

---

August 2015

# QIAsymphony<sup>®</sup> DSP DNA Kits: Ytelsesegenskaper

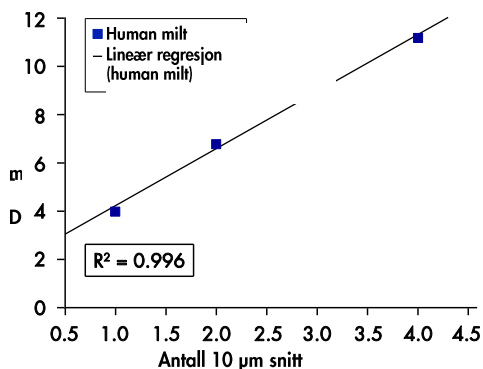
Dette dokumentet er *QIAsymphony DSP DNA-sett: Ytelsesegenskaper, R4*, for settversjon 1

QIASymphony® DSP DNA Kits er beregnet til bruk kun i kombinasjon med QIASymphony SP. QIASymphony DSP DNA Mini Kits gir reagenser for automatisert rensing av totalt DNA fra humant fullblod, buffycoat, vev og formalinfikserte, parafininnstøpte vevsprøver, samt viralt DNA fra humant fullblod. QIASymphony DSP DNA Midi Kits gir reagenser for helautomatisert rensing av totalt DNA fra humant fullblod og buffycoat.

## Vev og FFPE-vev

### Lineært område

Det lineære området for QIASymphony DSP DNA FFPE-vevsapplikasjon ble evaluert ved bruk av seks replikater på 1–4, 10 µm FFPE-snitt av nylig kuttet human milt DNA-ekstraheringen ble utført ved bruk av QIASymphony DSP DNA Mini-settet i kombinasjon med DSP-protokollen for lavt vevsinnhold. Deparafinisering og lysering ble utført ved bruk av xylene/etanolforhåndsbehandlingsmetoden. DNA ble eluert i 50 µl elusjonsbuffer og mengden DNA ble fastslått ved hjelp av spektroskopisk analyse (figur 1).

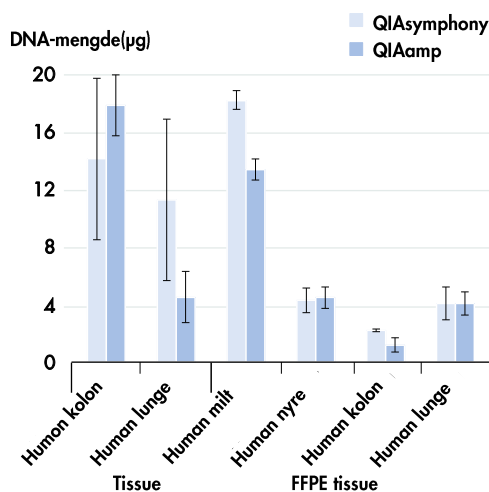


**Figur 1. Lineært område av DNA ekstrahert fra FFPE-vevsnitt.** Seks replikater av 1–4, 10 µm FFPE-vevsnitt av human milt ble deparafinisert gjennom xylene/etanolforhåndsbehandling DNA-ekstraheringen ble utført på QIASymphony SP ved bruk av QIASymphony DSP DNA Mini-settet i kombinasjon med DSP-protokollen for lavt vevsinnhold og et elueringsvolum på 50 µl.

### Sammenlignbar ytelse

Ytelsen til QIASymphony DSP DNA Mini Kit ble sammenlignet med ytelsen til det manuelle QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit og QIAamp DSP DNA Mini Kit ved bruk av henholdsvis FFPE-vev og ferskt/frossent vev som prøvemateriale. Manuelle og automatiske prøveklargjøringer, samt kvantifisering av DNA-mengder, ble utført samtidig. DNA-mengder etter ekstrahering fra

ferske/frosne og FFPE-vevsprøver ved bruk av QIAasymphony DSP DNA Mini Kit, QIAamp DSP DNA Mini Kit (vev) og QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (FFPE-vev) er vist i figur 2, side 5.



**Figur 2. DNA-ekstrahering fra vev og FFPE-vevsprøver.** For ferskt/frossent vev ble prøver fra human lunge og kolon kuttet i 6 x 25 mg stykker. Tre stykker av hver vevstype ble brukt til prøveklargjøring ved bruk av QIAasymphony SP i kombinasjon med DSP-protokollen for høyt vevsinnhold. DNA-ekstrahering fra resterende prøver ble utført ved bruk av QIAamp DSP DNA MiniSet. DNA ble eluert i 200 µl og mengden DNA ble fastslått ved hjelp av spektroskopisk analyse. For DNA-ekstrahering fra FFPE-vev, ble 12 replikater som inneholdt 3 x 10 µm FFPE-vevsnitt fra ulike humane organer klargjort. Seks prøver ble brukt til prøveklargjøring ved bruk av QIAasymphony SP i kombinasjon med forhåndsbehandlingen med deparafinisert løsning og DSP-protokollen for lavt vevsinnhold. DNA-ekstrahering fra resterende prøver ble utført ved bruk av QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit. DNA ble eluert i 50 µl og mengden DNA ble fastslått ved hjelp av spektroskopisk analyse. Søylen viser absolutt DNA-mengde med standardavvik.

## Analyse av mutasjonsstatus på biomarkører ved hjelp av sanntids PCR

Analyse av mutasjonsstatusen til biomarkører ble utført ved bruk av DNA ekstrahert fra FFPE-snitt av human kolon og DNA ekstrahert fra prøver med humant lungevev.

For DNA-ekstrahering fra FFPE-vevsprøver, ble 3 x 10 µm snitt fra human kolon brukt til prøveklargjøring. DNA-ekstrahering ble utført ved bruk av deparafinisert løsning for forhåndsbehandling og DSP-protokollen for lavt vevsinnhold i kombinasjon med et elueringsvolum på 100 µl. Mutasjonsanalyse for biomarkøren KRAS ble utført ved bruk av KRAS RGQ PCR Kit i samsvar med kithåndboken. C<sub>T</sub>-verdier på kontrollanalysen var innenfor det definerte området og mutasjonsdeteksjonsanalysen avslørte en aminosyresubstitusjon i kodon 12 (tabell 1, side 4).

For DNA-ekstrahering fra frosne vevsprøver ble 25 mg av human lunge brukt til prøveklargjøring ved bruk av DSP-protokollen for høyt vevsinnhold og et elueringsvolum på 200 µl.

Mutasjonsanalyse av EGFR-biomarkøren ble utført. Kontroll- og mutasjonsdeteksjonsanalyser ble utført slik som beskrevet i håndboken for *therascreen*® EGFR RGQ PCR Kit. Resultatene avslørte en sletting innenfor EGFR-genet, slik som demonstrert av en  $\Delta C_T$ -verdi på 2,47, som er under den definerte cutoff-verdien på 12 for påvisningen av en mutasjon (tabell 2, side 5).

Tabell 1. Resultater for FFPE-vev KRAS-biomarkør, mutasjonsanalyse

| Prøve                     | Reaksjon | Mål $C_T$ | Intern kontroll $C_T$ | $\Delta C_T^*$ |
|---------------------------|----------|-----------|-----------------------|----------------|
| Ingen malkontroll         | Kontroll | 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                 | –              |
| Standard                  | Kontroll | 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-vev<br>(human kolon) | Kontroll | 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                 | –              |

\*  $\Delta C_T = M C_T - C C_T$ , der M = mutasjon og C = kontroll; n.d. = ikke påvist.

Tabell 6. Resultater for frosne vev EGFR-biomarkør, mutasjonsanalyse

| Prøve                | Reaksjon   | M&I C <sub>T</sub> | Intern kontroll C <sub>T</sub> | ΔC <sub>T</sub> * |
|----------------------|------------|--------------------|--------------------------------|-------------------|
| Ingen malkontroll    | Kontroll   | 0.00               | 31.71                          | –                 |
|                      | T790M      | 0.00               | 32.36                          | –                 |
|                      | Slettinger | 0.00               | 31.75                          | –                 |
|                      | L858R      | 0.00               | 32.05                          | –                 |
|                      | L861Q      | 0.00               | 31.77                          | –                 |
|                      | G719X      | 0.00               | 31.68                          | –                 |
|                      | S768I      | 0.00               | 32.25                          | –                 |
|                      | Ins        | 0.00               | 31.84                          | –                 |
| Standard             | Kontroll   | 28.78              | 31.05                          | –                 |
|                      | T790M      | 30.08              | 31.13                          | 1.30              |
|                      | Slettinger | 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              |
|                      | Ins        | 28.00              | 31.64                          | -0.78             |
| Vev<br>(human lunge) | Kontroll   | 25.76              | 31.23                          | –                 |
|                      | T790M      | n.d.               | 31.99                          | –                 |
|                      | Slettinger | 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                          | –                 |
|                      | Ins        | n.d.               | 31.62                          | –                 |

\*  $\Delta C_T = M C_T - C C_T$ , der M = mutasjon og C = kontroll; n.d. = ikke påvist.

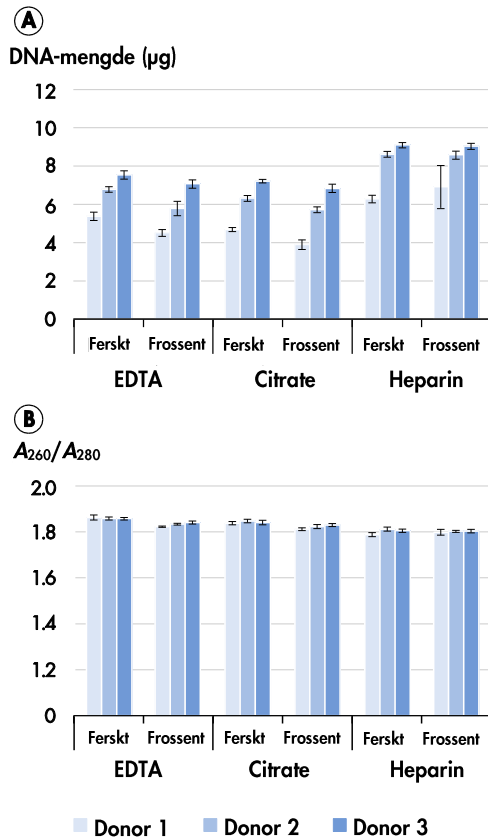
## Blod og buffycoat

Ytelseegenskaper for blod- og buffycoat-applikasjoner ble utført ved bruk av prøver fra bloddonorer med en hvit blodcelle-telling på 4,0 til 11,0 x 10<sup>6</sup> celler/ml og buffycoat-donorer med en hvit blodcelle-telling på 2,5 til 5,5 x 10<sup>7</sup> celler/ml.

## DNA-mengde og -renhet

Den grunnleggende ytelsen til QIASymphony DSP DNA Mini Kit ble evaluert ved bruk av ulike prøvetakingsglass og antikoagulanter, samt ferskt og frossent humant fullblod. Fullblod ble samlet inn fra 3 friske donorer i 3 ulike prøveglasstyper: EDTA = BD™ 10 ml Vacutainer® 16 x 100 mm, K2-EDTA; sitrat = BD 2,7 ml 9NC-glass 13 x 75 mm, sitrat; heparin = Sarstedt® 7,5 ml S-Monovette® 15 x 92 mm, li-heparin. Blod ble brukt enten ferskt (oppbevart ved 5 °C) eller frossent (oppbevart ved -20 °C). Genomisk DNA ble rensset fra 200 µl prøver, med 4 replikater per donor og rørtype, ved bruk av QIASymphony DSP DNA Mini-settet og Blood 200 DSP-protokollen med

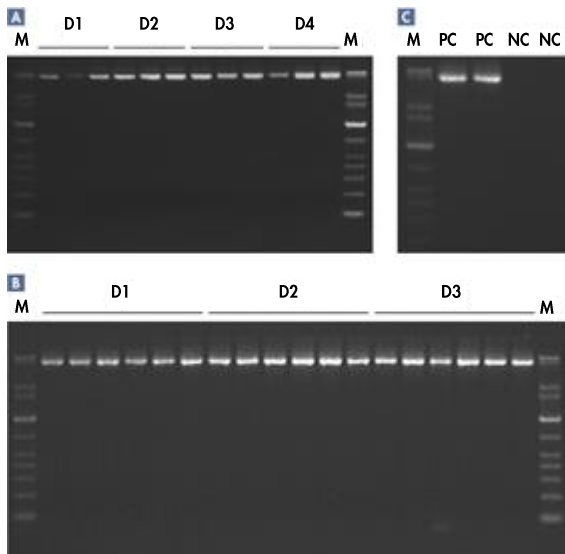
et elueringsvolum på 200 µl. DNA-mengder og -renhet ble fastslått ved hjelp av spektroskopisk analyse (figur 3).



**Figur 3. Systemets robusthet ved bruk av ulike prøvetakingsglass og antikoagulanter med ferskt og frossent humant fullblod. A** DNA-mengde, søylene viser absolutt DNA-mengde med standardavvik. **B** DNA-renhet, søylene viser DNA-renhet med standardavvik.

### DNA-integritet

Lang PCR-produkter (5 kb) ble forsterket ved bruk av QIAGEN LongRange PCR Kit (50 µl reaksjon). (figur 4, side 7).



**Figur 4. DNA-integritet testet ved hjelp av lang PCR.** M = QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder.

**A** Fullblod ble samlet inn fra 4 friske donorer (D) i BD K2E-rør. Genomisk DNA for lang PCR ble rensset fra 200 µl alikvoter i triplikate ved bruk av QIASymphony DSP DNA Mini-settet og Blood 200 DSP-protokollen med et elueringsvolum på 200 µl. D1 = Donor 1,

D2 = Donor 2, D3 = Donor 3 og D4 = Donor 4. **B** Fullblod ble samlet inn fra 3 friske donorer i BD K2E-rør og buffycoat ble klargjort. Genomisk DNA ble rensset fra 200 µl alikvoter i seks replikater ved bruk av QIASymphony DSP DNA Mini-settet og buffy coat 200 DSP-protokollen med et elueringsvolum på 200 µl. D1 = Donor 1, D2 = Donor 2 og

D3 = Donor 3. **C** Kontroller: PC = positiv kontroll og NC = negativ kontroll.

## Repetierbarhet og reproduserbarhet

DNA-ekstrahering ble utført ved bruk av Blood 200 DSP-protokollen med et elueringsvolum på 200 µl. Repeterbarhet ble evaluert av en enkelt operatør som utførte tre uavhengige kjøring (96 prøver hver) på tre ulike dager, der hver kjøring besto av 4 batcher på 24 prøver (tabell 3 og 4, side 8).

Reproduserbarhet ble evaluert ved utføring av tre uavhengige kjøring (96 prøver hver) på tre ulike dager, av tre ulike operatører på ulike QIASymphony SP-instrumenter, der hver kjøring besto av 4 batcher på 24 prøver (tabell 5 og 6, side 8 og 9).

**Tabell 3. Resultater av repeterbarhetsevaluering**

| Kjøring | Batch | N   | Gj.sn. DNA-mengde ( $\mu\text{g}$ ) | SD   | 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 |
| Totalt  | –     | 288 | 4,96                                | –    | –    |

\* N = Antall replikater; SD = Standardavvik; CV = Variasjonskoeffisient.

**Tabell 4. Presisjonsdata for repeterbarhetsevaluering**

|  | SD   | CV   |
|--|------|------|
| Batch til batch innenfor samme kjøring | 0,25 | 4,95 |
| Helhetlig repetisjonsnøyaktighet       | 0,26 | 5,18 |

\* SD = Standardavvik; CV = Variasjonskoeffisient.

**Tabell 5. Resultater av reproduserbarhetsevaluering**

| Kjøring | Batch | N   | Gj.sn. DNA-mengde ( $\mu\text{g}$ ) | SD   | 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 |
| Totalt  | –     | 288 | 5,38                                | –    | –    |

\* N = Antall replikater; SD = Standardavvik; CV = Variasjonskoeffisient.

**Tabell 6. Presisjonsdata for reproduserbarhetsevaluering**

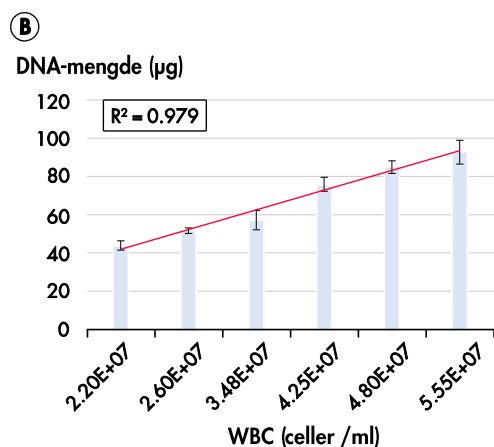
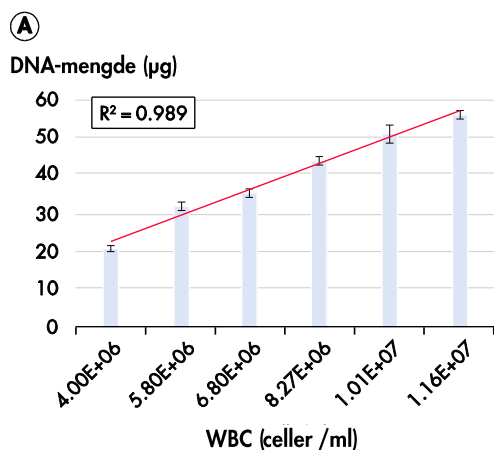


|   | <b>SD</b> | <b>CV</b> |
|---|-----------|-----------|
| <b>Batch til batch innenfor samme kjøring</b> | 0,25      | 4,73      |
| <b>Helhetlig repetisjonsnøyaktighet</b>       | 0,38      | 7,03      |

\* SD = Standardavvik; CV = Variasjonskoeffisient.

## Lineært område

De lineære områdene for QIASymphony DSP DNA Blood- og Buffy Coat-applikasjoner ble evaluert ved bruk av blod- og buffycoatprøver med seks ulike hvit blodcelle (WBC)-telling for hver prøvetype. For fullblod var WBC-tellingene i området  $4 \times 10^6$  celler/ml til  $11,6 \times 10^6$  celler/ml og for buffy coat var tellingene i området  $2,2 \times 10^7$  celler/ml til  $5,6 \times 10^7$  celler/ml. DNA-mengder ble fastslått ved hjelp av spektroskopisk analyse og plottet mot WBC-tellingen (figur 5).

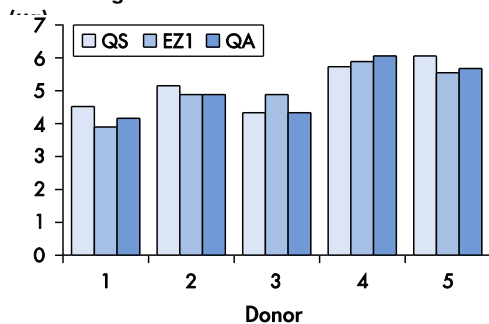


**Figur 5. Lineært område av DNA ekstrahert fra blod og buffycoat.** A. Genomisk DNA ble renset fra 1 ml humant fullblod ved bruk av QIAasymphony DSP DNA Midi-settet og Blood 1000 DSP-protokollen med et elueringsvolum på 500 µl. Søylene viser absolutt DNA-mengde med standardavvik. B. Genomisk DNA ble renset fra 400 µl buffycoat ved bruk av QIAasymphony DSP DNA Midi-settet og Buffy Coat 400 DSP-protokollen med et elueringsvolum på 400 µl. Søylene viser absolutt DNA-mengde med standardavvik.

## Sammenlignbar ytelse

Ytelse ble analysert for QIAasymphony DSP DNA Blood-systemet sammenlignet med EZ1® DSP DNA Blood-systemet og QIAamp® DNA Blood Mini Kit manuell klargjøringsprosedyre. DNA ble renset fra ulike blodprøver, analysert for DNA-mengde (figur 6) og brukt i den CE-merkede *artus*® MTHFR LC PCR Kit (24) CE-analysen (tabell 7, side 12).

### DNA-mengde



**Figur 6. Sammenligning av DNA-mengder mellom ulike systemer for blod-DNA-rensing.** Fullblod ble samlet inn fra 5 friske donorer i BD K2E-glass. For alle metoder ble det anvendt prøveinngangsvolum på 200 µl og elueringsvolum på 200 µl. QS = QIAAsymphony DSP DNA Mini-sett og Blood 200 DSP-protokoll; EZ1 = EZ1 Advanced XL using EZ1 DSP DNA Blood Kit; QA = QIAamp DNA Blood Mini Kit. Søylene viser absolutt DNA-mengde for hver prøve..

**Tabell 7. Polymorfismer ved nukleotid (nt) 667 og nt 1298 av MTHFR-genet påvist ved bruk av artus MTHFR LC PCR Kit**

| Donor | Metode | nt 677                              | nt 1298                               | Genotyperesultat   |
|-------|--------|-------------------------------------|---------------------------------------|--|
| 1     | QS     | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 | wt677/wt677<br>wt1298/var1298<br>heterozygot variant     |
|       | EZ1    | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 |  |
|       | QA     | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 |  |
| 2     | QS     | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 | wt677/var677<br>wt1298/var1298<br>heterozygot variant    |
|       | EZ1    | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 |  |
|       | QA     | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 |  |
| 3     | QS     | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 | wt677/wt677<br>wt1298/var1298<br>heterozygot variant     |
|       | EZ1    | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 |  |
|       | QA     | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 |  |
| 4     | QS     | Homozygot variant<br>var677/var677  | Homozygot wt wt1298/wt1298            | var677/var677<br>wt1298/wt1298<br>homozygot<br>variant   |
|       | EZ1    | Homozygot variant<br>var677/var677  | Homozygot wt<br>wt1298/wt1298         |  |
|       | QA     | Homozygot variant<br>var677/var677  | Homozygot wt<br>wt1298/wt1298         |  |
| 5     | QS     | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 | wt677/var677<br>wt1298/var1298<br>heterozygot<br>variant |
|       | EZ1    | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 |  |
|       | QA     | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 |  |

| Donor | Metode | nt 677                              | nt 1298                               | Genotyperesultat               |
|-------|--------|-------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| 6     | QS     | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 | wt677/var677<br>wt1298/var1298 |
|       | EZ1    | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 | heterozygot                    |
|       | QA     | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 | variant                        |
| 7     | QS     | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Homozygot wt wt1298/wt1298            | wt677/wt677<br>wt1298/wt1298   |
|       | EZ1    | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Homozygot wt<br>wt1298/wt1298         | homozygot                      |
|       | QA     | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Homozygot wt<br>wt1298/wt1298         | villtype                       |
| 8     | QS     | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Homozygot wt wt1298/wt1298            | wt677/wt677<br>wt1298/wt1298   |
|       | EZ1    | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Homozygot wt<br>wt1298/wt1298         | homozygot                      |
|       | QA     | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Homozygot wt<br>wt1298/wt1298         | villtype                       |
| 9     | QS     | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 | wt677/var677<br>wt1298/var1298 |
|       | EZ1    | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 | heterozygot                    |
|       | QA     | Heterozygot variant<br>wt677/var677 | Heterozygot variant<br>wt1298/var1298 | variant                        |
| 10    | QS     | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Homozygot wt wt1298/wt1298            | wt677/wt677<br>wt1298/wt1298   |
|       | EZ1    | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Homozygot wt<br>wt1298/wt1298         | homozygot                      |
|       | QA     | Homozygot wt<br>wt677/wt677         | Homozygot wt<br>wt1298/wt1298         | villtype                       |

Den genetiske varianten av metylenetetrahydrofolatreduktase (MTHFR)-genet ble analysert ved to nukleotidposisjoner (nt 677 og nt 1298) ved hjelp av en smeltekurveanalyse på et LightCycler®-instrument. Fullblod ble samlet inn fra 10 friske donorer i BD K2E-glass. For alle metoder ble det anvendt prøveinngangsvolum på 200 µl og elueringsvolum på 200 µl.

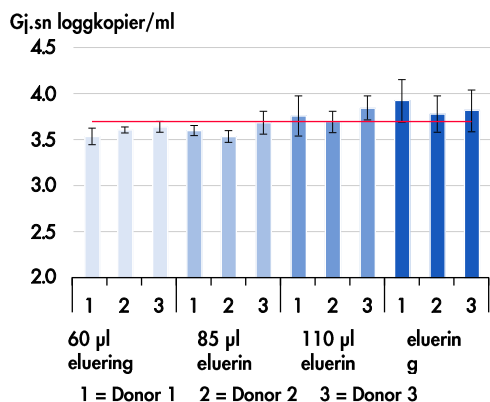
QS = QIASymphony DSP DNA Mini-sett og Blood 200 DSP-protokoll; EZ1 = EZ1 Advanced XL ved bruk av EZ1 DSP DNA Blood Kit; QA = QIAamp DNA Blood Mini Kit. wt = villtype allele ved den respektive posisjonen på MTHFR-genet; var = variant allele ved den respektive posisjonen på MTHFR-genet.

## Virusblod

Ytelsesegenskaper for virusblodapplikasjoner ble utført ved bruk av prøver fra bloddonorer med en hvit blodcelle-telling fra 4,0 til 11,0 x 10<sup>6</sup> celler/ml.

## Viral DNA-gjenoppretting

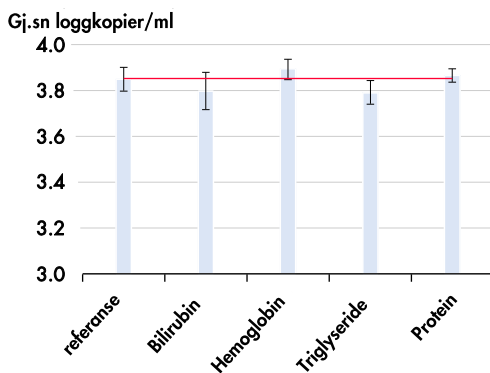
Fullblod ble samlet inn fra 3 friske donorer i BD K2E-glass og tilsatt CMV-standardmateriale (titer 3,7 loggkopier/ml). Viralt DNA ble rensset fra 7 replikater, hver ved bruk av QIASymphony DSP DNA Mini-settet og Virus Blood 200 DSP-protokollen med 4 ulike elueringsvolum (figur 7).



**Figur 7. Sammenligning av kvantifisering av viralt DNA for ulike elueringsvolum.** Eluater fra hver donorprøve og elueringsvolum (60 µl, 85 µl, 110 µl og 165 µl) ble analysert med *artus* CMV RG PCR Kit. Den røde streken representerer målliteren, og søylene viser gjennomsnittlige loggkopier pr. milliliter med standardavvik

## Hemmende stoffer

Effekten av hemmende stoffer, som kan finnes i fullblod, på Virus Blood 200 DSP-protokollens ytelse, ble testet ved å tilsette følgende stoffer: For hemoglobin (200 g/l) og protein (120 g/l) ble eksisterende nivåer i blodprøven fastslått og ytterligere hemoglobin eller protein ble tilsatt for å oppnå de indikerte konsentrasjonene, henholdsvis 200 g/l eller 120 g/l. For bilirubin (200 mg/l) og triglyserider (30 g/l) ble den totale mengden av hvert stoff tilsatt i prøvene for å oppnå de indikerte konsentrasjonene.



**Figur 8. Test av hemmende stoff.** Fullblod ble samlet inn fra 1 frisk donor i BD K2E-glass og tilsatt CMV-standardmateriale (titer 4,0 loggkopier/ml). Fem prøver ble testet ved å tilsette potensielle hemmere og viralt DNA ble renset fra fire replikater av hver prøve ved bruk av QIA Symphony DSP DNA Mini Kit og DSP Virus Blood 200-protokollen med et elueringsvolum på 165 µl. Eluater ble analysert med *artus* CMV RG PCR Kit. Den røde streken representerer den fastslåtte titeren for referanseprøve, som ikke ble tilsatt hemmende stoffer, og søylene viser gjennomsnittlige loggkopier pr. milliliter med standardavvik.

## Følsomhet

Treffraterstudier ble utført ved å fortynne forhåndskvantifisert CMV WHO-standardmateriale i CMV-negativt humant fullblod. En deteksjonsrate på 100 % ble observert for prøver med virusbelastninger på 90 IE av CMV pr. milliliter.

Tabell 8. Følsomhet for QIAasymphony DSP Virus Blood-applikasjon

| CMV (IE/ml) | Replikater | Treff | Treff % |
|-------------|------------|-------|---------|
| 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    |

Humant fullblod ble samlet inn fra 1 frisk CMV-negativ donor i BD K2E-glass og tilsatt CMV WHO-standardmateriale ved bruk av ulike titre. Viralt DNA ble rensset ved bruk av QIAasymphony DSP DNA Mini Kit og DSP Virus Blood 200-protokollen med et elueringsvolum på 60 µl. Eluater ble analysert med artus CMV RG PCR Kit

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfravigelser, se den respektive håndboken eller brukerhåndboken for QIAGEN-kitet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-kit er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan anmodes fra QIAGENS tekniske tjenester eller din lokale distributør.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAasymphony®, artus®, EZ1®, theascreen® (QIAGEN Group); Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); LightCycle® (Roche Group). Registrerte navn, varmerker osv. som brukes i dette dokumentet skal ikke betraktes som ubeskyttet av lov, selv om de ikke spesifikt er merket som dette 08/2015 HB-0977-D01-004 © 2012–2015 QIAGEN, med enerett.

