

Caractéristiques de performances du RNeasy[®] DSP FFPE Kit

Version 2

IVD

Pour utilisation diagnostique in vitro

Pour utilisation avec le RNeasy DSP FFPE Kit

CE

REF

73604



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne

R1

Les caractéristiques de performances sont disponibles sous forme électronique et se trouvent sous l'onglet des ressources de la page des produits à l'adresse www.qiagen.com

Introduction générale

Le RNeasy DSP FFPE Kit est conçu pour la purification manuelle de l'ARN total de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (Formalin-Fixed, Paraffin Embedded, FFPE).

Ce produit est destiné à l'usage des professionnels, tels que les techniciens et les médecins formés aux techniques de la biologie moléculaire. Il utilise un protocole sur colonne de centrifugation en silice optimisé et inclut une élimination enzymatique de l'ADN résiduel.

Le RNeasy DSP FFPE Kit isole les molécules d'ARN plus longues que 70 nucléotides et permet la récupération de fragments d'ARN utilisables pour les applications en aval telles que la RT-PCR.

Rendement en ARN purifié

Les performances de base du RNeasy DSP FFPE Kit ont été évaluées avec des échantillons FFPE de 5 tissus humains différents (sein, côlon, poumon, mélanome et peau normale ; 20 échantillons de chaque).

Les échantillons FFPE peuvent présenter une grande hétérogénéité tissulaire. De plus, la surface tissulaire d'échantillons FFPE varie significativement, ce qui aboutit à des quantités d'ARN 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 en aval utilisées dans son laboratoire.

Si l'utilisation du kit est associée à une application en aval QIAGEN®, consulter les instructions du manuel correspondant.

Une déshydratation insuffisante du tissu pendant la préparation du tissu FFPE, une quantité trop importante de paraffine ajoutée à 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 d'éthanol dans l'échantillon peut aboutir à une extraction sous-optimale et l'obtention d'une faible quantité d'ARN ou de performances en aval réduites.

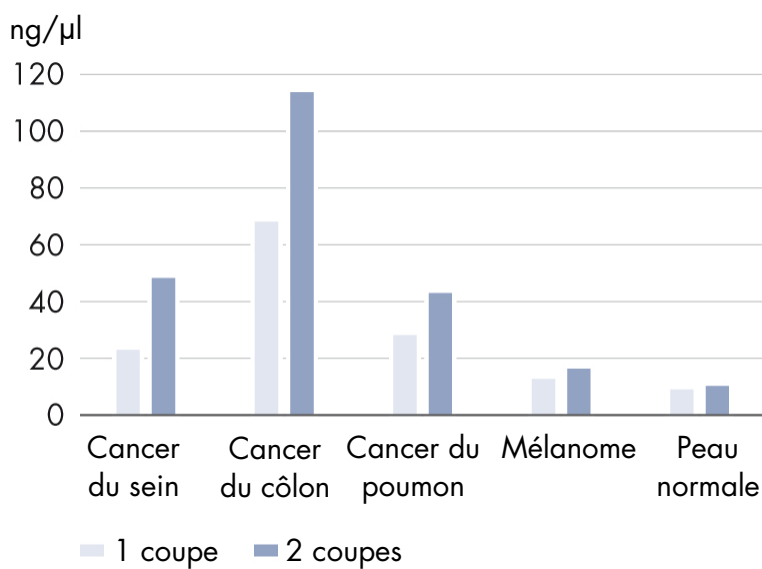


Figure 1. Rendements d'ARN de différents tissus humains (32 μl de volume d'élution).

Analyses en aval

L'ARN élué est prêt à être utilisé pour des dosages en aval. Afin d'évaluer les performances, 10 ng d'ARN ont été isolés avec le RNeasy DSP FFPE Kit à partir de 5 différents tissus humains (sein, côlon, poumon, mélanome et peau normale ; 20 échantillons composés d'une ou deux coupes) et validés par RT-PCR ciblant le gène de l'actine bêta humaine. L'amplification a réussi, indiquant que l'ARN isolé avec le RNeasy DSP FFPE Kit peut être utilisé pour l'analyse en aval.

L'utilisateur doit soit optimiser le nombre de coupes, l'épaisseur des coupes et la surface des coupes pour l'échantillon voulu et toute procédure ultérieure du laboratoire, soit se référer aux performances spécifiques du dosage en aval approprié.

	Cancer du sein	Cancer du côlon	Cancer du poumon	Mélanome	Peau normale
1 coupe RT-PCR	✓	✓	✓	✓	✓
2 coupes RT-PCR	✓	✓	✓	✓	✓

Figure 2. Amplification par RT-PCR réussie de 10 µm de coupes FFPE tirées de cinq différents tissus humains testés.

Stabilité des éluats

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

La stabilité de l'éluat a été testée pour les échantillons d'ARN humain FFPE conservés entre -15 et -30 °C et entre -60 et -90 °C. Aucune détérioration n'a été observée pendant jusqu'à 12 semaines et les éluats conservés à température ambiante (18 à 25 °C) étaient stables pendant 12 heures au maximum. Toutes les conditions ont été évaluées à l'aide d'une RT-PCR ciblant le gène de l'actine bêta humaine.

Si l'utilisation du kit est associée à des applications QIAGEN en aval, consulter les instructions du manuel du kit correspondant.

Répétabilité

La répétabilité a été évaluée avec un échantillon FFPE de cellules sanguines humaines nucléées. Les échantillons ont été testés avec un dosage validé en interne pour un fragment de 295 bp du gène de l'actine bêta humaine sur un thermocycleur pour real-time PCR ABI® 7900.

Pour l'analyse statistique, 108 points de données de trois lots d'extraction (même lot de kit, opérateur et jour) ont été utilisés. L'analyse statistique incluait le calcul de l'écart-type (ET) et le coefficient de variation (CV) des valeurs C_T dérivées de la RT-PCR de l'actine bêta. L'ET était 1,1 C_T et le CV était 4,1 % (Tableau 1).

Tableau 1. Résultats de répétabilité

	Répétabilité		
	Moyenne C _T	ET	CV (%)
Lot 1	26,64	1,01	3,81
Lot 2	27,51	1,16	4,2
Lot 3	27,23	0,95	3,5
Lot 1 + 2 + 3	27,13	1,11	4,07

Reproductibilité

La reproductibilité a été effectuée en évaluant les extractions d'ARN d'échantillons FFPE de cellules sanguines humaines nucléées avec différents opérateurs, lors de jours différents et avec des opérateurs et des jours différents. Les échantillons ont été testés avec un dosage validé en interne pour un fragment de 295 bp du gène de l'actine bêta humaine sur un thermocycleur pour real-time PCR ABI 7900. Pour l'analyse statistique, 108 points de données de trois lots d'extraction ont été utilisés pour chaque paramètre de test. L'analyse statistique incluait le calcul de l'ET et le coefficient de variation (CV) des valeurs C_T dérivées de la RT-PCR de l'actine bêta (Tableau 2).

Tableau 2. Résultats de reproductibilité

	Répétabilité		
	Moyenne C _T	ET	CV (%)
Opérateurs différents	26,92	1,06	3,95
Jours différents	26,56	1,20	4,53
Opérateurs et jours différents	26,63	1,01	3,78

Linéarité de l'entrée d'échantillons

Le RNeasy DSP FFPE Kit peut être utilisé pour l'isolation de l'ARN issu de différents types de tissus FFPE. Le système a été validé pour utiliser 1 à 4 coupes de cellules sanguines humaines nucléées FFPE et a présenté une augmentation linéaire du rendement d'ARN. 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, ainsi que ses caractéristiques et les dosages en aval.

Substances interférentes

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.

Aucune substance interférente dérivée de composants du RNeasy DSP FFPE Kit pendant le traitement des échantillons et l'extraction de l'ARN n'a été observée.



















Pour plus d'informations sur les substances interférentes dans des applications en aval QIAGEN spécifiques, consulter les manuels des kits.

Contamination croisée

Pour évaluer le niveau de contamination croisée, 500 ng d'ARN total du sang ont été inoculés dans la solution de déparaffinage et isolés à côté de tubes ne contenant pas d'ARN (tubes négatifs à l'extraction). L'objectif de l'étude était de simuler une situation où des échantillons contenant une forte quantité de molécules cibles d'ARN peuvent entraîner la contamination croisée d'autres échantillons pendant la procédure d'extraction. La purification de l'ARN a été réalisée à l'aide d'un lot de réactifs. La contamination croisée a été évaluée à l'aide d'une RT-PCR ciblant le gène de l'actine bêta humaine. Les résultats n'ont montré aucune contamination croisée dans l'ensemble du système.

Symboles

Les symboles suivants apparaissent dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et l'étiquetage :

Symbole	Définition du symbole
	Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions
	À utiliser avant
	Ce produit est conforme aux exigences de la réglementation européenne 2017/746 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	À réception
	DN
	RNeasy MinElute Spin
	Numéro de référence
	Numéro de lot
	Numéro de matériel (c.-à-d. étiquette de composant)
	Composants (c.-à-d. liste des éléments inclus)
	Contient (contenu)
	Quantité (flacons, tubes)
	Numéro d'article du commerce global
Rn	R désigne une révision du mode d'emploi (manuel) et n représente le numéro de révision
	Limite de température
	Fabricant
	Consulter le mode d'emploi
	Attention

Symbole

Définition du symbole

PROTK

Protéinase K

Sodium azide

Azoture de sodium

UDI

Identificateur unique d'appareil

Historique des révisions du document

Révision	Description
R1, juin 2022	Publication IVDR

Pour connaître les dernières informations sur les licences et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des kits et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des services techniques QIAGEN ou de votre distributeur local.

Marques commerciales : QIAGEN®, Sample to Insight®, RNeasy® (groupe QIAGEN) ; ABI® (Life Technologies Corporation). Les noms déposés, marques commerciales, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

06/2022 HB-3027-D01-001 © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.

