




# Características de rendimiento

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

## Administración de versiones

Este documento es la versión 1, R3 de las Características del rendimiento del kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue.

  	Compruebe la disponibilidad de nuevas versiones de la documentación electrónica en <a href="http://www.qiagen.com/HB-0414">www.qiagen.com/HB-0414</a> antes de realizar el ensayo. El estado de revisión actual viene indicado por la fecha de publicación (formato: mes/año).
---	--

## Análisis posteriores

El ADN genómico eluido está listo para su uso en distintos ensayos posteriores, incluidos varios tipos de ensayos posteriores de diagnóstico in vitro. Consulte el manual del kit QIAGEN correspondiente para obtener más información sobre el rendimiento de un sistema determinado.

## Rendimiento del ADN purificado

Las muestras fijadas en formalina e incorporadas en parafina (formalin-fixed paraffin-embedded, 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 ADN extraído. Por consiguiente, el usuario deberá optimizar el número de cortes, su grosor y área superficial en sus muestras de interés y en los procedimientos empleados en su laboratorio.

Si se utiliza el kit junto con una aplicación QIAGEN posterior, consulte el correspondiente manual para obtener instrucciones.

Una deshidratación tisular insuficiente durante la preparación de tejido FFPE, la adición de un exceso de parafina con 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 xileno o el etanol en la muestra pueden llevar a que la extracción no sea óptima y la cantidad de ADN sea baja.

## Repetibilidad

La repetibilidad se evaluó utilizando seis líneas celulares FFPE generadas a partir de células humanas fijadas en formalina e incorporadas en parafina. Las muestras se analizaron con mezcla maestra QuantiTect® SYBR® Green y cebadores de  $\beta$ -actina específicos del gen junto con el termociclador de PCR en tiempo real Rotor-Gene® Q. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo con un fragmento de 174 bp y un fragmento de 218 bp del gen  $\beta$ -actina humano.

Para los análisis estadísticos, se utilizaron 72 puntos de datos con cada tamaño de fragmento. Los análisis estadísticos incluyeron el cálculo de la desviación estándar (SD) y los límites superior e inferior del intervalo de confianza del 95 %. La variación se calculó utilizando el análisis de componentes de varianza como la desviación estándar para el fragmento de 218 bp (SD: 0,342  $C_T$ ; límite inferior del intervalo de confianza del 95 %: 0,291; límite superior del intervalo de confianza del 95 %: 0,413). Esto puede emplearse como cálculo de repetibilidad para el proceso de extracción. La variación calculada para el fragmento de 174 bp fue de 0,258  $C_T$ ; límite inferior del intervalo de confianza del 95 %: 0,220; límite superior del intervalo de confianza del 95 %: 0,312.

## Reproducibilidad

La evaluación de reproducibilidad se llevó a cabo en tres laboratorios, utilizando tres muestras FFPE clínicas que contenían tejido de cáncer de pulmón no microcítico (non-small cell lung cancer, NSCLC): una muestra con una mutación por delección 6223, una con mutación L858R y una de tipo silvestre (wild type, WT). Las muestras FFPE clínicas se seleccionaron basándose en el estado de mutación conocido según la secuenciación de Sanger.

Para cada una de las muestras FFPE clínicas mutantes, se asignaron aleatoriamente 48 secciones FFPE secuenciales en parejas para su uso en una extracción y se dividieron en tres lotes, uno por cada centro de ensayo.

Las extracciones se llevaron a cabo por duplicado en cada centro de ensayo. Cada centro utilizó un lote exclusivo de kits QIAamp FFPE DNA DSP para la extracción. Se llevó a cabo la evaluación de muestras y de mutaciones utilizando el kit *therascreen* EGFR RGQ PCR en los tres centros. Las muestras se analizaron en tres días no consecutivos durante un período de seis días. Cada muestra fue analizada seis veces en cada centro, lo que dio lugar a un total de 18 puntos de datos para cada muestra.

Para todas las muestras, en los tres centros, se observó un 100% de identificaciones de mutaciones correctas.

---

## Linealidad

El kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue se puede utilizar para el aislamiento de ADN procedente de diferentes tipos de tejido. 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.

## Sustancias interferentes

El kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue se puede utilizar para el aislamiento de ADN procedente de diferentes tipos de tejido. 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 posteriores específicas, recomendamos que los usuarios evalúen el efecto de las sustancias interferentes para sus propios sistemas y validen el método de control de interferencias en su aplicación posterior de diagnóstico específica.

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

## Contaminación cruzada

Para evaluar el nivel de contaminación cruzada, se utilizaron dos muestras NSCLC de la línea celular FFPE: la de tipo silvestre y la muestra de la línea celular FFPE con la mutación L858R del exón 21. El estudio tenía como fin simular las condiciones en las que muestras con un elevado nivel de mutación pueden realizar una contaminación cruzada de otras muestras dentro del procedimiento de extracción. Se llevó a cabo una purificación del ADN para cuestionar el procedimiento purificando ADN de las muestras mutantes L858R situadas junto a muestras del tipo silvestre, utilizando un lote de reactivos. La contaminación cruzada se evaluó con el kit *therascreen*<sup>®</sup> EGFR RGQ PCR. Los resultados mostraron ausencia de contaminación cruzada en todo el sistema.

## Rendimiento del eluido de ADN QIAamp DSP DNA FFPE en Pyrosequencing®

El ADN aislado del tejido FFPE se diluyó hasta una concentración de ADN de 2 ng/μl para su análisis utilizando el ensayo *therascreen* EGFR Pyro. En todos los análisis empleados para la determinación de las características de rendimiento, la señal fue de más de 30 RLU (unidades de luz relativas) para todos los codones y todas las muestras presentaron un resultado médico correcto en el análisis de mutación.

## Estabilidad del eluido

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

Si se utiliza el kit junto con una aplicación QIAGEN posterior, consulte el correspondiente manual del kit para obtener instrucciones.

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía del usuario del kit de QIAGEN® correspondiente. Los manuales y los manuales del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) o pueden solicitarse al Servicio Técnico de QIAGEN o al distribuidor local.

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

© 2017 QIAGEN. Reservados todos los derechos. 02/2017 HB-0414-D01

---

Pedidos [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Asistencia técnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Sitio web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)