

Características de desempenho

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

Gestão de versão

Este documento é designado de Características de desempenho do Kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue, versão 1, R3.

  	Verificar a disponibilidade de novas revisões de rotulagem eletrónica em www.qiagen.com/HB-0414 antes da realização do teste. O estado de revisão atual é indicado pela data de lançamento (formato: mês/ano).
---	--

Análise a jusante

O ADN genómico eluído está pronto a ser utilizado em diferentes ensaios a jusante, incluindo uma variedade de ensaios a jusante de diagnóstico in vitro. Consultar o manual relevante do kit QIAGEN para mais informações sobre o desempenho específico do sistema.

Rendimento do ADN purificado

As amostras fixadas por formalina e embebidas em parafina (FFEP) podem apresentar um elevado grau de heterogeneidade tecidular. Além disso, a área do tecido é altamente variável em amostras FFEP, o que dá origem a uma quantidade variável de ADN extraído. Portanto, o utilizador deve otimizar o número de secções, a espessura das mesmas e a respetiva área da amostra em questão e em todos os procedimentos utilizados no seu laboratório.

Se o kit estiver a ser utilizado em conjunto com uma aplicação da QIAGEN a jusante, consultar o manual relevante para obter instruções.

O facto de a desidratação do tecido ser insuficiente durante a preparação do tecido FFEP, de se colocar demasiada parafina juntamente com a amostra no tubo de extração, de se utilizar etanol de pureza inferior (que não é de grau de biologia molecular) à recomendada, ou a retenção de xileno ou de etanol na amostra podem dar origem a uma extração subótima e a uma baixa quantidade de ADN.

Repetibilidade

A repetibilidade foi avaliada utilizando seis linhas celulares FFEP geradas a partir de células humanas fixadas por formalina e embebidas em parafina. As amostras foram testadas com a mastermix QuantiTect® SYBR® Green e iniciadores específicos do gene de β -actina, juntamente com o ciclador de PCR em tempo real Rotor-Gene® Q. As reações de PCR foram executadas num fragmento 174 bp e num fragmento 218 bp do gene humano de β -actina.

Na análise estatística, foram utilizados 72 pontos de dados para cada tamanho de fragmento. A análise estatística incluiu o cálculo do desvio padrão (DP) e dos limites de confiança superior e inferior de 95%. A variação foi calculada utilizando análise de componentes de variância como desvio padrão para o fragmento 218 bp (DP: 0,342 C_T ; limite de confiança de 95% inferior: 0,291; limite de confiança de 95% superior: 0,413). Pode ser utilizado como estimativa da repetibilidade no processo de extração. A variação calculada para o fragmento 174 bp foi 0,258 C_T ; limite de confiança de 95% inferior: 0,220; limite de confiança de 95% superior: 0,312.

Reprodutibilidade

A avaliação da reprodutibilidade foi realizada em três laboratórios, utilizando três amostras FFEP clínicas contendo tecido de carcinoma pulmonar não de pequenas células (CPNPC): uma apresentava uma deleção da mutação 6223, uma apresentava uma mutação L858R e outra era de tipo selvagem (wild-type, WT). As amostras FFEP clínicas foram selecionadas com base no seu estado de mutação conhecido de acordo com a sequenciamento de Sanger.

Para cada uma das amostras FFPE clínicas mutantes, foram aleatorizadas em pares 48 secções FFPE sequenciais para serem utilizadas numa extração e divididas em três lotes, um lote por cada centro de teste.

As extrações foram executadas em duplicado em cada centro de teste. Cada centro utilizou um lote único de kits QIAamp FFPE DNA DSP para fazer a extração. A avaliação das amostras e a avaliação das mutações foram realizadas utilizando o kit *therascreen* EGFR RGQ PCR Kit nos três centros. As amostras foram testadas em três dias não consecutivos ao longo de um período de seis dias. Cada amostra foi testada seis vezes em cada centro, o que deu um total de 18 pontos de dados por amostra.

Para todas as amostras, nos três centros, demonstrou-se a presença de mutações corretas em 100% dos casos.

Linearidade

O kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue pode ser utilizado para isolamento do ADN em diferentes tipos de tecidos. Deve ser estabelecido um intervalo linear, de acordo com os requisitos do cliente, que deve ser validado para aquela utilização em particular. São esperados intervalos lineares diferentes para tipos de tecidos diferentes, dependendo da carga de tecido no sistema e das características do tecido.

Substâncias interferentes

O kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue pode ser utilizado para isolamento do ADN em diferentes tipos de tecidos. As substâncias potencialmente interferentes podem ter origens diferentes, por ex., metabolitos naturais específicos do tipo de tecido e do órgão, metabolitos produzidos durante estados patológicos, substâncias utilizadas durante o tratamento do doente ou substâncias ingeridas pelo doente. Devido à complexidade das potenciais substâncias interferentes e às diferentes sensibilidades de aplicações a jusante específicas, recomendamos que os utilizadores avaliem o efeito das substâncias interferentes nos seus próprios sistemas e validem o método de controlo da interferência na sua aplicação a jusante de diagnóstico específico.

Consultar os manuais do kit para mais informações sobre as substâncias interferentes em aplicações a jusante específicas da QIAGEN.

Contaminação cruzada

Para avaliar o nível de contaminação cruzada, foram utilizadas duas amostras de CPNPC de linha celulares FFPE: a amostra de tipo selvagem e a amostra da linha celular FFPE com a mutação L858R no exão 21. O estudo tinha como objetivo imitar a situação em que as amostras que contêm um nível elevado de mutação podem contaminar de forma cruzada outras amostras dentro do procedimento de extração. Foi levada a cabo uma purificação do ADN para comparar o procedimento purificando o ADN de amostras com mutação L858R posicionadas ao lado de amostras de tipo selvagem, utilizando um lote de reagentes. A contaminação cruzada foi avaliada utilizando o kit *therascreen*[®] EGFR RGQ PCR. Os resultados não revelaram contaminação cruzada em todo o sistema.

Desempenho do eluato QIAamp DSP DNA FFPE DNA em Pyrosequencing®

O ADN isolado em tecido FFPE foi diluído para obter uma concentração de ADN de 2 ng/µl para análise utilizando o ensaio *therascreen* EGFR Pyro. Em todas as séries utilizadas para determinação das características de desempenho, o sinal foi superior a 30 unidades relativas de luz (Relative Light Units, RLU) para todos os codões e todas as amostras produziram um resultado médico correto relativamente à análise da mutação.

Estabilidade do eluato

A estabilidade do eluato vai depender do conteúdo e do tipo de impurezas copurificadas (relacionadas com o tipo de tecido), do volume de eluição e das condições de armazenamento. Recomendamos que os utilizadores estabeleçam a estabilidade do eluato em função dos seus requisitos particulares.

Se o kit estiver a ser utilizado em conjunto com uma aplicação da QIAGEN a jusante, consultar o manual do kit relevante para obter instruções.

Para informações atualizadas sobre licenciamento e limitações de responsabilidade específicas do produto, consultar o respetivo manual do kit QIAGEN® ou do utilizador. Os manuais do kit QIAGEN e do utilizador estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

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

Encomendas www.qiagen.com/contact | Assistência técnica support.qiagen.com | Website www.qiagen.com