl) + 1100 µl].

† Ако са необходими повече от 11 660 µl, използвайте втора епруветка (Corning, каталожен № 352051). За втората епруветка е необходим допълнителен неизползваем обем 1100 µl.

**Забележка:** Епруветките с Proteinase K се поставят в носач за епруветки. Носачът за епруветки, съдържащ Proteinase K, трябва да се постави на позиции 1 и 2 в гнездо А на отделението „Sample“ (Аликвотна част). Препоръчваме да се използват 14-ml полистиренови епруветки 17 × 100 mm с обло дъно (Corning, каталожен № 352051) за Proteinase K.

## Хронология на редакциите

| Дата        | Промени   |
|-------------|---|
| R1, 04/2021 | Първа редакция.   |
| R2, 04/2021 | Замества „(CE 0123)“ в нормален текстов формат със следните изисквания за дизайн на IVDR Приложение X |

За актуална информация относно лицензирането и заявления за освобождаване от отговорност за конкретни продукти вижте съответния наръчник или ръководство за потребителя на набора QIAGEN. Наръчници и ръководства за потребителя на набори QIAGEN могат да се изтеглят от адрес [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), да се поръчат от „Техническо обслужване“ или местния дистрибутор на QIAGEN.

Търговски марки: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAasymphony® (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). Регистрираните наименования, търговски марки и пр., използвани в този документ, дори да не са изрично обозначени като такива, не следва да се считат за незащитени от закона.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, всички права запазени.

---

Поръчки: [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Техническа поддръжка: [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Уебсайт: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)