

# Caractéristiques de performance

Kit QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue, Version 1 **REF** 60404

## Gestion des versions

Ce document présente les caractéristiques de performance du kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue, version 1, R3.

  	Vérifier la disponibilité de nouvelles mises à jour des notices électroniques à l'adresse <a href="http://www.qiagen.com/HB-0414">www.qiagen.com/HB-0414</a> avant de procéder à la réalisation des tests. L'état de la mise à jour actuelle est indiqué par la date de parution (format : mois/année).
---	---

## Analyses en aval

L'ADN génomique élué est prêt à être utilisé pour différents tests en aval, y compris divers tests de diagnostic in vitro en aval. Se reporter au manuel du kit QIAGEN correspondant pour plus d'informations sur les performances spécifiques du système.

## Rendement de l'ADN purifié

Les échantillons de tissu fixé au formol et inclus en paraffine (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) peuvent présenter une grande hétérogénéité tissulaire. De plus, la surface tissulaire d'échantillons FFPE varie significativement, ce qui aboutit à des quantités d'ADN extrait variables. L'utilisateur doit donc optimiser le nombre de coupes, ainsi que leur épaisseur et leur surface, pour l'échantillon d'intérêt et toutes les procédures utilisées dans son laboratoire.

Si l'utilisation du kit est associée à une application QIAGEN en aval, se reporter aux instructions du manuel correspondant.

Une déshydratation insuffisante du tissu pendant la préparation du tissu FFPE, une quantité trop importante de paraffine placée avec l'échantillon dans le tube d'extraction, l'utilisation d'un éthanol de qualité inférieure (qualité autre que biologie moléculaire) à celle recommandée ou la présence résiduelle de xylène ou d'éthanol dans l'échantillon peut aboutir à une extraction sous-optimale et l'obtention d'une faible quantité d'ADN.

## Répétabilité

La répétabilité a été évaluée au moyen de six lignées cellulaires FFPE générées à partir de cellules humaines fixées au formol et incluses en paraffine. Les échantillons ont été testés avec le Master Mix QuantiTect® SYBR® Green et des amorces spécifiques au gène  $\beta$ -actine avec le thermocycleur de PCR en temps réel Rotor-Gene® Q. Des réactions PCR ont été réalisées pour amplifier deux fragments de 174 pb et 218 pb du gène  $\beta$ -actine humain.

Pour l'analyse statistique, 72 points de données ont été utilisés pour chaque taille de fragment. L'analyse statistique comprenait le calcul de l'écart-type (ET) et des limites supérieures et inférieures de l'intervalle de confiance à 95 %. La variation a été estimée par analyse des composantes de la variance comme l'écart-type pour le fragment de 218 pb (ET : 0,342  $C_T$  ; limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % : 0,291 ; limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95 % : 0,413). Cela peut être utilisé pour estimer la répétabilité de la procédure d'extraction. La variance estimée pour un fragment de 174 pb était de 0,258  $C_T$  ; limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % : 0,220 ; limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95 % : 0,312.

## Reproductibilité

La reproductibilité a été évaluée dans trois laboratoires à l'aide de trois échantillons FFPE cliniques contenant du tissu de cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC). Un échantillon contenait une mutation de type délétion 6223 et un autre la mutation L858R. Le troisième échantillon était du tissu de type sauvage (wild type, WT). La sélection de ces échantillons FFPE cliniques a été réalisée sur la base de leur statut mutationnel connu déterminé par séquençage Sanger.

Pour chaque échantillon FFPE clinique comportant une mutation, 48 coupes consécutives de tissu FFPE ont été associées aléatoirement par paires pour être utilisées pour l'extraction, puis réparties en trois lots, un par site participant.

Les extractions ont été réalisées en double sur chaque site participant. Chaque site a utilisé un lot unique de kits QIAamp DNA DSP FFPE pour l'extraction. L'évaluation des échantillons et des mutations a été réalisée en utilisant le kit *therascreen* EGFR RGQ PCR sur les trois sites. Les échantillons ont été testés lors de trois jours non consécutifs sur une période de six jours. Chaque échantillon a été testé six fois sur chaque site de façon à obtenir un total de 18 points de données par échantillon.

Pour les trois sites et les trois échantillons, 100 % des mutations ont été identifiées correctement.

---

## Linéarité

Le kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue peut être utilisé pour l'isolation de l'ADN issu de différents types de tissu. L'utilisateur doit établir une plage de linéarité selon ses besoins et la valider pour cette application. Il est attendu que les plages de linéarité varient d'un type de tissu à un autre, selon le tissu chargé dans le système et ses caractéristiques.

## Substances interférentes

Le kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue peut être utilisé pour l'isolation de l'ADN issu de différents types de tissu. Des substances potentiellement interférentes d'origines variées peuvent être présentes dans l'échantillon, par exemple des métabolites naturels spécifiques au type de tissu ou à l'organe, des métabolites générés lors d'un état pathologique, des substances liées au traitement du patient ou des substances ingérées par le patient. En raison de la complexité des substances potentiellement interférentes et des différences de sensibilité des applications en aval, nous recommandons aux utilisateurs d'évaluer l'effet des substances interférentes sur leurs propres systèmes et de valider la méthodologie de contrôle des interférences pour leurs applications diagnostiques spécifiques en aval.

Se reporter aux manuels des kits pour plus d'informations sur les substances interférentes pour des applications en aval QIAGEN spécifiques.

## Contamination croisée

Pour évaluer le niveau de contamination croisée, des échantillons FFPE provenant de deux lignées cellulaires CPNPC ont été utilisés : une lignée de type sauvage (WT) et une lignée cellulaire FFPE avec la mutation L858R de l'exon 21. L'objectif de l'étude était de simuler une situation où des échantillons contenant une proportion élevée d'ADN muté pourraient contaminer de manière croisée d'autres échantillons traités lors de la même procédure d'extraction. Le procédé de purification de l'ADN a été mis à l'épreuve en purifiant des échantillons mutants L858R placés juste à côté d'échantillons WT, en utilisant le même lot de réactifs. La contamination croisée a été évaluée au moyen du kit *therascreen*<sup>®</sup> EGFR RGQ PCR. Aucune contamination croisée n'a été observée pour l'ensemble de la procédure.

## Performances de l'éluat du kit QIAamp DSP DNA FFPE pour le Pyrosequencing®

De l'ADN isolé à partir de tissu FFPE a été dilué jusqu'à obtenir une concentration en ADN de 2 ng/µl afin d'être analysé à l'aide du test *therascreen* EGFR Pyro. Dans toutes les séries utilisées pour la détermination des caractéristiques de performance, le signal était supérieur à 30 unités relatives de lumière (relative light units, RLU) pour tous les codons, et les résultats médicaux de l'analyse mutationnelle étaient corrects pour tous les échantillons.

### Stabilité de l'éluat

La stabilité de l'éluat dépendra de sa teneur et du type d'impuretés co-purifiées (selon le type tissulaire), du volume d'éluat et des conditions de conservation. Nous recommandons aux utilisateurs de déterminer la stabilité de l'éluat en fonction de leurs besoins particuliers.

Si l'utilisation du kit est associée à une application QIAGEN en aval, se reporter aux instructions du manuel du kit correspondant.

Pour obtenir une information actualisée sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques des produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN® approprié. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou peuvent être demandés auprès des Services Techniques QIAGEN ou du distributeur local.

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

© 2017 QIAGEN, tous droits réservés. 02/2017 HB-0414-D01

---

Pour commander [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Assistance technique [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site Web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)