

Características de rendimiento del RNeasy[®] DSP FFPE Kit

Versión 2

IVD

Para uso diagnóstico in vitro

Para su uso con el RNeasy DSP FFPE Kit

CE

REF

73604



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemania

R1

Las características de rendimiento están disponibles en formato electrónico y se pueden encontrar en la pestaña de recursos de la página del producto en www.qiagen.com

Introducción general

El RNeasy DSP FFPE Kit está destinado a la purificación manual de ARN total de tejidos fijados en formalina e impregnados en parafina (Formalin-Fixed, Paraffin Embedded, FFPE).

El producto está concebido para que lo utilicen usuarios profesionales, como técnicos y médicos formados en técnicas de biología molecular. Utiliza un protocolo optimizado basado en columnas de centrifugación de sílice e incluye la eliminación enzimática del ADN residual.

El RNeasy DSP FFPE Kit aísla las moléculas de ARN de más de 70 nucleótidos y permite la recuperación de fragmentos de ARN que se pueden utilizar para aplicaciones anterógradas como la RT-PCR.

Rendimiento del ARN purificado

El rendimiento básico del RNeasy DSP FFPE Kit se evaluó empleando muestras FFPE de 5 tejidos humanos distintos (mama, colon, pulmón, melanoma y piel normal; 20 muestras cada uno).

Las muestras FFPE pueden mostrar un alto grado de heterogeneidad tisular. Además, el área superficial del tejido puede variar en gran medida en las muestras FFPE, lo que puede originar una cantidad variable de ARN extraído. Por consiguiente, el usuario deberá optimizar el número de secciones, su grosor y área superficial en sus muestras de interés y en los procedimientos anterógrados empleados en su laboratorio.

Si se utiliza el kit junto con una aplicación de QIAGEN® anterógrada, consulte el correspondiente manual de uso para obtener instrucciones.

Una deshidratación tisular insuficiente durante la preparación de tejido FFPE, la adición de un exceso de parafina a la muestra en el tubo de extracción, el uso de etanol de menor pureza (en lugar de etanol de calidad apta para biología molecular) que la recomendada o la conservación del etanol en la muestra pueden llevar a que la extracción no sea óptima y la cantidad de ARN sea baja o se reduzca el rendimiento posterior.

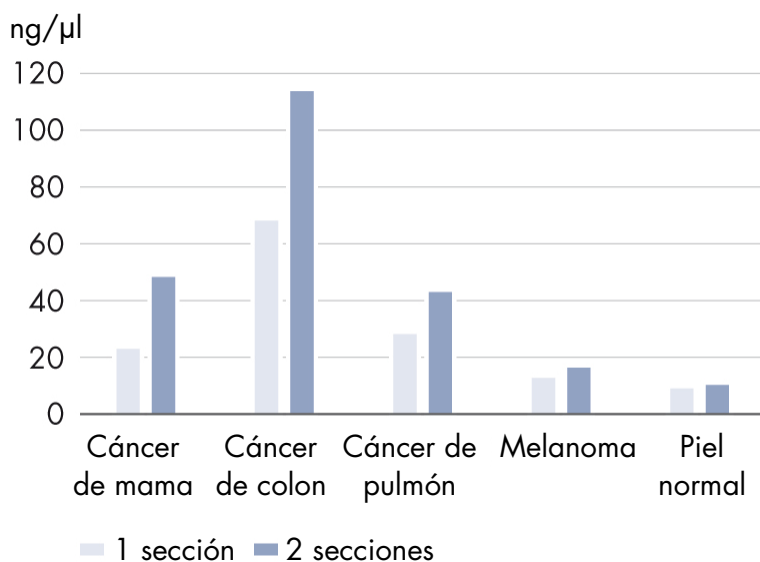


Figura 1. Rendimiento de ARN de distintos tejidos humanos (volumen de elución de 32 μl)

Análisis anterógrados

El ARN eluido está listo para ser utilizado en ensayos anterógrados. Para evaluar el rendimiento, se aislaron 10 ng de ARN con el RNeasy DSP FFPE Kit de 5 tejidos humanos distintos (mama, colon, pulmón, melanoma y piel normal; 20 muestras con una o dos secciones) y se validaron mediante RT-PCR destinada al gen humano de la β -actina. La amplificación se realizó con éxito y mostró que el ARN aislado con el RNeasy DSP FFPE Kit se puede usar para análisis anterógrados.

El usuario debe optimizar el número de secciones, el grosor de las secciones y su área de superficie para su muestra de interés en todo procedimiento posterior empleado en su laboratorio, o consultar el rendimiento específico del ensayo anterógrado correspondiente.

	Cáncer de mama	Cáncer de colon	Cáncer de pulmón	Melanoma	Piel normal
RT-PCR, 1 sección	✓	✓	✓	✓	✓
RT-PCR, 2 secciones	✓	✓	✓	✓	✓

Figura 2. Amplificación de RT-PCR correcta de secciones FFPE de 10 μ m derivadas para cinco tejidos humanos distintos analizados.

Estabilidad del eluido

La estabilidad del eluido dependerá del contenido y del tipo de impurezas copurificadas (relacionadas con el tipo de tejido), del volumen de elución y de las condiciones de almacenamiento. Recomendamos que los usuarios determinen la estabilidad del eluido según sus requisitos particulares.

La estabilidad del eluido se analizó para muestras de ARN humano derivadas de FFPE almacenadas a una temperatura entre -15 y -30 °C y entre -60 y -90 °C. No se observó deterioro durante un máximo de 12 semanas y los eluidos almacenados a temperatura ambiente ($18-25$ °C) fueron estables durante un máximo de 12 horas. Todas las condiciones se evaluaron mediante RT-PCR destinada al gen humano de la β -actina.

Si se utiliza el kit junto con aplicaciones de QIAGEN anterógradas, consulte el correspondiente manual de uso del kit para obtener instrucciones.

Repetibilidad

La repetibilidad se evaluó mediante muestras FFPE de células sanguíneas humanas nucleadas. Las muestras se analizaron con un ensayo validado internamente para un fragmento de 295 bp del gen humano de la β -actina en un termociclador para real-time PCR ABI® 7900.

Para el análisis estadístico, se usaron 108 puntos de datos de tres lotes de extracción (mismo lote de kit, mismo operador y mismo día). El análisis estadístico incluyó el cálculo de la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) de los valores de C_T derivados de la RT-PCR para la β -actina. La DE fue de 1,1 C_T y el CV fue del 4,1 % (tabla 1).

Tabla 1. Resultados de repetibilidad

	Repetibilidad		
	C _T medio	DE	CV (%)
Lote 1	26,64	1,01	3,81
Lote 2	27,51	1,16	4,2
Lote 3	27,23	0,95	3,5
Lote 1 + 2 + 3	27,13	1,11	4,07

Reproducibilidad

La reproducibilidad se llevó a cabo evaluando extracciones de ARN de muestras FFPE de células sanguíneas humanas nucleadas con distintos operadores, en distintos días y distintos operadores y días. Las muestras se analizaron con un ensayo validado internamente para un fragmento de 295 bp del gen humano de la β -actina en un termociclador para real-time PCR ABI 7900. Para el análisis estadístico, se usaron 108 puntos de datos de tres lotes de extracción para cada entorno de prueba. El análisis estadístico incluyó el cálculo de la DE y el coeficiente de variación (CV) de los valores de C_T derivados de la RT-PCR para la β -actina (tabla 2).

Tabla 2. Resultados de reproducibilidad

	Repetibilidad		
	C _T medio	DE	CV (%)
Distintos operadores	26,92	1,06	3,95
Distintos días	26,56	1,20	4,53
Distintos operadores y días	26,63	1,01	3,78

Linealidad de la introducción de muestra

El RNeasy DSP FFPE Kit se puede usar para aislar el ARN de distintos tipos de tejido FFPE. El sistema se validó para el uso de 1-4 secciones de células sanguíneas humanas nucleadas FFPE y mostró un aumento lineal del rendimiento del ARN. Debe establecerse un intervalo lineal según los requisitos del cliente y validarse para cada uso particular. Se prevén diferentes rangos lineales en los diferentes tipos de tejidos, en función de la carga tisular en el sistema, así como de las características del tejido y los ensayos anterógrados.

Sustancias interferentes

Las sustancias potencialmente interferentes pueden proceder de diferentes orígenes, como metabolitos naturales específicos del tipo de tejido y órgano, metabolitos producidos durante estados patológicos, sustancias introducidas durante tratamientos del paciente o sustancias ingeridas por el paciente. Debido a la complejidad de las sustancias potencialmente interferentes y de la diferente sensibilidad de las aplicaciones anterógradas específicas, recomendamos que los usuarios evalúen el efecto de las sustancias interferentes para sus propios sistemas y validen un método de control de interferencias en su aplicación anterógrada de diagnóstico específica.

No se observaron sustancias interferentes derivadas de componentes del RNeasy DSP FFPE Kit durante el procesamiento de muestras y la extracción de ARN.













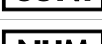





Consulte los manuales de uso del kit para obtener más información sobre las sustancias interferentes en aplicaciones anterógradas de QIAGEN específicas.

Contaminación cruzada

Para evaluar el nivel de contaminación cruzada, se incluyeron 500 ng de ARN total de sangre en la solución de desparafinización y se aislaron adyacentes a tubos que no contenían ARN (tubos negativos de extracción). El estudio tenía como finalidad simular las condiciones en las que muestras con un nivel elevado de moléculas diana de ARN pueden generar contaminación cruzada de otras muestras durante el procedimiento de extracción. La purificación de ARN se llevó a cabo utilizando un lote de reactivos. La contaminación cruzada se evaluó mediante RT-PCR destinada al gen humano de la β -actina. Los resultados mostraron ausencia de contaminación cruzada en todo el sistema.

Símbolos

En las instrucciones de uso o en el embalaje y en el etiquetado aparecen los siguientes símbolos:

Símbolo	Definición del símbolo
	Contiene suficientes reactivos para <N> reacciones
	Fecha de caducidad
	Este producto cumple los requisitos del reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro.
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	A su recepción
	DN
	RNeasy MinElute Spin
	Número de catálogo
	Número de lote
	Número de material (es decir, etiquetado de los componentes)
	Componentes (lista de los elementos incluidos)
	Contiene (contenido)
	Número (es decir, viales, frascos)
	Número mundial de artículo comercial
Rn	"R" es la revisión de las instrucciones de uso (manual de uso) y "n" es el número de revisión
	Limitación de temperatura
	Fabricante
	Consultar las instrucciones de uso
	Precaución

Símbolo

Definición del símbolo

PROTK

Proteínasa K

Sodium azide

Azida sódica

UDI

Identificador único de dispositivo

Historial de revisiones del documento

Revisión	Descripción
R1, junio de 2022	Versión de IVDR

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales de uso y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al servicio técnico técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, RNeasy® (QIAGEN Group); ABI® (Life Technologies Corporation). Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. utilizados en este documento, incluso cuando no aparecen marcados como tales, están protegidos por la legislación.

06/2022 HB-3027-D01-001 © 2022 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

