




# Caracteristici de performanță

Kitul QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue, Versiunea 1 **REF** 60404

## Managementul versiunii

Acest document prezintă caracteristicile de performanță ale kitului QIAamp DSP DNA FFPE Tissue, Versiunea 1, R3.

  	Verificați dacă o nouă actualizare este disponibilă în format electronic pe pagina <a href="http://www.qiagen.com/HB-0414">www.qiagen.com/HB-0414</a> înainte de a efectua teste. Statusul ediției curente este indicat prin data la care a fost publicată (în format: lună/an).
---	--

## Analize ulterioare

ADN-ul genomic eluat este gata de a fi folosit în diferite proceduri ulterioare, inclusiv varii proceduri de diagnosticare in vitro. Consultați manualul de instrucțiuni corespunzător kitului QIAGEN pentru mai multe informații cu privire la performanța fiecărui sistem.

## Randamentul ADN-ului purificat

Probele fixate în formol, incorporate în parafină (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) pot prezenta un grad ridicat de eterogenitate a țesutului. Mai mult, suprafața de țesut este foarte variabilă în probele FFPE, fapt ce determină o variație în privința cantității de ADN extras. Astfel, utilizatorul trebuie să optimizeze numărul de secțiuni, grosimea și suprafața acestora pentru proba de interes pentru fiecare procedură din laborator.

În cazul în care kitul este folosit complementar cu o procedură ulterioară QIAGEN, consultați manualul de instrucțiuni aferent.

Deshidratarea insuficientă a țesuturilor în timpul preparării țesutului FFPE, introducerea unui conținut prea ridicat de parafină alături de probă în tubul de extracție, utilizarea unei soluții de etanol de puritate mai redusă decât cea recomandată (nepotrivită studiilor de biologie moleculară) sau retenția de xilen sau etanol în probă pot duce la o extracție suboptimă și la o cantitate redusă de ADN.

## Repetabilitate

Repetabilitatea a fost evaluată folosind șase linii celulare FFPE obținute din celule umane fixate în formol, incorporate în parafină. Probele au fost testate cu amestecul QuantiTect® SYBR® Green și cu primeri specifici genei de  $\beta$ -actină în ciclul PCR în timp real Rotor-Gene® Q. Reacțiile PCR au fost efectuate pentru un fragment de 174 perechi de baze azotate și pentru un fragment de 218 perechi de baze azotate din gena umană de  $\beta$ -actină.

Pentru analiza statistică au fost colectate 72 de puncte pentru fiecare mărime de fragment. Analiza statistică a inclus calculul deviației standard (standard deviation, SD) și al limitei superioare și inferioare a intervalului de încredere de 95%. Variația a fost estimată folosind analiza componentelor variate ca deviație standard pentru fragmentul de 218 perechi de baze azotate (SD: 0,342  $C_T$ ; limita inferioară a intervalului de încredere de 95%: 0,291; limită superioară a intervalului de încredere de 95%: 0,413). Aceasta poate fi folosită ca indicator al repetabilității procesului de extracție. Variația estimată pentru fragmentul de 174 perechi de baze azotate a fost 0,258  $C_T$ ; limita inferioară a intervalului de încredere de 95%: 0,220; limită superioară a intervalului de încredere de 95%: 0,312.

## Reproductibilitate

Evaluarea reproductibilității a fost realizată în trei laboratoare folosind trei specimene clinice FFPE conținând țesut din cancer pulmonar non-microcelular (non-small cell lung cancer, NSCLC): unul suferind o deleție prin mutația 6223, unul o mutație L858R, iar ultimul fiind tip sălbatic (wild-type, WT). Specimenele clinice FFPE au fost selectate pe baza mutațiilor cunoscute prin secvențierea Sanger.

Pentru fiecare specimen clinic mutant FFPE, au fost împerecheate aleator 48 secțiuni secvențiale FFPE pentru a fi utilizate în extracție, fiind împărțite în trei tranșe, o tranșă pentru fiecare locație de test.

Extracțiile au fost efectuate de două ori pentru fiecare locație de test. Fiecare locație de test a folosit un singur lot de kituri QIAamp FFPE DNA DSP pentru extracție. Evaluarea probei și a mutației au fost efectuate cu kitul *therascreen* EGFR RGQ PCR în toate cele trei locații de test. Probele au fost testate în trei zile neconsecutive în decursul a șase zile. Fiecare specimen a fost testat de șase ori la fiecare locație, însumând astfel un total de 18 puncte pentru fiecare specimen.

Pentru toate probele, în toate cele trei locații de test, mutațiile au fost identificate în procent de 100%.

## Linearitate

Kitul QIAamp DSP DNA FFPE Tissue poate fi folosit pentru izolarea ADN-ului din diferite tipuri de țesut. Un domeniu linear trebuie stabilit potrivit cerințelor clientului și validat pentru acel scop specific. Diferite domenii lineare sunt așteptate pentru diferite tipuri de țesut, în funcție de încărcătura de țesut din sistem și de caracteristicile țesutului.

## Substanțe care interferează

Kitul QIAamp DSP DNA FFPE Tissue poate fi folosit pentru izolarea ADN-ului din diferite tipuri de țesut. Substanțe care pot interfera pot proveni din diferite surse, precum metaboliți naturali specifici pentru tipul de țesut și organ, metaboliți produși în stări patologice, substanțe introduse în timpul tratamentului pacientului sau substanțe ingerate de către pacient. Datorită complexității substanțelor care pot interfera și sensibilității diferite a procedurilor ulterioare specifice, recomandăm ca utilizatorii să evalueze efectul substanței care interferează pentru propriul sistem și să valideze metoda de control a interferenței în procedura ulterioară specifică de diagnostic.

Consultați manualele de instrucțiuni ale kiturilor pentru mai multe informații cu privire la substanțele care interferează în diferite proceduri ulterioare QIAGEN.

## Contaminare încrucișată

Pentru a evalua nivelul de contaminare încrucișată, au fost utilizate două linii celulare FFPE provenite din probe din cancer pulmonar non-microcelular: tip sălbatic și linia celulară FFPE prezentând mutația L858R a exonul 21. Studiul intenționa să recreeze situația în care probele conținând un nivel ridicat de mutație pot contamina încrucișat alte probe în procedura de extracție. Purificarea ADN-ului a fost efectuată pentru a provoca procedura prin purificarea ADN-ului din probele mutante L858R poziționate în apropierea probelor tip sălbatic folosind un singur lot de reactivi. Contaminarea încrucișată a fost evaluată utilizând kitul *therascreen*<sup>®</sup> EGFR RGQ PCR. Rezultatele au arătat că nu a existat contaminare încrucișată în întregul sistem.

## Performanța de eluare a QIAamp DSP DNA FFPE DNA în Pyrosequencing<sup>®</sup>

ADN-ul izolat din țesutul FFPE a fost diluat la o concentrație de ADN de 2 ng/μl pentru analiza folosind evaluarea e *therascreen* EGFR Pyro. În toate testele pentru determinarea caracteristicilor de performanță, semnalul a fost peste 30 URL (unități relative de lumină) pentru toți codonii și pentru toate probele, având un rezultat medical corect pentru analiza mutației.

---

## Stabilitatea eluatului

Stabilitatea eluatului va depinde atât de conținutul și tipul impurităților care au fost de asemenea purificate (relativ față de tipul de țesut), cât și de volumul de eluat și de condițiile de depozitare. Recomandăm ca utilizatorii să identifice stabilitatea eluatului pentru cerințele lor individuale.

În cazul în care kitul este folosit complementar cu alte proceduri ulterioare QIAGEN, consultați manualul de instrucțiuni corespunzător.

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați manualul kitului QIAGEN® respectiv sau manualul de utilizare. Manualele kiturilor QIAGEN și manualele de utilizare sunt disponibile la adresa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) sau pot fi solicitate de la Serviciile Tehnice QIAGEN sau distribuitorul dvs. local.

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

© 2017 QIAGEN, toate drepturile rezervate. 02/2017 HB-0414-D01

---

---

Pentru comenzi [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Suport tehnic [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)