

# QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit Kullanım Talimatları (Performans Özellikleri)

Versiyon 3

**IVD**

İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir  
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ile kullanım içindir



**REF**

61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Almanya

**R1**

Performans Özellikleri elektronik olarak mevcuttur ve [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresindeki ürün sayfasında kaynak sekmesi altında bulunabilir.

# Genel Giriş

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit, genomik DNA'nın biyolojik numunelerden izolasyonu ve saflaştırılması amacıyla silika-membran teknolojisini (QIAamp teknolojisi) kullanır.

Birden fazla kan örneğinin eş zamanlı işlenmesi için tasarlanan QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürleri ile saflaştırılmış ve kullanıma hazır DNA elde edilir. Prosedürler, taze veya dondurulmuş tam kan ile kullanıma ve sitrat veya EDTA ile işlem görmüş kan ile kullanıma uygundur.

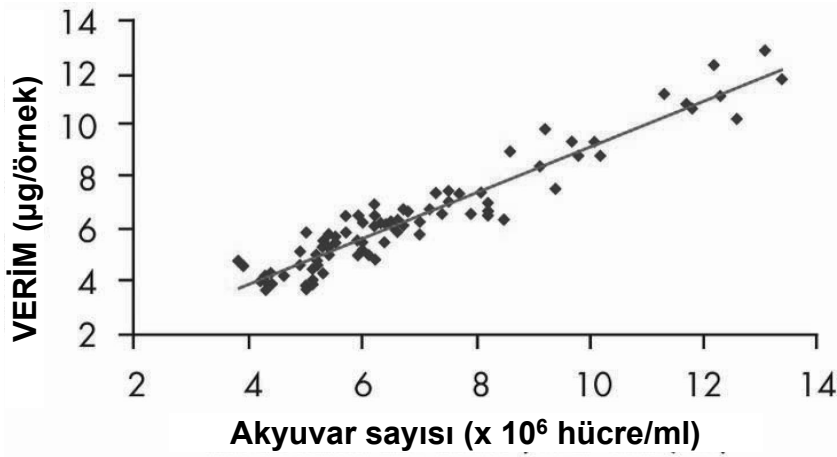
Kolay QIAamp DSP döndürme ve vakumlama prosedürleri, birden fazla örneğin eş zamanlı işlenmesi için uygundur. QIAamp döndürme prosedürlerinden bazıları, yüksek standardizasyon ve kullanım kolaylığı sağlamak adına QIAcube® Connect MDx üzerinde tamamen otomatik hale getirilebilir. QIAcube Connect MDx, nükleik asitler için otomatik izolasyon ve saflaştırma gerçekleştirir. Tek bir çalışmada en fazla 12 örnek işleyebilir.

## Performans Özellikleri

**Not:** Performans Özellikleri büyük ölçüde çeşitli faktörlere bağlıdır ve spesifik aşağı akışlı uygulama ile ilgilidir. Performans özellikleri, örnek niteliğinde aşağı akışlı uygulamalar ile birlikte QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit için belirlenmiştir. Bununla birlikte, biyolojik numuneden nükleik asitleri izole etmeye yönelik yöntemler, birçok aşağı akışlı uygulamada başlangıç aşaması olarak kullanılır ve çapraz kontaminasyon veya çalışma kesinliği gibi performans parametrelerinin, aşağı akışlı uygulama geliştirmenin bir parçası olarak bu tür iş akışlarında belirlenmesi gerekir. Dolayısıyla, uygun performans parametrelerini belirlemek üzere iş akışının tamamını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

### Temel performans ve farklı aşağı akışlı uygulamalar ile uyum

QIAamp DSP DNA Blood Mini vakumlama prosedürünün temel performansı,  $3,8 \times 10^6$  ila  $1,34 \times 10^7$  hücre/ml aralığında akyuvar sayısına sahip sağlıklı donörlerden alınan kan için belirlenmiştir (bkz. Şekil 1).



**Şekil 1. 200 µl elüsyon hacmiyle QIAamp DSP DNA Blood Mini vakumlama prosedürü kullanılarak gözlemlenen verim.** Sağlıklı donörlerin akyuvar sayıları belirlenmiştir ve  $3,8 \times 10^6$  ila  $1,34 \times 10^7$  hücre/ml aralığında olduğu tespit edilmiştir. DNA, 200 µl elüsyon hacmiyle QIAamp DSP DNA Blood Mini vakumlama prosedürü kullanılarak kan örneklerinden saflaştırılmıştır. Seksen yedi adet üçlü örnek işlenmiştir.

QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürlerinde saflaştırılan DNA'nın miktarı, her bir kan örneğinin akyuvar içeriğine bağlıdır. Genomik DNA, döndürme veya vakumlama prosedürü kullanılarak, sağlıklı donörlerden alınan 200 µl'lik kan örneklerinden saflaştırılır. QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürleri için kan örnekleri toplama amacıyla çeşitli farklı primer tüpler ve antikoagülanlar kullanılabilir (Tablo 1).

**Tablo 1. Çeşitli primer tüpler ve antikoagülanlar kullanılarak toplanan kan örneklerinden elde edilen DNA'nın ortalama bağlı verimleri**

Primer tüp	Üretici	Kat. no.	Nominal hacim	Ortalama verim*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6,4 µg
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6,6 µg
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6,4 µg
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6,5 µg
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8,5 ml	6,3 µg
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6,5 µg
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6,3 µg

Genomik DNA, sağlıklı donörlerden alınan 200 µl'lik kan örneklerinden (4,0 ila 9,0 x 10<sup>6</sup> hücre/ml) saflaştırılmıştır.

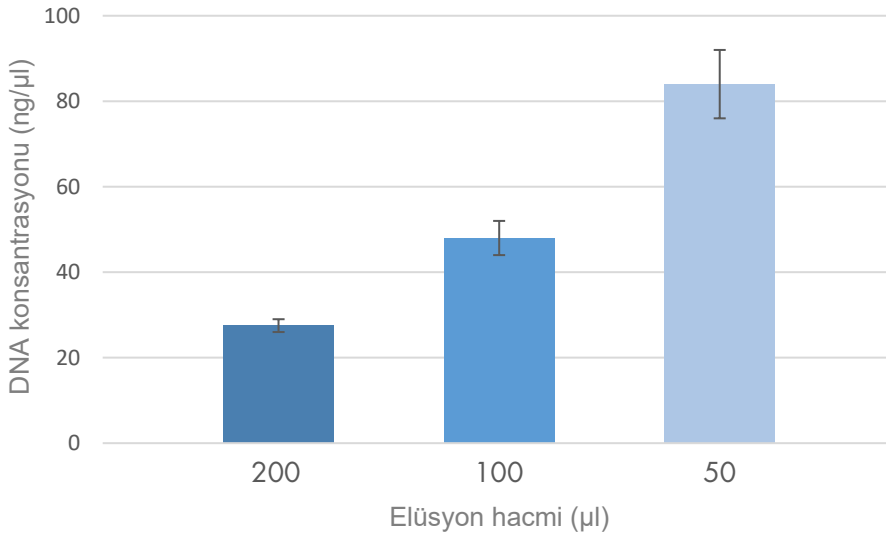
\* Her bir primer tüp için ortalama verim, 11 adet üçerli örnekten belirlenmiştir.

Elüsyona tabi tutulan genomik DNA, farklı aşağı akışlı tahlillerde kullanıma hazırdır.

## Örnek giriş/elüat çıkış aralığı ve DNA saflığı

200 µl tam kandan genomik DNA izolasyonu için farklı elüsyon hacimleri seçilebilir. Manuel prosedür için elüsyon hacimleri 50 ile 200 µl arasında değişir. Tamamen otomatik döndürme iş akışı için 100 ve 200 µl elüsyon hacimlerinin ve kısmen otomatik döndürme iş akışı için (manuel lizisten sonra) 100–200 µl (10 µl'lik artışlarla) elüsyon hacimlerinin kullanılması mümkündür. Daha düşük hacimlerde elüsyon, elüat içindeki nihai DNA konsantrasyonunu artırır ancak genel DNA verimini biraz düşürür. İstenen aşağı akışlı uygulama için uygun bir elüsyon hacmi kullanılmasını öneririz.

Farklı elüsyon hacimlerinin, genel DNA konsantrasyonu üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Şekil 2'de, elüsyon hacmi azaltıldığında elüatlarda DNA konsantrasyonundaki artış gösterilmektedir.



**Şekil 2. Farklı elüsyon hacimleriyle QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak tam kandan DNA izolasyonu sonrasında elde edilen DNA konsantrasyonu.**

Grafik üzerindeki her bir çubuk, 32 tekrardan elde edilen sonuçları (ortalama ± standart sapma) temsil eder.

Ayrıca, DNA saflığının bir göstergesi olarak, test edilen farklı elüsyon hacimleri için 260 ve 280 nm'deki absorbans arasındaki oran ölçülmüştür. Farklı elüsyon hacimleri arasında hiçbir fark gözlemlenmemiştir ve genel olarak ortalama oran, düşük protein kontaminasyonuna işaret etmiştir.

## Kesinlik

QIAcube Connect MDx üzerinde QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak tam kandan insan genomik DNA'sının otomatik ekstraksiyonu için varyasyon katsayıları (Coefficients of Variations, CV'ler) belirlenmiştir. Toplam DNA verimi OD ölçümüyle belirlenmiştir.

Tekrarlanabilirlik (tek saflaştırma çalışması içinde çalışma içi değişkenlik) ve ara kesinlik (farklı operatörler ile, farklı cihazlarda ve farklı günlerde yapılan farklı saflaştırma çalışmaları arasındaki çalışmalar arası değişkenlik) belirlenmiştir. Kesinlik verileri Tablo 2'de gösterilmektedir.

**Tablo 2. Kesinlik tahminlerinin analizi**

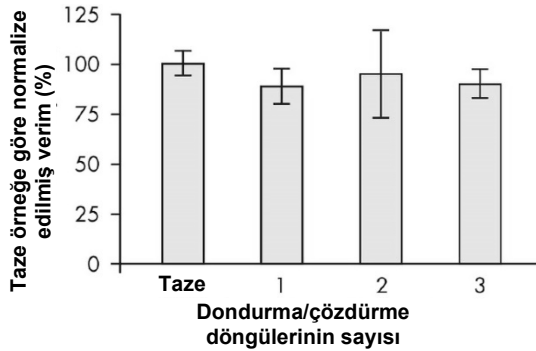
Kesinlik	CV (%)
Ara kesinlik	1,65
Tekrarlanabilirlik	6,09
Toplam kesinlik	6,24

Manuel vakumlama prosedürü için, ortalama verimler ve CV'ler, ara kesinliği, tekrarlanabilirliği ve yeniden üretilebilirliği değerlendirmek üzere belirlenmiştir. Ayrıca, kurum içi bir real-time PCR tahlilinde DNA bütünlüğü ve performansı analiz edilmiştir.

## Örnek stabilitesi

**Not:** Örnek stabilitesi büyük ölçüde çeşitli faktörlere bağlıdır ve spesifik aşağı akışlı uygulama ile ilgilidir. Stabilitate, örnek niteliğinde aşağı akışlı uygulamalar ile değerlendirilmiştir. Laboratuvarında kullanılan spesifik aşağı akışlı uygulamanın kullanım talimatlarına başvurmak ve/veya uygun saklama koşullarını belirlemek için iş akışının tamamını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

EDTA ile işlenmiş kan örneklerini dondurmanın ve çözürmenin QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak yapılan DNA saflaştırma üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Aşağı akışlı tahlillerde verim (bkz. Şekil 3) veya performansta anlamlı bir azalma gözlemlenmemiştir.



**Şekil 3. Kan örneklerini dondurma ve çözürmenin etkileri.** EDTA ile işlenmiş kan, en fazla 3 kez dondurulup çözülür ve ardından, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak DNA saflaştırmasına tabi tutulur. Hesaplanan DNA verimleri, taze örnekten alınan verime (%100) göre normalize edilmiştir. Grafik üzerindeki her bir çubuk, 32 tekrardan elde edilen sonuçları (ortalama  $\pm$  standart sapma) temsil eder.

## Elüat stabilitesi

**Not:** Elüat stabilitesi büyük ölçüde çeşitli faktörlere bağlıdır ve spesifik aşağı akışlı uygulama ile ilgilidir. Stabilite, örnek niteliğinde aşağı akışlı uygulamalar ile birlikte QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit için değerlendirilmiştir. Laboratuvarında kullanılan spesifik aşağı akışlı uygulamanın kullanım talimatlarına başvurmak ve/veya uygun saklama koşullarını belirlemek için iş akışının tamamını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit için elüat stabilitesi, spektrofotometri ve kurum içi bir real-time PCR tahlili ile insan kanından nükleik asit ekstrakte edildikten sonra değerlendirilmiştir. Elüsyona tabi tutulan DNA, 4 haftaya kadar 2–8°C'de saklanabilir. Uzun süreli saklama için –20°C'de saklanmasını öneririz.

## Olumsuz etkileyen maddeler

Hasta tam kanında bulunan farklı potansiyel eksojen ve endojen olumsuz etkileyen maddeler, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ile gDNA izolasyonundan sonra örnek niteliğinde aşağı akışlı tahliller üzerindeki etkilerini test etmek üzere kan örneklerine eklenmiştir.

Hemoliz (insan hemoglobini), lipemi (trigliseritler) ve sarılık (unkonjuge bilirubin) için yaygın ilgili potansiyel olumsuz etkileyen maddeler değerlendirilmiştir. Ayrıca, toplama tüpünde halihazırda bulunandan üç kat daha yüksek K2-EDTA, K3-EDTA ve Na2-EDTA antikoagülan konsantrasyonunun olumsuz etkisi değerlendirilmiştir. Bu potansiyel olumsuz etkileyen maddeler için ve örneğin, tipik olarak kanser tedavisinde kullanılan ve dolayısıyla hasta örneklerinde bulunması muhtemel ilaçlar gibi yaklaşık 20 ilave potansiyel olumsuz etkileyen madde için anlamlı bir olumsuz etki gözlemlenmemiştir.

**Not:** Testler, ekstrakte edilen nükleik asitlerin kalitesini değerlendirmek amacıyla, örnek niteliğinde aşağı akışlı uygulamalar kullanılarak yapılmıştır. Bununla birlikte, farklı aşağı akışlı uygulamaların saflık bakımından farklı gereklilikleri (potansiyel olumsuz etkileyen maddelerin bulunmaması veya konsantrasyonu) olabilir. Bu nedenle, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit'in kullanıldığı iş akışlarında aşağı akışlı uygulama geliştirmenin bir parçası olarak, ilgili maddelerin ve ilgili konsantrasyonun da tanımlanması ve test edilmesi gerekir.

Potansiyel olarak olumsuz etkileyen maddeler (örn. ilaçlar) ve karşılık gelen konsantrasyon aşağı akışlı uygulamaya ve bir hastanın olası önceki tıbbi tedavilerine özgüdür ve QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak bu tür aşağı akışlı uygulamaların doğrulanması sırasında araştırılması gerekir.





**Not:** ISO 20186-2:2019(E) uyarınca, kan toplama tüplerinden heparin, izole edilmiş nükleik asitlerin saflığını etkileyebilir ve elüatlara olası taşınma, bazı aşağı akışlı uygulamalarda inhibisyonlara neden olabilir. Bu nedenle, plazma hazırlığı için antikoagülan olarak EDTA veya sitrat ile işlenmiş kan örneklerinin kullanılmasını öneririz.

## Çapraz kontaminasyon

QIAcube Connect MDx üzerinde otomatik nükleik asit saflaştırma için çapraz kontaminasyon riski, örnek niteliğinde bir QIAamp iş akışı (bir DNA virüsünün 1,00E+07 kopya/ml plazma ve serum örnekleriyle birlikte QIAamp DSP Virus Spin) kullanılarak alternatif dama gruplarıyla (dönüşümlü olarak pozitif ve negatif örnekler) beş adet 12 örneklili çalışma gerçekleştirilerek analiz edilmiştir. Ekstraksiyon çalışmaları sırasında negatif örneklerin potansiyel kontaminasyonu, daha sonra elüatların kurum içi bir real-time PCR tahlili kullanılarak analiz edilmesiyle değerlendirilmiştir. Örnekler arası veya çalışmalar arası taşınma bakımından çapraz kontaminasyon tespit edilmemiştir.

## Semboller

Bu belgede aşağıdaki semboller yer almaktadır. Kullanım talimatlarında veya ambalaj ve etiketlerde kullanılan sembollerin tam listesi için lütfen el kitabına bakın.

Sembol	Sembol tanımı
	Bu ürün, in vitro tanı amaçlı tıbbi cihazlar için Avrupa Yönetmeliđi 2017/746'nın gerekliliklerini karşılamaktadır.
	İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Katalog numarası
Rn	R, Kullanım Talimatları revizyonu olup n ise revizyon numarasıdır
	Üretici

## Revizyon Geçmişi

### Revizyon

### Açıklama

R1, Haziran 2022

Versiyon 3, Revizyon 1

- IVDR ile uyum için versiyon 3'e güncelleme
- Performans özelliklerinin kit el kitabından bu belgeye aktarılması ve güncellenmesi:
  - Temel performans ve farklı aşağı akışlı uygulamalar ile uyum bölümüne Safaştırılmış DNA'nın verimi bölümünün ve Aşağı akışlı tahlilde performans bölümünün aktarılması
  - Örnek giriş/elüat çıkış aralığı ve DNA saflığı bölümünün eklenmesi
  - Kesinlik bölümünün eklenmesi
  - Elüat stabilitesi bölümünün güncellenmesi
  - Örnek stabilitesi bölümünün eklenmesi
  - Olumsuz etkileyen maddeler bölümünün eklenmesi
  - Çapraz kontaminasyon bölümünün eklenmesi
  - Semboller bölümünün eklenmesi
  - Revizyon geçmişi bölümünün eklenmesi

Güncel lisanslama bilgileri ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servisi veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari Markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.); Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH);. Bu belgede geçen tescilli adlar, ticari markalar vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalarda korunmaktadır.  
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.



