




Ydelsesegenskaber

QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue-kit, version 1 **REF** 60404

Versionsstyring

Dette dokument indeholder ydelsesegenskaberne for QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kit, version 1, R3.

  	Kontrollér, hvilke nye reviderede udgaver af elektronisk mærkning der er tilgængelige på www.qiagen.com/HB-0414 , inden testen udføres. Den aktuelle revisionsstatus er angivet med udstedelsesdato (format: måned/år).
---	---

Efterfølgende analyse

Den eluerede genomiske DNA er klar til brug i forskellige efterfølgende analyser, herunder forskellige efterfølgende in vitro-diagnostiske analyser. Se den relevant håndbog til QIAGEN-kittet for at få flere oplysninger om specifik systempræstation.

Udbytte af oprenset DNA

Formalinfikserede, paraffinindstøbte (formalin-fixed, paraffin-embedded, FFPE) prøver kan udvise en høj grad af vævsheterogenitet. Vævsoverfladeområdet er desuden yderst variabelt i FFPE-prøver, hvilket resulterer i en variabel kvantitet af ekstraheret DNA. Brugeren skal derfor optimere antallet af sektioner, sektionstykkelser og sektionsoverfladeområde for deres prøve af interesse og alle procedurer, der udføres i laboratoriet.

Se instruktioner i den relevante håndbog, hvis kittet anvendes sammen med en efterfølgende anvendelse af QIAGEN.

Utilstrækkelig vævsdehydrering under klargøring af FFPE-væv, anbringelse af for meget paraffin omkring prøven til ekstraktionsrør, anvendelse af ethanol af lavere renhed (ikke molekylærbiologitype) end anbefalet eller retineret af xylene eller ethanol i prøven kan føre til

suboptimal ekstraktion og lav DNA-kvantitet.

Repeterbarhed

Repeterbarheden blev evalueret ved hjælp af seks FFPE-cellelinjer, der blev genereret fra humane celler fikseret i formalin og indstøbt i paraffin. Prøverne blev testet med QuantiTect® SYBR® grøn masterblanding og β -aktingenspecifikke primere sammen med Rotor-Gene® Q-realtids-PCR-cyklusser. Der blev udført PCR-reaktioner for et 174 bp fragment og for et 218 bp fragment af det humane β -aktingen.

Til den statistiske analyse blev der anvendt 72 datapunkter til hver fragmentstørrelse. Den statistiske analyse omfattede beregning af standardafvigelsen (standard deviation, SD) og 95 % øvre og nedre konfidensgrænser. Variationen blev estimeret ved hjælp af varianskomponentanalyse som standardafvigelsen for 218 bp fragmentet (SD: 0,342 C_T ; 95 % nedre konfidensgrænse: 0,291; 95 % øvre konfidensgrænse: 0,413). Denne kan anvendes som et estimat af repeterbarheden for ekstraktionsprocessen. Variation estimeret for 174 bp fragment var 0,258 C_T ; 95 % nedre konfidensgrænse: 0,220; 95 % øvre konfidensgrænse: 0,312.

Reproducerbarhed

Vurdering af reproducerbarhed blev foretaget på tværs af tre laboratorier ved hjælp af tre kliniske FFPE-prøver med væv fra ikke-småcellet lungecancer (non-small cell lung cancer, NSCLC): en indeholdt en sletnings-6223-mutation, en indeholdt en L858R-mutation og en vildtype- (wild-type, WT) prøve. De kliniske FFPE-prøver blev valgt på basis af deres kendte mutationsstatus ifølge Sangersekventering.

For hver af de mutante kliniske FFPE-prøver blev 48 sekventielle FFPE-sektioner randomiseret i par til anvendelse i en ekstraktion og opdelt i tre batcher, en batch pr. teststed.

Ekstraktionerne blev udført in duplo på hvert teststed. Hvert sted anvendte et unikt lot af QIAamp FFPE DNA DSP-kit til ekstraktion. Prøvevurdering og mutationsvurdering blev foretaget ved hjælp af *therascreen* EGFR RGQ PCR-kittet på alle tre steder. Prøver blev testet på tre ikke-konsekutive dage over en periode på seks dage. Hver prøve blev testet seks gange på hvert sted og gav i alt 18 datapunkter pr. prøve.

For alle prøver over alle tre steder blev der påvist 100 % korrekte mutationskald.

Linearitet

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kittet kan anvendes til isolering af DNA fra forskellige vævstyper. Der skal fastlægges et lineært område ifølge kundekrav, og det skal valideres til den særlige brug. Der forventes forskellige lineære områder for forskellige vævstyper afhængigt af vævsindsætningen i systemet så vel som vævskarakteristika.

Interfererende stoffer

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue-kittet kan anvendes til isolering af DNA fra forskellige vævstyper. Potentielt interfererende stoffer kan stamme fra forskellige kilder, f.eks. naturlige metabolitter, der er specifikke for vævstypen og organet, metabolitter, der er produceret under patologiske forhold, stoffer indført under patientbehandling eller stoffer, som patienten har indtaget. På grund af kompleksiteten af potentielt interfererende stoffer og forskellig sensitivitet for specifikke efterfølgende anvendelser anbefaler vi, at brugere vurderer effekten af de interfererende stoffer for deres egne systemer og validerer metoden til kontrol af interferens i deres specifikke diagnostiske efterfølgende anvendelse.

Se yderligere oplysninger om interfererende stoffer i specifikke efterfølgende anvendelser af QIAGEN i kithåndbøgerne.

Krydskontaminering

For at vurdere niveauet af krydskontaminering blev der anvendt to FFPE-cellelinje-NSCLC-prøver: vildtype- og FFPE-cellelinjeprøven indeholdt exon-21 L858R-mutationen. Studiet tilstræbte at efterligne den situation, hvor prøver med et højt mutationsniveau kan krydskontaminere andre prøver indenfor ekstraktionsproceduren. Der blev foretaget DNA-oprensning for at provokere proceduren ved at oprense DNA fra L858R-mutantprøver placeret ved siden af vildtypeprøver ved hjælp af et reagenslot. Krydskontamineringen blev vurderet ved hjælp af *therascreen*[®] EGFR RGQ PCR-kittet. Resultaterne viste ingen krydskontaminering indenfor hele systemet.

Præstation af QIAamp DSP DNA FFPE DNA-eluat i Pyrosequencing[®]

DNA isoleret fra FFPE-væv blev fortyndet til en DNA-koncentration på 2 ng/μl for analysen ved hjælp af *therascreen* EGFR Pyro Assay. I alle kørsler anvendt til bestemmelse af ydelsesegenskaber var signalet over 30 RLU (relative lysenheder), for alle kodoner og alle prøver havde et korrekt medicinsk resultat for mutationsanalysen.

Eluatstabilitet

Eluatstabilitet vil afhænge af indhold og type af samoprensede urenheder (relateret til vævstype), elutionsmængde og opbevaringsforhold. Vi anbefaler, at brugere fastlægger eluatstabilitet ifølge deres bestemte krav.

Se instruktioner i den relevante kithåndbog, hvis kittet anvendes sammen med en efterfølgende anvendelse af QIAGEN.

Vedrørende opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle QIAGEN® kithåndbog eller brugervejledning. QIAGEN kit-håndbøger og brugervejledninger kan findes på www.qiagen.com eller kan rekvireres fra QIAGENS tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QuantiTect®, Pyrosequencing®, Rotor-Gene®, *therascreen*® (QIAGEN Group); SYBR® (Thermo Fisher Scientific Inc).

© 2017 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes. 02/2017 HB-0414-D01

Bestilling www.qiagen.com/contact | Teknisk support support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com