

Ağustos 2015

QIAsymphony® DSP DNA Kitleri: Performans Özellikleri

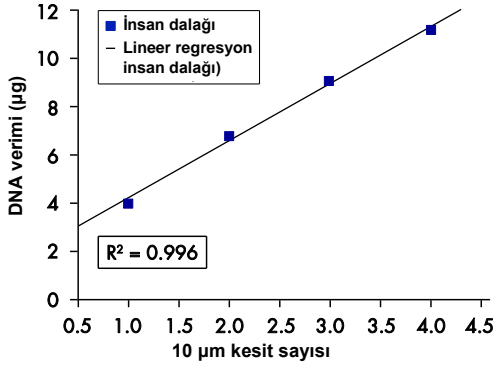
Bu belge Kit Versiyonu 1 için *QIAsymphony DSP DNA Kitleri: Performans Özellikleri*, R4'tür

QIASymphony DSP DNA Kitlerinin sadece QIASymphony SP ile kombinasyon halinde kullanılması amaçlanmıştır. QIASymphony DSP DNA Mini Kitleri insan tam kanı, buffy coat, doku ve formalin fiksasyonlu parafine gömülü (FFPE) doku örneklerinden total DNA ve ayrıca insan tam kanından viral DNA'nın otomatik saflaştırılması için reaktifler sağlar. QIASymphony DSP DNA Midi Kitleri insan tam kanı ve buffy coat tabakasından total DNA'nın otomatik saflaştırılması için reaktifler sağlar.

Doku ve FFPE doku

Lineer aralık

QIASymphony DSP DNA, FFPE doku uygulaması için lineer aralık taze kesilmiş insan dalağından 1–4 10 µm FFPE kesitlerinin altı replikatında değerlendirilmiştir. DNA ekstraksiyonu doku düşük içerik DSP protokolü ile kombinasyon halinde QIASymphony DSP DNA Mini Kiti kullanılarak yapılmıştır. Deparafinizasyon ve lizis, ksilen/etanol ön muamele yöntemi kullanılarak yapılmıştır. DNA elüsyonu 50 µl elüsyon tamponunda yapılmış ve DNA verimi spektroskopik analizle belirlenmiştir (Şekil 1).

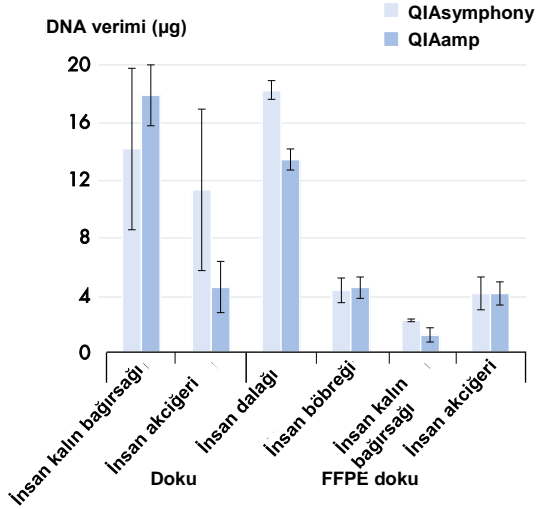


Şekil 1. FFPE doku kesitlerinden ekstraksiyonu yapılan DNA'nın lineer aralığı. İnsan dalağından 1–4 10 µm FFPE doku kesitlerinin altı replikatında ksilen/etanol ön muamelesiyle deparafinizasyon yapılmıştır. DNA ekstraksiyonu QIASymphony DSP DNA Mini Kiti doku düşük içerik DSP protokolü ve 50 µl elüsyon hacmi kombinasyonu ile QIASymphony SP üzerinde yapılmıştır.

Karşılaştırmalı performans

QIASymphony DSP DNA Mini Kitinin performansı manuel QIAamp® DSP DNA FFPE Doku Kiti ve QIAamp DSP DNA Mini Kitiyle örnek materyali olarak sırasıyla FFPE dokusu ve taze/donmuş doku kullanımıyla karşılaştırılmıştır. Manuel ve otomatik örnek hazırlama ve ayrıca DNA verimlerinin kantifikasyonu aynı anda gerçekleştirilmiştir. QIASymphony DSP DNA Mini Kit, QIAamp DSP DNA Mini Kit (Doku) ve QIAamp DSP DNA FFPE Doku Kiti (FFPE dokusu)

kullanılarak taze/donmuş ve FFPE doku örneklerinden ekstraksiyon sonrasında DNA verimleri Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Doku ve FFPE doku örneklerinden DNA ekstraksiyonu. Taze/donmuş doku için insan akciğer ve kalın bağırsak örnekleri 6 x 25 mg parçalara kesilmiştir. Her doku tipinden üç parça doku yüksek içerik DSP protokolü ile kombinasyon halinde QIAasymphony SP kullanılarak örnek hazırlama için kullanılmıştır. Kalan örneklerden DNA ekstraksiyonu QIAasymphony DSP DNA Mini Kiti kullanılarak yapılmıştır. DNA elüsyonu 200 µl içinde yapılmış ve DNA verimi spektroskopik analizle belirlenmiştir. FFPE dokusundan DNA ekstraksiyonu için çeşitli insan organlarından 3 x 10 µm FFPE doku kesitleri içeren 12 replikat hazırlanmıştır. Deparafinizasyon solüsyonu ön muamelesi ve doku düşük içerik DSP protokolü ile kombinasyon halinde QIAasymphony SP kullanılarak örnek hazırlama için altı örnek kullanılmıştır. Kalan örnekler için DNA ekstraksiyonu QIAamp DSP DNA FFPE Doku Kiti kullanılarak yapılmıştır. DNA elüsyonu 50 µl içinde yapılmış ve DNA verimi spektroskopik analizle belirlenmiştir. Çubuklar mutlak DNA verimini standart sapmayla göstermektedir.

Gerçek zamanlı PCR yoluyla biyobelirteçlerin mutasyonel durumunun analizi

Biyobelirteçlerin mutasyonel durumunun analizi insan kalın bağırsağının FFPE kesitlerinden ekstraksiyonu yapılan DNA ve insan akciğer dokusu örneklerinden ekstraksiyonu yapılan DNA kullanılarak yapılmıştır.

FFPE doku örneklerinden DNA ekstraksiyonu için örnek hazırlama amacıyla insan kalın bağırsağından 3 x 10 µm kesitler kullanılmıştır. DNA ekstraksiyonu 100 µl elüsyon hacmiyle kombinasyon halinde ön muamele için Deparafinizasyon Solüsyonu ve doku düşük içerik DSP protokolü kullanılarak yapılmıştır. Biyobelirteç KRAS mutasyonel analizi kit el kitabıyla uyumlu olarak KRAS RGQ PCR Kiti kullanılarak yapılmıştır. Kontrol analizinin C_T değerleri tanımlanmış aralık içinde bulunmuş ve mutasyon saptama analizi kodon 12'de bir amino asit yerini alma ortaya çıkarmıştır (Tablo 1, sayfa 4).

Donmuş doku örneklerinden DNA ekstraksiyonu için doku yüksek içerik DSP protokolü ve 200 µl elüsyon hacmi kullanılarak örnek hazırlama için 25 mg insan akciğeri kullanılmıştır. EGFR biyobelirtecinin mutasyonel analizi yapılmıştır. Kontrol ve mutasyon saptama analizleri theascreen® EGFR RGQ PCR Kiti El Kitabında tanımlandığı şekilde yapılmıştır. Sonuçlar bir mutasyon saptanması için 12 olarak tanımlanmış kesme değerinin altında olan 2,47 ΔC_T değeri ile gösterildiği şekilde EGFR geni içinde bir delesyonu ortaya koymuştur (Tablo 2, sayfa 5).

Tablo 1. FFPE dokusu KRAS biyobelirteç mutasyonel analizinin sonuçları

Örnek	Reaksiyon	Hedef C_T	Dahili kontrol C_T	ΔC_T^*
Şablon kontrolü yok	Kontrol	0,00	32,75	–
	12ALA	0,00	32,65	–
	12ASP	0,00	32,69	–
	12ARG	0,00	32,86	–
	12CYS	0,00	32,35	–
	12SER	0,00	32,76	–
	12VAL	0,00	32,41	–
	13ASP	0,00	32,26	–
Standart	Kontrol	25,95	32,73	–
	12ALA	26,39	32,29	0,44
	12ASP	26,54	32,15	0,59
	12ARG	26,35	32,14	0,40
	12CYS	26,31	32,47	0,36
	12SER	26,50	32,34	0,55
	12VAL	25,80	31,92	-0,15
	13ASP	27,09	32,54	1,14
FFPE dokusu (insan kalın bağırsağı)	Kontrol	24,94	31,98	–
	12ALA	n.d.	32,42	–
	12ASP	n.d.	32,73	–
	12ARG	n.d.	33,05	–
	12CYS	n.d.	32,74	–
	12SER	29,11	32,34	4,17
	12VAL	n.d.	32,81	–
	13ASP	n.d.	33,20	–

* $\Delta C_T = M C_T - C C_T$, burada M = mutasyon ve C = kontrol; n.d. = saptanmadı.

Tablo 2. Donmuş doku EGFR biyobelirteç mutasyonel analizinin sonuçları

Örnek	Reaksiyon	Hedef C _T	Dahili kontrol C _T	ΔC _T *
Şablon kontrolü yok	Kontrol	0,00	31,71	–
	T790M	0,00	32,36	–
	Delesyonlar	0,00	31,75	–
	L858R	0,00	32,05	–
	L861Q	0,00	31,77	–
	G719X	0,00	31,68	–
	S768I	0,00	32,25	–
	İns	0,00	31,84	–
Standart	Kontrol	28,78	31,05	–
	T790M	30,08	31,13	1,30
	Delesyonlar	28,23	31,19	-0,55
	L858R	27,58	30,83	-1,20
	L861Q	27,80	30,86	-0,98
	G719X	27,80	30,90	-0,98
	S768I	29,28	31,41	0,50
	İns	28,00	31,64	-0,78
Doku (insan akciğeri)	Kontrol	25,76	31,23	–
	T790M	n.d.	31,99	–
	Delesyonlar	28,23	30,99	2,47
	L858R	n.d.	31,33	–
	L861Q	n.d.	31,98	–
	G719X	n.d.	32,06	–
	S768I	n.d.	31,88	–
	İns	n.d.	31,62	–

* $\Delta C_T = M C_T - C C_T$, burada M = mutasyon ve C = kontrol; n.d. = saptanmadı.

Kan ve buffy coat

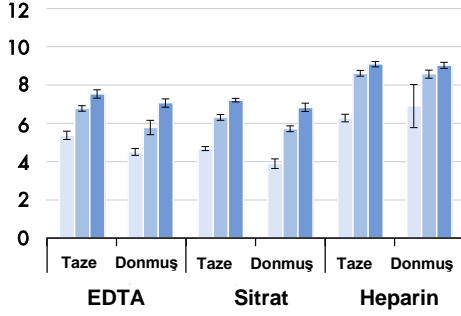
Kan ve buffy coat uygulamaları için performans özellikleri lökosit sayımı aralığı $4,0 - 11,0 \times 10^6$ hücre/ml olan kan donörleri ve lökosit sayımı aralığı $2,5 - 5,5 \times 10^7$ hücre/ml olan buffy coat donörlerinden örnekler kullanılarak yapılmıştır.

DNA verimi ve saflığı

QIASymphony DSP DNA Mini Kitinin temel performansı farklı toplama tüpleri ve antikoagülanlar ve ayrıca taze ve donmuş insan tam kanı kullanılarak değerlendirilmiştir. Tam kan 3 sağlıklı donörden 3 farklı tipte tüpe toplanmıştır: EDTA = BD™ 10 ml Vacutainer® 16 x 100 mm, K2-EDTA; Sitrat = BD 2,7 ml 9NC Tüpü 13 x 75 mm, Sitrat; Heparin = Sarstedt® 7,5 ml S-Monovette® 15 x 92 mm, Li-Heparin. Kan taze (5°C'de saklanmış) veya donmuş (-20°C'de saklanmış) olarak kullanılmıştır. Genomik DNA donör ve tüp tipi başına 4 replikatla 200 µl örneklerden 200 µl elüsyon hacmiyle QIASymphony DSP DNA Mini Kiti ve kan 200 DSP protokolü kullanılarak saflaştırılmıştır. DNA verimleri ve saflığı spektroskopik analizle belirlenmiştir (Şekil 3).

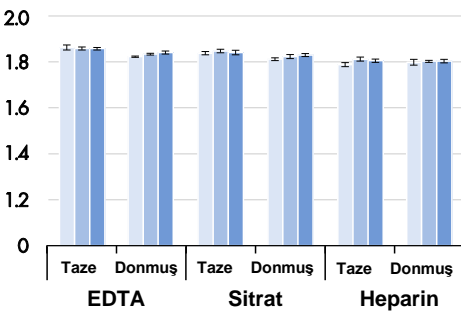
Ⓐ

DNA verimi (µg)



Ⓑ

A_{260}/A_{280}

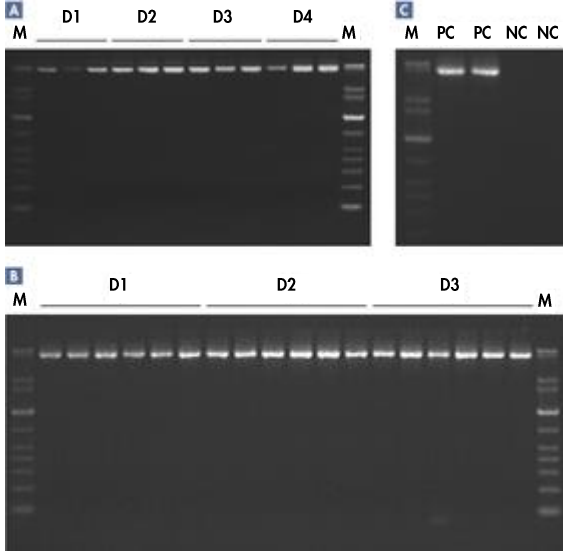


■ Donör 1 ■ Donör 2 ■ Donör 3

Şekil 3. Taze ve donmuş insan tam kanıyla farklı örnek toplama tüpleri ve antikoagülanlar kullanılarak **sistemin gücü**. **A** DNA verimi, çubuklar standart sapmayla mutlak DNA verimini göstermektedir. **B** DNA saflığı, çubuklar standart sapmayla DNA saflığını göstermektedir.

DNA bütünlüğü

Uzun aralıklı PCR ürünleri (5 kb) QIAGEN® Uzun Aralıklı PCR Kiti (50 µl reaksiyon) kullanılarak amplifiye edilmiştir (Şekil 4, sayfa 7).



Şekil 4. Uzun aralıklı PCR ile test edilen DNA bütünlüğü. M = QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder. **A** Tam kan 4 sağlıklı donörden (D) BD K2E tüplerinde toplanmıştır. Uzun aralıklı PCR için genomik DNA 200 µl elüsyon hacmi ile QIAsymphony DSP DNA Mini Kiti ve kan 200 DSP protokolü kullanılarak üçlü olarak 200 µl alikotlardan saflaştırılmıştır. D1 = Donör 1, D2 = Donör 2, D3 = Donör 3, ve D4 = Donör 4. **B** Tam kan 3 sağlıklı donörden BD K2E tüplerine toplanmış ve buffy coat hazırlanmıştır. Genomik DNA 200 µl elüsyon hacmi ile QIAsymphony DSP DNA Mini Kiti ve buffy coat 200 DSP protokolü kullanılarak altı replikattan 200 µl alikotlardan saflaştırılmıştır. D1 = Donör 1, D2 = Donör 2, ve D3 = Donör 3. **C** Kontroller: PC = pozitif kontrol ve NC = negatif kontrol.

Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik

DNA ekstraksiyonu 200 µl elüsyon hacmiyle kan 200 DSP protokolü kullanılarak yapılmıştır. Tekrarlanabilirlik üç farklı günde ve her bir çalışma 24 örneklilik 4 gruptan oluşacak şekilde tek bir operatör tarafından üç bağımsız çalışmayla (her birinde 96 örnek) değerlendirilmiştir (Tablo 3 ve 4, sayfa 8).

Tekrar üretilebilirlik üç farklı günde ve her bir çalışma 24 örneklilik 4 gruptan oluşacak şekilde üç farklı operatör tarafından farklı QIAsymphony SP aletlerinde yapılan üç bağımsız çalışmayla (her birinde 96 örnek) değerlendirilmiştir (Tablo 5 ve 6, sayfa 8 ve 9).

Tablo 3. Tekrarlanabilirlik deęerlendirmesi sonuçları

Çalışma	Grup	N	Ortalama DNA verimi (μg)	SS	CV
1	1	24	5,32	0,22	4,22
	2	24	4,90	0,22	4,54
	3	24	4,95	0,21	4,26
	4	24	5,05	0,18	3,60
2	1	24	5,17	0,30	5,84
	2	24	4,90	0,15	3,14
	3	24	4,82	0,20	4,13
	4	24	4,87	0,17	3,52
3	1	24	5,11	0,17	3,33
	2	24	4,84	0,24	4,91
	3	24	4,87	0,16	3,38
	4	24	4,78	0,16	3,38
Toplam	–	288	4,96	–	–

* N = Replikat sayısı; SS = Standart sapma; CV = Varyasyon katsayısı.

Tablo 4. Tekrarlanabilirlik deęerlendirmesi için kesinlik verileri

	SS	CV
Aynı alışma içinde gruplar arasında	0,25	4,95
Genel tekraralama doğruluğu	0,26	5,18

* SS = Standart sapma; CV = Varyasyon katsayısı.

Tablo 5. Tekrar retilebilirlik deęerlendirmesi sonuçları

Çalışma	Grup	N	Ortalama DNA verimi (μg)	SS	CV
1	1	24	5,32	0,22	4,22
	2	24	4,90	0,22	4,54
	3	24	4,95	0,21	4,26
	4	24	5,05	0,18	3,60
2	1	24	5,73	0,22	3,81
	2	24	5,56	0,26	4,63
	3	24	5,40	0,20	3,63
	4	24	5,46	0,21	3,89
3	1	24	5,73	0,26	4,62
	2	24	5,54	0,24	4,40
	3	24	5,41	0,18	3,34
	4	24	5,49	0,17	3,16
Toplam	–	288	5,38	–	–

* N = Replikat sayısı; SS = Standart sapma; CV = Varyasyon katsayısı.

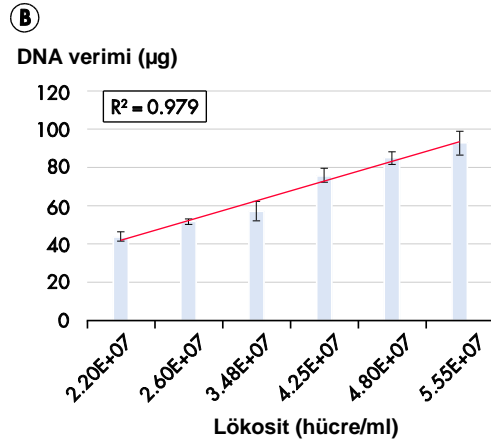
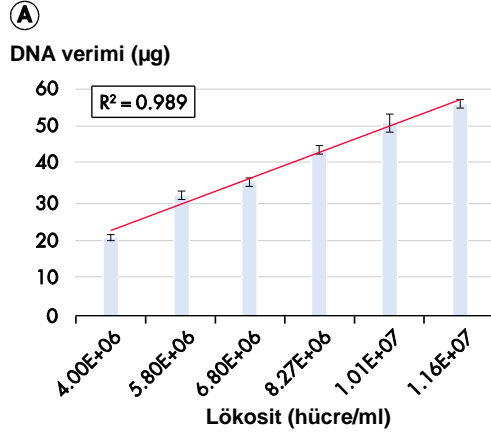
Tablo 6. Tekrar retilebilirlik deęerlendirmesi için kesinlik verileri

	SS	CV
Aynı çalışma içinde gruplar arasında	0,25	4,73
Genel tekrarlama doğruluğu	0,38	7,03

* SS = Standart sapma; CV = Varyasyon katsayısı.

Lineer aralık

QIASymphony DSP DNA Kan ve buffy coat uygulamaları için lineer aralıklar her örnek tipi için altı farklı lökosit (WBC) sayımı ile kan ve buffy coat örnekleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Tam kan için lökosit sayımları 4×10^6 hücre/ml ile $11,6 \times 10^6$ hücre/ml arasındayken buffy coat için sayımlar $2,2 \times 10^7$ hücre/ml ile $5,6 \times 10^7$ hücre/ml arasında olmuştur. DNA verimleri spektroskopik analizle belirlenmiş ve lökosit sayımına göre grafiğe konmuştur (Şekil 5, sayfa 10).

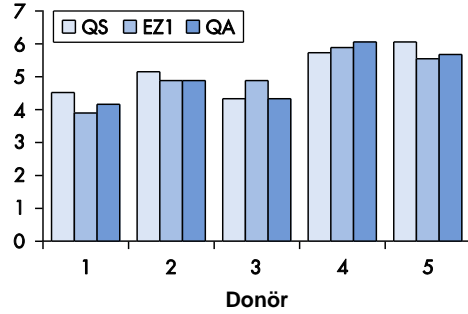


Şekil 5. Kan ve buffy coat tabakasından ekstraksiyonu yapılan DNA'nın lineer aralığı. A Genomik DNA 500 μl elüsyon hacmi ile QIASymphony DSP DNA Midi Kiti ve kan 1000 DSP protokolü kullanılarak 1 ml insan tam kanından saflaştırılmıştır. Çubuklar mutlak DNA verimini standart sapmayla göstermektedir. B Genomik DNA 400 μl elüsyon hacmi ile QIASymphony DSP DNA Midi Kiti ve buffy coat 400 DSP protokolü kullanılarak 400 μl buffy coat tabakasından saflaştırılmıştır. Çubuklar mutlak DNA verimini standart sapmayla göstermektedir.

Karşılaştırmalı performans

QIASymphony DSP DNA kan sisteminin performansı EZ1[®] DSP DNA kan sistemi ve QIAamp[®] DNA Kan Mini Kiti manuel hazırlama işlemiyle karşılaştırılarak analiz edilmiştir. DNA farklı kan örneklerinden hazırlanmış DNA verimi için analiz edilmiş (Şekil 6, sayfa 11) ve CE işaretli *artus*[®] MTHFR LC PCR Kiti (24) CE analizinde kullanılmıştır (Tablo 7, sayfa 11 ve 12).

DNA verimi (µg)



Şekil 6. Farklı kan DNA saflaştırma sistemleri arasında DNA verimlerinin karşılaştırması. Tam kan 5 sağlıklı donörden BD K2E tüplerinde toplanmıştır. Tüm yöntemler için 200 µl örnek giriş hacimleri ve 200 µl elüsyon hacimleri kullanılmıştır. QS = QIAasymphony DSP DNA Mini Kiti ve kan 200 DSP protokolü; EZ1 = EZ1 Advanced XL, EZ1 DSP DNA Kan Kiti kullanılarak; QA = QIAamp DNA Kan Mini Kiti. Çubuklar her örnek için mutlak DNA verimini göstermektedir.

Tablo 7. artus MTHFR LC PCR Kiti kullanılarak MTHFR geninde nükleotid (nt) 667 ve nt 1298'de polimorfizmler

Donör	Yöntem	nt 677	nt 1298	Genotip sonucu
1	QS	Homozigot wt wt677/wt677 Homozigot wt wt677/wt677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	wt677/wt677 wt1298/var1298 heterozigot varyant
	EZ1	Homozigot wt wt677/wt677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	
	QA		Heterozigot varyant wt1298/var1298	
2	QS	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	wt677/var677 wt1298/var1298 heterozigot varyant
	EZ1	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	
	QA	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	
3	QS	Homozigot wt wt677/wt677 Homozigot wt wt677/wt677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	wt677/wt677 wt1298/var1298 heterozigot varyant
	EZ1	Homozigot wt wt677/wt677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	
	QA		Heterozigot varyant wt1298/var1298	
4	QS	Homozigot varyant var677/var677	Homozigot wt wt1298/wt1298	var677/var677 wt1298/wt1298 homozigot varyant
	EZ1	Homozigot varyant var677/var677	Homozigot wt wt1298/wt1298	
	QA	Homozigot varyant var677/var677		
5	QS	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	wt677/var677 wt1298/var1298 heterozigot varyant
	EZ1	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	
	QA	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	
6	QS	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	wt677/var677 wt1298/var1298 heterozigot varyant
	EZ1	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	
	QA	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	

Donör	Yöntem	nt 677	nt 1298	Genotip sonucu
7	QS	Homozigot wt wt677/wt677	Homozigot wt wt1298/wt1298	wt677/wt677 wt1298/wt1298 homozigot vahşi tip
	EZ1	Homozigot wt wt677/wt677	Homozigot wt wt1298/wt1298	
	QA			
8	QS	Homozigot wt wt677/wt677	Homozigot wt wt1298/wt1298	wt677/wt677 wt1298/wt1298 homozigot vahşi tip
	EZ1	Homozigot wt wt677/wt677	Homozigot wt wt1298/wt1298	
	QA			
9	QS	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	wt677/var677 wt1298/var1298 heterozigot varyant
	EZ1	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	
	QA	Heterozigot varyant wt677/var677	Heterozigot varyant wt1298/var1298	
10	QS	Homozigot wt wt677/wt677	Homozigot wt wt1298/wt1298	wt677/wt677 wt1298/wt1298 homozigot vahşi tip
	EZ1	Homozigot wt wt677/wt677	Homozigot wt wt1298/wt1298	
	QA			

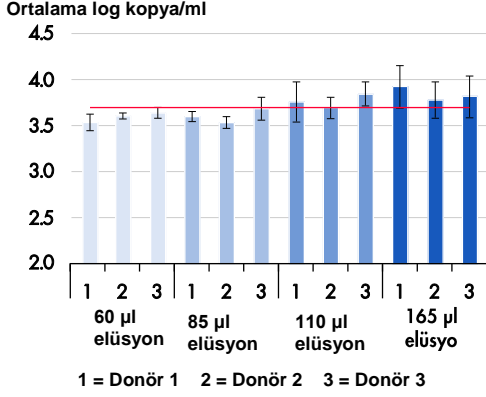
Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) geninin genetik varyansı bir LightCycler® aletinde erime eğrisi analizi yoluyla iki nükleotid pozisyonunda (nt 677 ve nt 1298) analiz edilmiştir. Tam kan 10 sağlıklı donörden BD K2E tüplerinde toplanmıştır. Tüm yöntemler için 200 µl örnek giriş hacimleri ve 200 µl elüsyon hacimleri kullanılmıştır. QS = QIASymphony DSP DNA Mini Kiti ve kan 200 DSP protokolü; EZ1 = EZ1 Advanced XL, EZ1 DSP DNA Kan Kiti kullanılarak; QA = QIAamp DNA Kan Mini Kiti; wt = MTHFR geninde ilgili pozisyonunda vahşi tip allel; var = MTHFR geninde ilgili pozisyonunda varyant allel.

Virüs kan

Virüs kan uygulamaları için performans özellikleri $4,0 - 11,0 \times 10^6$ hücre/ml lökosit sayımı aralığına sahip kan donörlerinden örnekler kullanılarak yapılmıştır.

Virüs DNA geri alma

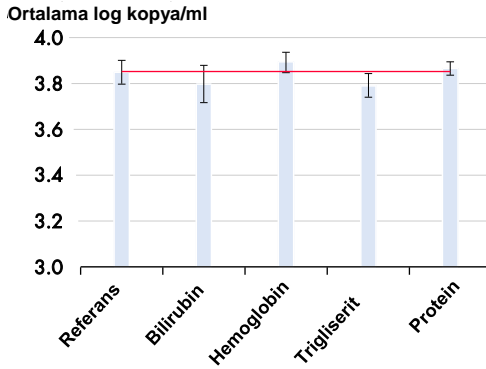
Tam kan 3 sağlıklı donörden BD K2E tüplerine toplanmış ve CMV standart materyali (titre 3,7 log kopya/ml) eklenmiştir. Virüs DNA her birinde QIASymphony DSP DNA Mini Kiti ve virüs kan 200 DSP protokolü kullanılarak 4 farklı elüsyon hacmiyle 7 replikattan saflaştırılmıştır (Şekil 7).



Şekil 7. Farklı elüsyon hacimleri için viral DNA kantifikasyonunun karşılaştırılması. Her donör örneği ve elüsyon hacminden (60 µl, 85 µl, 110 µl, ve 165 µl) elütler *artus* CMV RG PCR Kitiyle analiz edilmiştir. Kırmızı çizgi hedef titreyi ve çubuklar mililitre başına ortalama log kopyayı standart sapmayla göstermektedir.

İnhibe edici maddeler

Tam kanda bulunabilecek inhibe edici maddelerin virüs kan 200 DSP protokolü performansı üzerine etkisi şu maddelerin eklenmesiyle test edilmiştir: Hemogloblin (200 g/l) ve protein (120 g/l) için kan örneğindeki mevcut düzeyler belirlenmiş ve belirtilen konsantrasyonlar olan sırasıyla 200 g/l veya 120 g/l, değerlerini elde etmek için ek hemogloblin veya protein eklenmiştir. Bilirubin (200 mg/l) ve trigliseritler (30 g/l) için her maddenin toplam miktarı belirtilen konsantrasyonları elde etmek üzere örneklere eklenmiştir.



Şekil 8. İnhibe edici madde testi. Tam kan, 1 sağlıklı donörden BD K2E tüplerine toplanmış ve CMV standart materyali (titre 4,0 log kopya/ml) eklenmiştir. Beş örnek, potansiyel inhibe edici maddelerin eklenmesiyle test edilmiş ve viral DNA her örneğin dört replikatından 165 µl elüsyon hacmi ile QIASymphony DSP DNA Mini Kiti ve virüs kan 200 DSP protokolü kullanılarak saflaştırılmıştır. Elütler *artus* CMV RG PCR Kitiyle analiz edilmiştir. Kırmızı çizgi herhangi bir inhibe edici madde eklenmemiş referans örnekleri için belirlenen titreyi temsil ederken çubuklar mililitre başına ortalama log kopyayı standart sapmayla göstermektedir.

Hassasiyet

İsabet oranı çalışmaları önceden kantifiye edilmiş CMV DSÖ standart materyalinin CMV negatif insan tam kanında seyreltilmesiyle yapılmıştır. Viral yükü mililitre başına 90 IU CMV olan örnekler için %100 saptama oranı gözlenmiştir (Tablo 8).

Tablo 8. QIAAsymphony DSP Virüs Kan uygulaması hassasiyeti

CMV (IU/ml)	Replikalar	İsabetler	% İsabet
350	18	18	100,00
230	32	32	100,00
115	31	31	100,00
90	32	32	100,00
60	30	24	80,00
30	30	15	50,00
15	30	10	33,33
6	21	5	23,81
2	21	2	9,52
0	15	0	0,00

İnsan tam kanı 1 sağlıklı CMV negatif donörden BD K2E tüplerine toplanmış ve farklı titreler kullanılarak CMV DSÖ standart materyali eklenmiştir. Viral DNA elüsyon hacmi 60 µl ile QIAAsymphony DSP DNA Mini Kiti ve virüs kan 200 DSP protokolü kullanılarak saflaştırılmıştır. Elütler *artus* CMV RG PCR Kitiyle analiz edilmiştir.

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne spesifik red beyanları için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanıcı el kitabına bakınız. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunmaktadır ve QIAGEN Teknik Servisi veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAAsymphony®, *artus*®, EZ1®, *therascreen*® (QIAGEN Group); Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.); BD™, Vacutainer®, (Becton Dickinson and Company); LightCycler® (Roche Group). Bu belgede kullanılan tescilli isimler, ticari markalar vs. bu şekilde işaretlenmemiş olsalar bile kanunen koruma altında oldukları düşünülmelidir. 08/2015 HB-0977-D01-004 © 2012–2015 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

