

20



BIOCARTIS

Mechelen, 30th July 2021

To Roszdravnadzor
From Biocartis NV, Belgium

We send you the following documents for a medical device registration in the Russian Federation:
Instruction for use for medical device **"Idylla NRAS-BRAF Mutation Test for the determination of somatic mutations in NRAS and BRAF oncogenes for in vitro laboratory studies by real-time PCR on the Idylla Analyzer"** (Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test для определения соматических мутаций в онкогенах NRAS и BRAF для лабораторных исследований in vitro методом ПЦР в реальном времени на Анализаторе Idylla).

Marinaf 30/07/2021

Sincerely,

Marina Belonogova
Director Regulatory Compliance
Biocartis NV

Biocartis NV

Generaal De Wittelaan 11B
2800 MECHELEN
Belgium
+32 (0) 15 632 600

Seen for legalization of
the signature of

Mrs. Marina
BELONOGOVA

Antwerpen, 06-08-2021



Biocartis NV – Generaal de Wittelaan 11 B – 2800 Mechelen – Belgium – KBO 0827475227
www.biocartis.com

Инструкция по применению

Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test для определения соматических мутаций в онкогенах NRAS и BRAF для лабораторных исследований *in vitro* методом ПЦР в реальном времени на Анализаторе Idylla



Biocartis NV
Generaal de Wittelaan 11B
2800 Mechelen,
Belgium
(Бельгия)
www.biocartis.com
m
BCT005568



REF

A0030/6

CE

IVD

Для диагностики
in vitro. 12/2016

ru



BIOCARTIS

Содержание

1 Название	4
2 Назначение / Показания для применения	4
2.1 Назначение	4
2.2 Показания для применения	4
3 Научная основа	5
4 Краткое описание и объяснение теста	6
4.1 Принципы методики	6
4.2 Принципы специфического для теста программного обеспечения	8
5 Содержание продукта	9
5.1 Поставляемые материалы	9
5.2 Необходимые материалы, не входящие в комплект	9
6 Предупреждения и меры предосторожности	11
7 Хранение Картриджей и обращение с ними	12
8 Тип препарата, его хранение и приготовление	14
8.1 Требования к препаратам	14
8.2 Хранение	15
8.3 Приготовление образца	15
8.3.1 Зафиксированные на предметном стекле срезы ткани FFPE	15
8.3.2 Срезы FFPE	15
9 Проведение теста	17
9.1 Методика теста	17
9.2 Контроль качества	18
10 Интерпретация результатов	20
10.1 Действительный результат	21
10.1.1 Обнаружена мутация гена NRAS	21
10.1.2 Обнаружена мутация гена BRAF	21
10.1.3 Мутация гена NRAS или гена BRAF не обнаружена	22
10.1.4 Cq контроля NRAS	22
10.2 Недействительный результат	22
11 Ограничения	23
12 Характеристики	24
12.1 Аналитическая чувствительность	24

12.2 Аналитическая специфичность	26
12.3 Воспроизводимость	27
12.3.1 Межлабораторная воспроизводимость	27
12.3.2 Воспроизводимость между партиями	27
12.4 Точность: эффективность теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test по сравнению с эталонным методом	28
12.5 Интерферирующие вещества	31
12.6 Коммутативность	31
13 Ссылки	32
14 Часто используемые символы	33
15 Контактная информация	35

1 Название

Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test для определения соматических мутаций в онкогенах NRAS и BRAF для лабораторных исследований *in vitro* методом ПЦР в реальном времени на Анализаторе Idylla

I. Состав:

1. Картриджи для теста Idylla NRAS-BRAF – 6 шт. в упаковке
2. Специфическое для NRAS-BRAF Mutation Test программное обеспечение Пакет Типа Теста (Test Type Package) на виртуальном носителе (при необходимости)
3. Инструкция по применению

Краткое название: NRAS-BRAF, Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test

2 Назначение / Показания для применения

2.1 Назначение

Для диагностики *in vitro*.

Для использования в Системе Biocartis Idylla.

Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test, выполняемый в Системе Biocartis Idylla, — это диагностический тест *in vitro* для выявления мутаций в кодонах 12, 13, 59, 61, 117, 146 гена NRAS и кодоне 600 гена BRAF. Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test начинается с выделения ДНК из фиксированного в формалине и залитого парафином (FFPE) среза ткани колоректального рака человека, после чего проводится ПЦР-амплификация с детекцией в режиме реального времени.

2.2 Показания для применения

Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test предназначен для определения статуса мутации гена NRAS в опухоли пациентов с метастатическим колоректальным раком на момент постановки диагноза, и для облегчения принятия многопрофильной группой специалистов решения о лечении. Статус мутации гена BRAF в опухоли оценивается для определения прогноза пациента и для оценки статуса мутации гена RAS в опухоли. Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test не предназначен для диагностики колоректального рака. Результаты определения мутации гена у пациента должны рассматриваться лечащим врачом для принятия решения о терапии совместно с другими факторами течения болезни.

2.3 Целевой пользователь

Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test предназначен для профессионального применения. Тест могут выполнять лабораторные техники с ограниченным опытом молекулярных исследований и опытные врачи-лаборанты, работающие в клинических лабораториях, в частности, в патоморфологических или контрольных лабораториях.

3 Научная основа

Путь MAPK (RAS-RAF-MEK-ERK) — один из наиболее важных путей регуляции пролиферации и выживания опухолевых клеток. Значительная активация пути MAPK часто наблюдалась в различных злокачественных опухолях, зачастую вследствие активирующих мутаций активирующих факторов, таких как RAS и RAF (1, 2). Белки RAS — центральные медиаторы на пути передачи сигналов от рецепторов фактора роста, и поэтому крайне важны для пролиферации, выживаемости и дифференцировки клеток.

Активирующие мутации гена *RAS* приводят к значительной активации белка RAS GTP-азы даже в отсутствие сигналов от фактора роста EGFR. Это приводит к увеличению продолжительности пролиферационного сигнала в клетке (1). BRAF — член семейства RAF-киназ, относящихся к протенкиназам, которые передают сигналы от факторов роста. Мутации гена *BRAF* приводят к значительной активации ингибирующего сигнального пути MAPK в отношении EGFR.

RAS вовлечен в патогенез ряда злокачественных опухолей. Приблизительно в 56 % случаев метастатического колоректального рака (КРР) опухолевые клетки имеют мутации в экзонах 2, 3 и 4 генов *RAS* (3) со следующим распределением по частоте: экзон 2 гена *KRAS* — 43 %; экзон 3 гена *KRAS* — 4 %; экзон 4 гена *KRAS* — 6 %; экзон 2 гена *NRAS* — 3 %; экзон 3 гена *NRAS* — 4 %; экзон 4 гена *NRAS* — 0,3 %. При метастатическом колоректальном раке также встречаются мутации гена *BRAF* с частотой 9 %. Мутации гена *BRAF* V600E присутствуют у > 90 % клеток КРР с мутацией гена *BRAF*, тогда как другие мутации гена *BRAF* встречаются с частотой менее 10 % (2). Пациенты с мутацией гена *BRAF* V600E имеют, по всей вероятности, более плохой прогноз (1). Имеются убедительные литературные данные о том, что мутации гена *BRAF* и мутации гена *RAS* являются взаимоисключающими (4, 5), хотя сообщалось и об обратном (6). Согласно рекомендациям NCCN (7), ESMO (8), ASCO (9) и рекомендациям CAP/AMP/ASCO (10), генотипирование клинически значимых мутаций с чувствительностью 5 % в экзоне 2 (кодоны 12 и 13), экзоне 3 (кодоны 59 и 61) и экзоне 4 (кодоны 117 и 146) генов *RAS* обязательно для тканей (как для первичных опухолевых очагов, так и для метастазов) всех типов метастатического колоректального рака, поскольку наличие этих мутаций коррелирует с отсутствием ответа на терапию ингибиторами EGFR (11).

4 Краткое описание и объяснение теста

4.1 Принципы методики

Система Biocartis Idylla осуществляет весь процесс от подготовки образца до результата: полностью интегрированное приготовление образца, последующая амплификация с помощью ПЦР в режиме реального времени и обнаружение целевых последовательностей. Система Idylla состоит из Консоли Idylla, подсоединенной к одному или нескольким Анализаторам Idylla. Картриджи Idylla, разработанные для специальных областей применения, могут анализироваться на Системе Idylla с использованием специфических для области применения пакетов типа теста (TTP). Специальное программное обеспечение NRAS-BRAF Idylla (NRAS-BRAF TTP) автоматически анализирует полученные данные ПЦР. Методика теста и анализ данных были оптимизированы для срезов ткани FFPE.

ИНФОРМАЦИЯ

Полное описание «Анализатора Idylla для проведения ПЦР с регистрацией результатов в реальном времени см. в руководстве пользователя Анализатора Idylla для проведения ПЦР с регистрацией результатов в реальном времени для диагностики in vitro, в составе, с принадлежностями»

Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test выявляет мутации в кодонах 12, 13, 59, 61, 117, 146 гена *NRAS* и в кодоне 600 гена *BRAF*.

Тест включает пять аллель-специфических мультиплексных ПЦР, предназначенных для специфической амплификации последовательностей гена *NRAS* и гена *BRAF* с мутацией. Консервативные участки гена *NRAS* (NRAS-Total) и гена *BRAF* (BRAF-Total) амплифицируются одновременно. ПЦР являются способом контроля обработки образца (SPC), гарантирующим надлежащее выполнение всего процесса — от подготовки образца до получения результата. Кроме того, данные контрольные реакции позволяют определить количество амплифицируемой ДНК в образце и используется для анализа статуса мутации образца. Картриджи для теста NRAS-BRAF готовы к применению и содержат необходимые реагенты для приготовления образца и проведения ПЦР-амплификации с детекцией в режиме реального времени, начиная с введения срезов ткани FFPE.

Тест включает в себя следующие этапы.

Разжижение материала FFPE и лизис клеток:

после введения среза ткани FFPE в Картридж сочетанное воздействие химических реагентов, ферментов, тепла и фокусированного ультразвука высокой интенсивности (HIFU) вызывает депарафинизацию и разрушение ткани, а также лизис клеток. Нуклеиновые кислоты высвобождаются и готовы к последующей амплификации ПЦР.

ПЦР в режиме реального времени с использованием аллель-специфических праймеров:

ДНК амплифицируется, и целевые последовательности выявляются благодаря флуоресценции. Все необходимые для ПЦР реагенты имеют стабильный состав и используются для выявления 23 мутаций

в:

- кодонах 12, 13, 59, 61, 117, 146 гена *NRAS*;

- кодоне 600 гена *BRAF*,

• Мутации, выявляемые с помощью NRAS-BRAF теста, перечислены в таблицах ниже.

Детекция этих конкретных мишеней осуществляется с помощью меченных флуоресцентным красителем зондов. В процессе специфической амплификации и детекции генерируется флуоресцентный сигнал, который затем анализируется специальным программным обеспечением NRAS-BRAF TTP.

Флуоресцентный сигнал транслируется в генетический сигнал. В конце цикла на экране Консоли

появляется результат, сообщающий о наличии или отсутствии конкретной мутации в гене *NRAS* и (или) гене *BRAF* в анализируемом образце.

Таблица 1. Номенклатура мутаций *NRAS*, выявляемых с помощью теста *Idylla NRAS-BRAF Mutation Test*.

Ген	Экзон	Кодон	Мутация	Белок	Замена нуклеотида	Генетический сигнал
NRAS	2	12	G12D	p.Gly12Asp	c.35G>A	G12D
			G12C	p.Gly12Cys	c.34G>T	G12C
			G12S	p.Gly12Ser	c.34G>A	G12S
			G12A	p.Gly12Ala	c.35G>C	G12A/V
			G12V	p.Gly12Val	c.35G>T	
	3	13	G13D	p.Gly13Asp	c.38G>A	G13D
			G13R	p.Gly13Arg	c.37G>C	G13R/V
			G13V	p.Gly13Val	c.38G>T	
	3	59	A59T	p.Ala59Thr	c.175G>A	A59T
		61	Q61K	p.Gln61Lys	c.181C>A	Q61K
			Q61R	p.Gln61Arg	c.182A>G	Q61R
			Q61L	p.Gln61Leu	c.182A>T	Q61L
			Q61H	p.Gln61His	c.183A>C	Q61H
	4	117	K117N	p.Lys117Asn	c.351G>C	K117N
					c.351G>T	
		146	A146T	p.Ala146Thr	c.436G>A	A146T/V
			A146V	p.Ala146Val	c.437C>T	

Таблица 2. Номенклатура мутаций *BRAF*, выявляемых с помощью теста *Idylla NRAS-BRAF Mutation Test*.

Ген	Экзон	Кодон	Мутация	Белок	Замена нуклеотида	Генетический сигнал
BRAF	15	600	V600E	p.Val600Glu	c.1799T>A	V600E/D
					c.1799_1800delinsAA	
			V600D	P.Val600Asp	c.1799_1800delinsAC	V600K/R
			V600K	p.Val600Lys	c.1798_1799delinsAA	
			V600R	p.Val600Arg	c.1798_1799delinsAG	

4.2 Принципы специфического для теста программного обеспечения

2. Специфическое для NRAS-BRAF Mutation Test программное обеспечение Пакет Типа Теста (Test Type Package) автоматически анализирует собранные флуоресцентные сигналы. Полученные флуоресцентные сигналы анализируются с целью оценки действительности графика ПЦР. Для каждого действительного графика рассчитывается значение цикла количественного определения (Cq).

Сигналы контроля обработки образцов (SPC) используются для подтверждения надлежащего выполнения всего процесса, от подготовки образца до получения результата. Наличие мутантного генотипа определяется путем вычисления разницы между значениями Cq для сигналов SPC и значениями Cq для сигнала(-ов) от мутантного гена. Такое различие между контрольным сигналом и сигналом от мутантного гена обозначают как ΔCq .

Мутантный сигнал считается выявленным, если значение ΔCq находится в пределах заранее определенного диапазона, и на основании этого образец будет расцениваться как положительный на мутацию (мутация выявлена). Фиксируется первый сигнал от мутантного гена (т. е. наименьшее значение ΔCq) для каждого гена. Результат выводится на экран Консоли. Будет регистрироваться специфический генетический сигнал, как указано в таблицах выше. Образцы с достоверным контрольным сигналом от гена, значение ΔCq которого выходит за пределы заранее установленного диапазона, регистрируются как негативные на мутацию (мутация не выявлена).

5 Содержание продукта

5.1 Поставляемые материалы

Поставляются следующие материалы.

- Картриджи для теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test (коробка с шестью картриджами, каталожный номер A0030/6). Картриджи упакованы в индивидуальные герметичные пакеты. Каждый Картридж содержит необходимые реагенты для проведения одного теста NRAS-BRAF Mutation Test. Картридж герметично запечатан во избежание контакта пользователя, проводящего тест, с реагентами в Картридже.
- Каждый Картридж содержит:
 - буферный раствор для разжижения: 1.8 мл на Картридж;
 - ферменты, праймеры и зонды (сухие).
- Физические характеристики поставляемых материалов указаны в таблице ниже.

Таблица 3. Спецификации поставляемых материалов для теста NRAS-BRAF Mutation Test.

Артикул	Спецификация
Средняя масса запечатанного Картриджа	117 г.
Размеры Картриджа	96,2 × 72,3 × 42,2 ±5% (высота × ширина × глубина)
Размеры транспортировочного контейнера (6 Картриджей)	285 × 120 × 95±5% (высота × ширина × глубина)
Масса транспортировочного контейнера (6 Картриджей)	0,8±10% кг
Материалы Картриджа	Внешний контейнер из пластика ABS (Novodur HD-15). Внутренние части картриджа состоят из пластиковых деталей [ПЭВП (полиэтилен высокой плотности) и ПП (полипропилен)], фольги и фильтрующих материалов.

5.2 Необходимые материалы, не входящие в комплект

Для выполнения теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test требуются следующие материалы:

Таблица 4. Материалы, требуемые для выполнения теста NRAS-BRAF Mutation Test.

Артикул	Спецификация
Анализатор Idylla*	Каталожный номер P0010
Консоль Idylla*	Каталожный номер P1010
Специфическое для NRAS-BRAF Mutation Test программное обеспечение	Доступно на защищенном веб-сайте компании https://secure.biocartis.com/#/
Пакет Типа Теста (Test Type Package)	Совет Вам будет нужно создать учетную запись пользователя, См. главу 15 : Контактная информация на странице 37.
Инструкции по выполнению Idylla NRAS-BRAF Mutation Test	Доступно на веб-сайте www.biocartis.com/ifu с ключевым кодом BCT007559 (см. также этикетку)
Бумажные фильтры Ватмана	Например, GE Healthcare: класс 1: 500 кружков 10 мм. Каталожный номер: 1001-6508 или аналогичные фильтры Ватмана такой же толщины, зарегистрированные на территории РФ
Предметные стекла	Например, VWR International, предметные стекла, каталожный № 631-9434
Вода без нуклеаз	Например, Sigma-Aldrich, каталожный номер реагентов для молекулярной биологии: W4502
Пинцет	(Желательно без насечек)
Очищающее средство	Например, изопропиловый спирт
Бритвенные лезвия	Например, лезвие с заточкой по одному краю (бритвенные лезвия GEM Scientific), дистрибьютор — компания SPI, каталожный номер: № 05025-AB/05025-MB

* Анализатор Idylla, Консоль Idylla – составные части «Анализатора Idylla для проведения ПЦР с регистрацией результатов в реальном времени для диагностики in vitro, в составе, с принадлежностями», РУ № РЗН 2021/13382 от 08.02.2021г. (далее по тексту - Анализатор Idylla, Консоль Idylla)

**ИНФОРМАЦИЯ**

Дополнительную информацию о получении ТТР или загрузке Руководства пользователя «Анализатора Idylla для проведения ПЦР с регистрацией результатов в реальном времени для диагностики in vitro»», далее Руководство пользователя Idylla см. в глава 15: Контактная информация Инструкции по установке ТТР приведены в Руководстве пользователя.

6 Предупреждения и меры предосторожности

К Idylla NRAS-BRAF Mutation Test применимы следующие предупреждения и меры предосторожности.

- ▮ Для диагностики *in vitro*.
- ▮ Все результаты должны интерпретироваться обученным персоналом в сочетании с оценкой клинических признаков, симптомов и анамнеза пациента.
- ▮ Перед выполнением теста внимательно прочитайте инструкции.
- ▮ С пролитым материалом следует обращаться в соответствии с инструкциями, приведенными в Руководстве пользователя Idylla.
- ▮ Не используйте обработанные Картриджи повторно. Картриджи предназначены только для одноразового использования.
- ▮ Система разработана таким образом, что материалы будут контактировать только с Картриджем и не будут выходить за его пределы. В маловероятном случае протекания Картриджа используйте перчатки и плотно прилегающие к коже защитные очки. Избегайте вдыхания паров путем обеспечения надлежащей вентиляции (не проглатывайте вытекающее вещество).
- ▮ Не используйте Картридж после окончания его срока годности.
- ▮ Обращайтесь со всеми биологическими препаратами, включая использованные Картриджи, как с потенциально инфицированными. Доступны рекомендации Института клинических и лабораторных стандартов по обращению с препаратами, их хранению и утилизации (12, 13, 14).
- ▮ Утилизируйте неиспользованные и просроченные Картриджи как опасные отходы.
- ▮ При обращении с биологическими образцами соблюдайте правила техники безопасности своего учреждения и используйте соответствующие средства индивидуальной защиты.
- ▮ Утилизируйте использованный Картридж в соответствии с процедурами вашей лаборатории.
- ▮ Воздействие на нераспакованный картридж высокой влажности и высокой температуры может отрицательно повлиять на результаты анализа.
- ▮ Для получения дополнительной информации об Анализаторе Idylla обращайтесь к Руководству пользователя Idylla и/или Паспорту безопасности Idylla.
- ▮ Использование окрашенных образцов может привести к получению недостоверных результатов.

7 Хранение Картриджей и обращение с ними

Сразу после получения Картриджи Idylla необходимо поместить на хранение при комнатной температуре. Перед использованием убедитесь в том, что температура Картриджей соответствует комнатной (18–25 °C).

Неиспользованные Картриджи остаются пригодными до истечения срока годности, указанного на этикетке, при хранении в рекомендуемых условиях и в оригинальной упаковке, т. е. в запечатанном пакете.

Внимание!

- Если Картридж хранился в холодильнике, требуется один час для достижения им комнатной температуры.
- Перед использованием проверьте дату окончания срока годности, указанную на Картридже или пакете Картриджа. Дата окончания срока годности, указанная на картридже, представляет собой последний день, когда можно использовать Картридж.
- Используйте Картридж в течение 5 дней после вскрытия пакета.
- Используйте Картридж в течение 8 часов после вскрытия пакета и загрузки образца.
- Не используйте Картридж, если пакет проколот или имеет другие признаки повреждения.
- Не используйте Картридж при наличии видимых повреждений. Не используйте Картридж, который роняли или трясли. При использовании Картриджа, который роняли или трясли, можно получить недействительные результаты.
- Работать с Картриджами и образцами следует на чистой и обеззараженной поверхности.
- Не открывайте крышку Картриджа, пока не будете готовы к проведению теста с Картриджем.
- Не наклоняйте Картридж после введения в него образца.
- Не пытайтесь повторно открыть крышку Картриджа после введения образца и закрытия крышки, а также после проведения теста.
- С пролитым материалом следует обращаться в соответствии с инструкциями, приведенными в Руководстве пользователя Idylla.
- Обращайтесь со всеми биологическими препаратами, включая использованные Картриджи, как с потенциально инфицированными. Доступны рекомендации Института клинических и лабораторных стандартов по обращению с препаратами, их хранению и утилизации (12, 13, 14).
- Утилизируйте неиспользованные и просроченные Картриджи как опасные отходы.
- Не используйте обработанные Картриджи повторно. Картриджи предназначены только для одноразового использования.
- Не подвергайте нераспакованные Картриджи воздействию температуры выше 25 °C и относительной влажности выше 65 %.
- При обращении с биологическими образцами соблюдайте правила техники безопасности своего учреждения и используйте соответствующие средства индивидуальной защиты.

Заявленный срок годности теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test основан на данных, полученных в ходе выполнения программы периодических испытаний стабильности. В каждой временной точке в ходе программы оценивают внешний вид высушенных реагентов в картридже и результаты функционального теста.

Хранить картриджи рекомендовано при комнатной температуре (18–25 °C). Такие условия хранения требуют проведения испытаний стабильности в реальном времени при температурах 5 ± 3 °C и 30 ± 2 °C, представляющих два наихудших сценария.

Вывод:

Приемлемые условия транспортировки и хранения, определенные в Требованиях к продукту:

- **срок годности 12 месяцев при хранении при температуре от 5 ± 3 °C до 30 ± 2 °C, включая воздействие изменений температуры, возникающих при транспортировке в условиях окружающей среды**
- хорошие характеристики продукта при температурных колебаниях в диапазоне от -20 °C до 0 °C в течение 6 дней и от 30 °C до 40 °C в течение 72 часов
- **Транспортировка картриджей должна осуществляться при температурном режиме от +2 °C до +30 °C и относительной влажности не выше 65 %.**

Так как каждый картридж упакован в пакет из ламинированной алюминиевой фольги с влагопоглотителем, принято, что влажность окружающей среды не оказывает влияния на срок хранения картриджа.

Картриджи Idylla NRAS-BRAF Mutation Test пригодны для работы в течение 8 часов после внесения образца при комнатной температуре (18–25 °C) и относительной влажности не выше 65 %.

7.1. ГАРАНТИЯ:

Биокартис НВ (Biocartis NV) гарантирует, что данное изделие прошло комплексную проверку качества по внутренним критериям компании Biocartis, не имеет дефектов и обладает всеми заявленными техническими характеристиками и/или соответствующими свойствами.

При соблюдении условий хранения и рекомендаций по использованию, производитель гарантирует высокое качество работы изделия на протяжении всего срока годности, указанного на упаковке.

7.2. Техническое обслуживание (повседневный уход) и ремонт:

Медицинское изделие и его компоненты/принадлежности не подлежат техническому обслуживанию (повседневному уходу) и ремонту.

Для получения дополнительных услуг или поддержки свяжитесь с Вашим местным дистрибьютором. Уполномоченный представитель в Российской Федерации:

ООО «БиоЛайн»

Юридический адрес: 197022, Россия, г.Санкт-Петербург, вн.тер.г. Муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д.23, литера Е, помещение 3Н/5Н, комната 208

Почтовый адрес: 197022, Россия, г.Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.23, лит. Е

Эл. почта: main@bioline.ru

Тел.: (812) 320-49-49

Факс: (812) 320-49-40

«Горячая линия» службы технической поддержки: 8-800-333-00-49.

7.3. Вывод из эксплуатации и утилизация:

Система и/или ее части, в частности Картриджи NRAS-BRAF, должны утилизироваться с соблюдением действующих в Российской Федерации локальных нормативных предписаний и актов (СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" от 29.01.2021г.):

- Картриджи (использованные и с истекшим сроком годности) должны утилизироваться с соблюдением действующих локальных предписаний, применительно к классу «Б» (Эпидемиологически опасные отходы).

8 Тип препарата, его хранение и приготовление

Информация

Подготовьте препараты в соответствии со стандартными процедурами вашей лаборатории. Доступны рекомендации Института клинических и лабораторных стандартов по сбору, транспортировке, приготовлению и хранению препаратов для методов молекулярной диагностики (14).

Внимание!

Чтобы избежать перекрестной контаминации образцов, тщательно очищайте многократно используемые инструменты, например пинцеты, после каждого использования.

8.1 Требования к препаратам

Необходимо следовать стандартным процедурам фиксации в формалине и заливки парафином. После хирургического удаления зафиксируйте образцы ткани как можно быстрее и ограничьте время фиксации 24 часами для снижения риска выраженной фрагментации ДНК.

В качестве препарата для Idylla NRAS-BRAF Mutation Test можно использовать срезы тканей FFPE толщиной от 5 мкм до 10 мкм. На основании гистопатологического анализа срезов ткани FFPE с окраской гематоксилином и эозином (ГЭ) применяются следующие критерии выбора образца:

Рисунок 1. Критерии, рекомендуемые для выбора образца для теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test.



- Если препарат содержит 10% или более неопластических опухолевых клеток, макродиссекцию выполнять **не** следует.
- Если препарат содержит менее 10% неопластических опухолевых клеток, следует провести макродиссекцию для достижения содержания опухолевых клеток не менее 10%.
- Площадь препарата ткани FFPE должна составлять **не менее**:
 - 50 мм² для срезов ткани FFPE толщиной 5 мкм и
 - 25 мм² для срезов ткани FFPE толщиной 10 мкм.

Возможно использование нескольких срезов ткани FFPE для удовлетворения этого требования.

Площадь препарата ткани FFPE должна составлять **не более**:

- ▮ 600 мм² для срезов ткани FFPE толщиной 5 мкм и
- ▮ 300 мм² для срезов ткани FFPE толщиной 10 мкм.

! ВНИМАНИЕ!

Для выполнения макродиссекции используйте индивидуальный скальпель для каждого образца во избежание перекрестной контаминации образцов.

Использование окрашенных образцов может привести к получению недостоверных результатов.

8.2 Хранение

Срезы ткани FFPE толщиной от 5 мкм до 10 мкм могут храниться при температуре 15–30°C до 60 дней.

8.3 Приготовление образца

8.3.1 Зафиксированные на предметном стекле срезы ткани FFPE

Для приготовления образца из зафиксированного на предметном стекле среза ткани FFPE выполните следующие действия.

1. Увлажните два листа фильтровальной бумаги водой без нуклеазы. Пинцетом поместите их на предметное стекло со срезом ткани FFPE.
2. Новым бритвенным лезвием соскребите срез ткани FFPE (после макродиссекции) со стекла.
3. Перенесите соскобленный материал FFPE на один из увлажненных листов фильтровальной бумаги.
4. Как вариант, при использовании более одного среза ткани повторите шаги 2 и 3, используя то же бритвенное лезвие (пока не будут выполнены минимальные требования к опухоловой ткани).
5. Пинцетом поместите второй увлажненный лист поверх материала FFPE.
6. Утилизируйте бритвенное лезвие.
7. Продолжайте согласно главе 9: Проведение теста на стр. 15.

8.3.2 Срезы FFPE

Чтобы приготовить образец из среза, выполните следующие инструкции:

1. Увлажните два листа фильтровальной бумаги водой без нуклеазы. Пинцетом поместите их на предметное стекло.
2. Пинцетом поместите один или несколько срезов FFPE на один из увлажненных листов фильтровальной бумаги (пока не будут выполнены минимальные требования к

опухолевой ткани).

3. Пинцетом поместите второй увлажненный лист поверх среза FFPE.
4. Продолжайте согласно главе 9: Проведение теста на стр. 15.

9 Проведение теста

ИНФОРМАЦИЯ

Более подробную информацию о проведении тестов см. в Руководстве пользователя Idylla.

9.1 Методика теста

Приведенные ниже инструкции предполагают, что Анализатор и Консоль Idylla включены, по меньшей мере один Анализатор доступен для обработки и пользователь выполнил вход в Систему Консоли.

1. Вскройте пакет и извлеките Картридж.

ВНИМАНИЕ!

- ▮ Не используйте острые предметы для вскрытия пакета с Картриджем.
- ▮ Используйте Картридж в течение 8 часов после вскрытия пакета и загрузки образца.

2. Выберите «Новый тест» на экране Консоли.

3. Выполните сканирование штрих-кода контейнера с образцом с помощью сканера, встроенного в Консоль.

-ИЛИ-

Вручную введите идентификатор образца в соответствующее поле.

4. Выполните сканирование двухмерного штрих-кода, расположенного в верхней части Картриджа, используя сканер Консоли.

5. При желании введите комментарий для добавления к запросу теста и отчету о результатах теста.

6. Нажмите «Подтвердить», чтобы завершить запрос теста.

7. Образец должен быть подготовлен в соответствии с описанием в главе 8.3: Приготовление образца.

8. Удерживая Картридж за корпус, вытяните крышку.

9. Пинцетом возьмите приготовленный образец, включая фильтровальную бумагу, и введите его в отверстие Картриджа.

Осторожно разместите его на лизирующей прокладке, расположенной на дне отверстия Картриджа.

ВНИМАНИЕ!

Постарайтесь поместить образец в середину лизирующей прокладки для правильного выполнения теста. Не касайтесь лизирующей прокладки ни пинцетом, ни пальцами.

10. Снимите зажим и закройте Картридж, плотно задвинув крышку для обеспечения надлежащей герметичности. Осторожно потяните крышку для проверки блокировки.

11. Выберите Анализатор, доступный для обработки.

ПРИМЕЧАНИЕ

Мигающее кольцо белой подсветки вокруг лотка указывает на предлагаемый Анализатор для проведения теста.

12. Откройте лоток Анализатора, нажав кнопку открывания/закрывания на лотке.
13. Поместите Картридж в лоток.
14. Закройте лоток Анализатора, нажав кнопку открывания/закрывания на лотке.
Тест запускается автоматически. Кольцо белой подсветки на Анализаторе будет гореть непрерывно.
15. Очистите все использованные материалы, находившиеся в контакте с образцом, например пинцет, с помощью ткани, смоченной 70 % этанолом, во избежание переноса материала между образцами.
16. На экране Консоли показано время обработки.
17. После завершения теста просмотрите результаты теста на Консоли. При желании по необходимости вы можете распечатать отчет.
18. Утилизируйте использованный Картридж в соответствии с процедурами вашей лаборатории.

ИНФОРМАЦИЯ

Время обработки для Idylla NRAS-BRAF Mutation Test составляет около 110–115 минут.

Доступны также рекомендации Института клинических и лабораторных стандартов (12, 13, 14).

9.2 Контроль качества

Каждый тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test включает интегрированные контроли обработки образцов для подтверждения надлежащего выполнения всего процесса, от подготовки образца до получения результата. Кроме того, данные контрольные реакции позволяют определить количество амплифицируемой ДНК в образце и используется для анализа статуса мутации образца.

Материалы внешнего контроля могут использоваться для целей контроля качества, квалификационных испытаний, обучения и в других целях. Контрольные материалы NRAS и BRAF, полученные из FFPE, доступны в продаже и могут быть приобретены, в частности, у компании Horizon Diagnostics (<http://www.horizondiscovery.com>). Следующие продукты предлагаются компанией Horizon Diagnostics с разной частотой аллеля:

- ▮ BRAF V600E
- ▮ BRAF V600K
- ▮ BRAF V600R
- ▮ BRAF дикого типа
- ▮ NRAS G12D
- ▮ NRAS G12V
- ▮ NRAS G13D
- ▮ NRAS A59T
- ▮ NRAS Q61H

- ┆ NRAS Q61K
- ┆ NRAS Q61L
- ┆ NRAS Q61R
- ┆ NRAS A146T
- ┆ NRAS дикого типа

10 Интерпретация результатов

Система Idylla автоматически интерпретирует результаты теста и обеспечивает их отображение на экране Консоли.

Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test дает один из 5 возможных результатов.

- | Обнаружена мутация в кодоне 12, 13, 59, 61, 117 или 146 гена NRAS.
 - Мутация в кодоне 600 гена BRAF не обнаружена
- | Мутация в кодоне 12, 13, 59, 61, 117 или 146 гена NRAS не обнаружена.
 - Обнаружена мутация в кодоне 600 гена BRAF
- | Мутация в кодоне 12, 13, 59, 61, 117 или 146 гена NRAS не обнаружена.
 - Мутация в кодоне 600 гена BRAF не обнаружена
- | Обнаружена мутация в кодоне 12, 13, 59, 61, 117 или 146 гена NRAS.
 - Обнаружена мутация в кодоне 600 гена BRAF
- | Тест недействителен

При выявлении мутации предоставляется больше информации о ее типе, которая отображается на экране Консоли с указанием приведенной ниже информации.

- | Белок: указывает на наличие мутации согласно номенклатуре Общества по изучению вариаций человеческого генома (HGVS)
- | Замена нуклеотида: указывает замены нуклеотидов и их позицию в гене.

10.1 Действительный результат

При использовании действительного Картриджа результат для генов *NRAS* и *BRAF* отображается на Консоли.

Результаты отображаются на Консоли следующим образом:

Рисунок 2. Критерии, рекомендуемые для выбора образца для теста *NRAS-BRAF Mutation Test*.

ГЕНОТИП NRAS	ОБНАРУЖЕНА МУТАЦИЯ В КОДОНЕ 12 NRAS
Мутация	G12D
Белок	p.Gly12Asp
Замена нуклеотида	c.35G>A

10.1.1 Обнаружена мутация гена NRAS

Таблица 5. Возможные положительные результаты на мутацию гена *NRAS*, выявленные с помощью теста *NRAS-BRAF Mutation Test*.

NRAS	КОДОН	МУТАЦИЯ	БЕЛОК	ЗАМЕНА НУКЛЕОТИДА
	12	G12D	p.Gly12Asp	c.35G>A
		G12C	p.Gly12Cys	c.34G>T
		G12S	p.Gly12Ser	c.34G>A
		G12A/V	p.Gly12Ala/p.Gly12Val	c.35G>C/c.35G>T
	13	G13D	p.Gly13Asp	c.38G>A
		G13R/V	p.Gly13Arg/p.Gly13Val	c.37G>C/c.38G>T
	59	A59T	p.Ala59Thr	c.175G>A
	61	Q61K	p.Gln61Lys	c.181C>A
		Q61R	p.Gln61Arg	c.182A>G
		Q61L	p.Gln61Leu	c.182A>T
		Q61H	p.Gln61His	c.183A>C;c.183A>T
	117	K117N	p.Lys117Asn	c.351G>C;c.351G>T
	146	A146T/V	p. Ala146Thr/Val	c.436G>A/c.437C>T

10.1.2 Обнаружена мутация гена BRAF

Таблица 6. Возможные положительные результаты на мутацию гена *BRAF*, выявленные с помощью теста *NRAS-BRAF Mutation Test*.

BRAF	Кодон	Мутация	Белок	ЗАМЕНА НУКЛЕОТИДА
	600	V600E/D	p.Val600Glu/p.Val600Asp	c.1799T>A; c.1799_1800delinsAA/c.1799_1800delinsAC
		V600K/R	p.Val600Lys/p.Val600Arg	c.1798_1799delinsAA/c.1798_1799delinsAG

10.1.3 Мутация гена NRAS или гена BRAF не обнаружена.

Рисунок 3. Пример результата «Мутация не обнаружена» на Консоли.

ГЕНОТИП NRAS	МУТАЦИЯ В КОДОНАХ 12, 13, 59, 61, 117, 146 ГЕНА NRAS НЕ ОБНАРУЖЕНА
ГЕНОТИП BRAF	МУТАЦИЯ В КОДОНЕ 600 ГЕНА BRAF НЕ ОБНАРУЖЕНА

Если на Консоли отображается результат «Мутация не обнаружена», наличие мутации в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 или 146 гена NRAS и кодоне 600 гена BRAF нельзя исключить, поскольку результат зависит от:

- целостности препарата ДНК;
- процента мутантных аллелей, присутствующих в препарате;
- отсутствия ингибирующих веществ;
- наличия достаточного количества амплифицируемого ДНК.

10.1.4 Cq контроля NRAS

Cq контроля NRAS — это медиана Cq общего количества сигналов внутри картриджа; отображается в справочных целях.

Значение Cq указывает на количество амплифицируемой ДНК в образце и может коррелировать с LOD-характеристиками теста (см. глава 12.1: Аналитическая чувствительность на стр. 21).

10.2 Недействительный результат

Указывает на то, что ДНК, присутствовавшая в образце для выполнения теста, имела субоптимальное качество. По перечисленным ниже причинам может быть получен недействительный результат:

- наличие ингибиторов в образце;
- выраженная фрагментация ДНК, вероятно вызванная слишком длительным временем фиксации образца;
- неправильное размещение образца в Картридже;
- объем образца вне диапазона;
- образец не добавлен.

По указанным выше причинам результат не может быть получен.

Рисунок 4. Пример недействительного результата отображен на Консоли.

ТЕСТ НЕДЕЙСТВИТЕЛЕН	
Примечание	Повторите тест с новым Картриджем.

11 Ограничения

К тесту Idylla NRAS-BRAF Mutation Test применимы следующие ограничения:

- ▮ Для диагностики *in vitro*.
- ▮ Только для применения специалистами. Продукт может использоваться только обученным персоналом.
- ▮ Для обеспечения надежных результатов необходимо осуществлять обслуживание Системы Idylla в соответствии с описанием изготовителя.
- ▮ Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test оптимизирован для применения только с системой Idylla.
- ▮ Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test предполагает использование срезов ткани FFPE колоректальных опухолей.
- ▮ Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test следует использовать в соответствии с инструкциями по применению. Любые отклонения от инструкций должны быть проверены на предмет пригодности пользователем.
- ▮ Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test не должен использоваться ни для целей диагностики, ни для целей мониторинга.
- ▮ Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test является качественным Тестом. Данный тест не предназначен для количественного определения частот аллеля.
- ▮ Рекомендуемая площадь опухоли для теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test составляет $\geq 50 \text{ мм}^2$ для срезов ткани FFPE 5 мкм и $\geq 25 \text{ мм}^2$ для срезов ткани FFPE 10 мкм с минимальным процентным содержанием неопластических опухолевых клеток 10% и более. При использовании образцов, не соответствующих этим критериям, результаты могут быть недостоверными или недействительными.
- ▮ В случае гетерогенности образцов или множественных мутаций сообщается только выявленная доминирующая мутация на ген. Следует учитывать гетерогенность между опухолевыми очагами.
- ▮ Ненадлежащие отбор и обработка препаратов могут привести к деградации или дезаминированию ДНК и оказать неблагоприятное влияние на результаты теста.
- ▮ Использование окрашенных образцов может привести к получению недостоверных результатов.

12 Характеристики

Подтверждаются следующие рабочие характеристики:

- Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)
- Аналитическая специфичность
- Воспроизводимость
- Точность: характеристики теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test по сравнению с эталонным методом
- Интерферирующие вещества
- Коммутативность

12.1 Аналитическая чувствительность

Предел обнаружения (LOD) определяется как наименьшая частота аллеля, при которой мутантные аллели могут быть последовательно обнаружены в $\geq 95\%$ тестов. Исходное количество 16 000 копий фоновых FFPE дикого типа (wild-type, WT) для каждой из пяти мультимплексных реакций ПЦР для одного Картриджа — типичное значение для одного стандартного образца FFPE.

Для оценки LOD по каждой из 23 мутаций, выявленных с помощью теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test, последовательные разведения с содержанием ряда частот аллеля каждого мутанта испытывались при трех различных исходных уровнях фоновых FFPE WT для реакции ПЦР. Исходные уровни находились в диапазоне от 25% до 1% в 1000 копий (4 разведения), от 20% до 1% в 4000 копий (4 разведения) и от 10% до 1% в 16 000 копий (3 разведения). Последовательные разведения были приготовлены из разжиженных стандартных образцов FFPE с мутациями (для коммерчески доступных мутаций) или синтетических олигонуклеотидов целевой ДНК с мутациями, и введены в разжиженный стандартный образец FFPE WT NRAS-BRAF. Тестирование проводилось в два этапа: (1) исследование диапазона доз в шести повторностях для каждого разведения; (2) уточняющее исследование в двенадцати повторностях для суженного диапазона разведений близко к расчетному значению LOD. При этом были использованы картриджи из трех разных партий тестов Idylla NRAS-BRAF Mutation Test. Для определения LOD методом логистической регрессии использовался коэффициент позитивности мутаций в последовательных разведениях. В таблице 7 приведены значения LOD для каждого мутанта по трем исходным уровням с соответствующими значениями C_q контроля NRAS (среднее значение C_q контроля NRAS для всех тестов LOD с данным исходным уровнем).

Для подтверждения расчетных уровней LOD в оценку включались наиболее распространенные мутации (например, на уровне $\geq 3\%$ среди пациентов с колоректальным раком с мутацией генов NRAS или BRAF (ссылка 10)). Была выполнена оценка по меньшей мере одной мутации для каждого кодона путем тестирования 25 повторений близко к соответствующему верхнему пределу 95% доверительного интервала с типичным исходным уровнем для стандартного образца FFPE (например, 16 000 копий фоновых FFPE WT для реакции ПЦР) в одной партии теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test. В следующей таблице представлены данные по наименьшей частоте аллеля (LOD) с коэффициентом позитивности не менее 95% при 95% доверительном интервале.

Таблица 8. Подтвержденные уровни LOD для 10 NRAS-BRAF мутантов с коэффициентом позитивности не менее 95% при 95% доверительном интервале на типичном исходном уровне для стандартного образца FFPE.

Онкоген	Экзон	Кодон	Мутация	Замена нуклеотида	Наименьшая частота аллеля с коэффициентом позитивности $\geq 95\%$ (LOD)	Коэффициент позитивности
					В 16000 копий FFPE ДТ	
NRAS	2	12	G12D	с.35G>A	1,7%	25/25
			G12C	с.34G>T	1,0%	25/25
			G12V	с.35G>C	5,0%	25/25
	3	13	G13R	с.37G>C*	10,0%	25/25
			A59T	с.175G>A	9,0%	25/25
		61	Q61K	с.181C>A	2,0%	25/25
			Q61R	с.182A>G	3,3%	25/25
			K117N	с.351G>C	1,0%	25/25
BRAF	4	146	A146T	с.436G>A	15,0%	25/25
			V600E	с.1799T>A	5,0%	25/25

* Последовательные разведения были приготовлены из синтетической целевой ДНК с мутациями ввиду отсутствия на рынке стандартных образцов FFPE с мутациями.

С помощью теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test можно определить следующие частоты аллеля:

- ≤ 5% в кодонах 12 и 61 гена NRAS и в кодоне 600 гена BRAF
(для наиболее распространенных мутаций, например ≥ 3% среди пациентов с колоректальным раком с мутацией генов NRAS или BRAF)
- ≤ 10% для мутаций в кодонах 13, 59 и 117 гена NRAS и ≤ 15% в кодоне 146 гена NRAS
(редкие мутации, например < 3% среди пациентов с колоректальным раком с мутацией генов NRAS или BRAF)

Выводы

Для всех проведенных мутаций NRAS-BRAF предел обнаружения с долей положительных результатов не менее 95 % при 95 % доверительном интервале.

12.2 Аналитическая специфичность

Анализ последовательности генома человека *in silico* не выявил реактивности ни одного из олигонуклеотидных праймеров за пределами гена NRAS или BRAF, которая могла бы привести к неспецифическому выявлению, таким образом исключив перекрестную реактивность праймеров в тесте Idylla NRAS-BRAF Mutation Test с гомологичными последовательностями в гене KRAS. Кроме того, оценка 45 положительных на мутацию гена KRAS образцов, полученных от пациентов с метастатическим КРР при помощи теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test показала результат «Мутация не обнаружена».

Анализ *in silico* показал, что этот тест позволяет выявить мутации генов NRAS и BRAF, являющиеся целевыми для теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test. Скрининг выявленных мутаций человеческих генов NRAS и BRAF показал, что в образцах ткани колоректального рака не выявлены варианты, отличные от целевых мутаций.

Из известных мутаций в кодонах, исследуемых с помощью теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test, но для которых праймеры изначально не были разработаны, мутации V600fs*11 (с.1799_1800delTG) и V600Q

(с.1798_1799delinsCA) могут выявляться и определяться как V600E/D или V600K/R. Все остальные варианты будут отображаться как «Мутация не обнаружена».

Выводы

Для всех проведенных мутаций NRAS-BRAF предел обнаружения с долей положительных результатов не менее 95 % при 95 % доверительном интервале.

12.3 Воспроизводимость

Для оценки воспроизводимости теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test использовалась панель с пятью наиболее распространенными мутациями генов NRAS или BRAF при колоректальном раке. Панель состоит из искусственных стандартных образцов FFPE с частотой аллеля, соответствующей от 2- до 5-кратному валидированному уровню LOD. Стандартные образцы FFPE с целевой частотой аллеля специально изготовлены и получены из коммерчески доступных стандартных образцов с 50% частотой аллеля:

- стандартный образец NRAS G12D FFPE с частотой аллеля 10%
- стандартный образец NRAS G12V FFPE с частотой аллеля 10%
- стандартный образец NRAS Q61K FFPE с частотой аллеля 10%
- стандартный образец NRAS Q61R FFPE с частотой аллеля 10%
- стандартный образец BRAF V600E FFPE с частотой аллеля 10%

12.3.1 Межлабораторная воспроизводимость

Было проведено исследование межлабораторной воспроизводимости для оценки воспроизводимости в разных лабораториях, с разными сериями, разными анализаторами, в разные дни и разными операторами. Панель стандартных образцов испытывалась на трех разных площадках, дважды на каждой площадке на двух разных Анализаторах Idylla, в течение 5 дней, 2 разными операторами, что дало всего 120 результатов теста на образец. Результаты качественного анализа, проводимого на трех разных площадках на основании полученных сигналов от мутантного гена, приведены в таблице 9.

Таблица 9. Результаты испытаний межлабораторной воспроизводимости

ПРЕПАРАТ	Совпадение (процент)	95% двусторонний доверительный интервал (процент)
10% NRAS G12D	120/120 (100%)	[96,9 – 100]
10% NRAS G12V	120/120 (100%)	[96,9 – 100]
10% NRAS Q61K	120/120 (100%)	[96,9 – 100]
10% NRAS Q61R	120/120 (100%)	[96,9 – 100]
10% BRAF V600E	120/120 (100%)	[96,9 – 100]

В заключение следует отметить, что межлабораторная воспроизводимость теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test для пяти наиболее распространенных мутаций генов NRAS или BRAF при 95% доверительном интервале составила более 96,9%.

12.3.2 Воспроизводимость между партиями

Было проведено исследование воспроизводимости между партиями для оценки воспроизводимости с разными партиями, с разными сериями, разными анализаторами и в разные дни. Панель стандартных образцов испытывалась с тремя разными партиями, дважды с каждой партией на двух разных Анализаторах Idylla, в течение 5 дней, одним оператором, что дало всего 60 результатов теста на образец. Результаты качественного анализа, проводимого с тремя разными партиями на основании

полученных NRAS-BRAF сигналов от мутантного гена, приведены в таблице 10.

Таблица 10. Результаты испытаний воспроизводимости между партиями

ПРЕПАРАТ	СОВПАДЕНИЕ (ПРОЦЕНТ)	95% ДВУСТОРОННИЙ ДОВЕРИТЕЛЬНЫЙ ИНТЕРВАЛ (ПРОЦЕНТ)
10% NRAS G12D	60/60 (100%)	[94,0 – 100]
10% NRAS G12V	60/60 (100%)	[94,0 – 100]
10% NRAS Q61K	60/60 (100%)	[94,0 – 100]
10% NRAS Q61R	60/60 (100%)	[94,0 – 100]
10% BRAF V600E	60/60 (100%)	[94,0 – 100]

Дисперсионный анализ с использованием смешанной линейной модели показал, что эффекты разных источников вариации, используемых при проведении испытаний на воспроизводимость между лабораториями и между партиями, ничтожно малы или отсутствуют.

В заключение следует отметить, что воспроизводимость теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test между партиями для пяти наиболее распространенных мутаций генов NRAS или BRAF при 95% доверительном интервале составила более 94,0%.

Вывод

Воспроизводимость между лабораториями и между партиями для пяти распространенных мутаций NRAS или BRAF в тесте на мутацию Idylla™ NRAS-BRAF с достоверностью 95% превышает 96,9% и 94,0% соответственно.

12.4 Точность: эффективность теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test по сравнению с эталонным методом

Диагностическая эффективность теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test оценивалась на базе 242 образцов, полученных от пациентов с метастатическим колоректальным раком (КРР). Образцы включались в оценку на основании требований, описанных в главе 8: "Тип препарата, его хранение и приготовление" on page 13. Полученные результаты сравнивали с результатами, полученными эталонным методом на основе секвенирования, выявляющего мутации в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146 гена NRAS и в кодоне 600 гена BRAF.

После первого выполнения теста было зарегистрировано четыре системных ошибки и три некорректных выполнения, вследствие чего было получено 235 действительных результатов. Подробное сравнение действительных результатов теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test и эталонного метода приведено в таблице 11.

Таблица 11. Сравнение результатов теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test и эталонного метода.

ОБРАЗЦЫ КРП (n = 235)		ЭТАЛОННЫЙ МЕТОД											
IDYLLA NRAS-BRAF MUTATION TEST	NRAS	G12A	G12V	G12C	G12D	G12S	G13D	Q61H	Q61K	Q61L	Q61R	Мутаций не обнаружено	Итого
	G12A/V	1	4										5
	G12C			2									2
	G12D				8						1		9
	G12S					0							0
	G13D						1						1
	Q61H							1					1
	Q61K								7				7
	Q61L									3			3
	Q61R										6		6
	Мутаций не обнаружено										201	201	
	Итого	1	4	2	8	0	1	1	7	3	6	202	235

ОБРАЗЦЫ КРП (N = 235)	ЭТАЛОННЫЙ МЕТОД			Итого
	BRAF	V600E	Мутаций не обнаружено	
IDYLLA NRAS-BRAF MUTATION TEST	V600E/D	50		50
	Мутаций не обнаружено		185	185
	Итого	50	185	235

В 1 из 235 результатов при проведении теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test обнаружена мутация в кодоне 12, тогда как эталонный метод классифицировал этот образец как «Мутаций не обнаружено». Анализ совпадений результатов тестов приведен в таблице 12. Диагностическое совпадение и 95% доверительные интервалы (односторонняя шкала Уилсона) приведены в таблице 13. Общее диагностическое совпадение результатов теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test и эталонного метода по выявлению мутаций в генах NRAS и BRAF составило 99,6% [98,1%–100%] и 100% [98,9%–100%] соответственно.

Таблица 12. Совпадение результатов теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test и эталонного метода.

ОБРАЗЦЫ KPP (n = 235)	ЭТАЛОННЫЙ МЕТОД			
IDYLLA NRAS-BRAF MUTATION TEST	NRAS	Обнаружена мутация	Мутаций не обнаружено	Итого
	Обнаружена мутация	33	1*	34
	Мутаций не обнаружено		201	201
	Итого	33	202	235

* один ложноположительный образец был проверен по методу капельной цифровой PCR (частота аллеля < 5%) и подтвержден как положительный

ОБРАЗЦЫ KPP (n = 235)	ЭТАЛОННЫЙ МЕТОД			
IDYLLA NRAS-BRAF MUTATION TEST	BRAF	Обнаружена мутация	Мутаций не обнаружено	Итого
	Обнаружена мутация	50		50
	Мутаций не обнаружено		185	185
	Итого	50	185	235

Таблица 13. Диагностическое совпадение результатов теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test и эталонного метода.

	NRAS			BRAF		
	Точечная оценка	Нижний предел 95%	Верхний предел 95%	Точечная оценка	Нижний предел 95%	Верхний предел 95%
Общее диагностическое совпадение	99,6%	98,1%	100%	100%	98,9%	100%
Диагностическое совпадение положительных результатов	100%	Н/П	Н/П	100%	Н/П	Н/П
Диагностическое совпадение отрицательных результатов	99,5%	97,8%	100%	100%	98,6%	100%

Н/П — неприменимо; доверительные интервалы диагностического совпадения положительных результатов не определены ввиду ограниченного количества положительных образцов.

Выводы

Все показатели согласия превышают 90% с доверительной вероятностью 95% на основе одностороннего интервала оценки Вильсона. Никаких противоречивых результатов при тестировании BRAF не наблюдалось.

12.5 Вмешивающиеся вещества

Потенциальное влияние некротической ткани (таблица 14) и наличия муцина (таблица 15) на характеристики теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test оценивалось на базе 242 образцов, полученных от пациентов с метастатическим КРР.

При анализе образцов с некрозом более 10% площади среза ткани FFPE было получено 100% действительных и конкордантных результатов. При анализе образцов с некрозом менее 10% площади среза ткани FFPE в редких случаях были получены недействительные или дискордантные результаты. Это указывает на то, что некротическая ткань не влияет на результаты теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test. Анализ образцов с муцином не выявил корреляции между наличием муцина и недействительными или дискордантными результатами тестов, то есть наличие муцина не влияет на результаты теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test.

Таблица 14. Характеристики теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test для образцов FFPE с различными уровнями некроза.

ПРОЦЕНТ НЕКРОТИЧЕСКОЙ ТКАНИ ОТ ПЛОЩАДИ СРЕЗА ТКАНИ FFPE	ДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЕ (%)	КОНКОРДАНТНЫЕ (%)
<10%	184/187 (98,4%)	183/184 (99,5%)
10% – 25%	40/40 (100%)	40/40 (100%)
25% – 50%	15/15 (100%)	15/15 (100%)

* процент конкордантных результатов теста рассчитан только на основании действительных результатов

Таблица 15. Характеристики теста Idylla NRAS-BRAF Mutation Test для образцов FFPE с различными уровнями муцина.

ПРОЦЕНТ МУЦИНА ОТ ПЛОЩАДИ СРЕЗА ТКАНИ FFPE	ДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЕ (%)	КОНКОРДАНТНЫЕ (%)
<10%	210/212 (99,1%)	209/210 (99,5%)
10% – 25%	19/20 (95%)	19/19 (100%)
25% – 50%	9/9 (100%)	9/9 (100%)
Неизвестно	1/1 (100%)	1/1 (100%)

* процент конкордантных результатов теста рассчитан только на основании действительных результатов

12.6 Коммутативность

Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test характеризуется прослеживаемостью до генов NRAS и BRAF. Мутации в гене NRAS дикого типа в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146, и мутации гена BRAF в кодоне 600 обнаруживаются эталонным методом секвенирования и тестом Idylla NRAS-BRAF Mutation Test. Неопределенность теста является очень низкой, что продемонстрировано исследованиями воспроизводимости и сравнительными исследованиями клинических образцов.

13 Ссылки

НОМЕР ССЫЛКИ	СВЕДЕНИЯ
1	Lovly et al. My Cancer Genome, <i>RAS</i> and <i>BRAF</i> genes, 2015.
2	Beadling et al. Multiplex Mutation Screening by Mass Spectrometry. <i>J Mol Diag</i> 2011: 13(5), 504–513.
3	Peeters et al. Prevalence of <i>RAS</i> mutations and individual variation pattern among patients with metastatic colorectal cancer: A pooled analysis of randomised controlled trials. <i>Eur. J. Cancer</i> 2015: 51(13), 1704-1713.
4	Morkel et al. Similar but different: distinct roles for <i>KRAS</i> and <i>BRAF</i> oncogenes in colorectal cancer development and therapy resistance. <i>Oncotarget</i> 2015: 6(25), 20785-20800.
5	Cisowski et al. Oncogene-induced senescence underlies the mutual exclusive nature of oncogenic <i>KRAS</i> and <i>BRAF</i> . <i>Oncogene</i> 2016: 35(10), 1328-1333.
6	Grellety et al. Challenging a dogma: co-mutations exist in <i>MAPK</i> pathway genes in colorectal cancer. <i>Virchows Arch</i> 2016: 469(4), 459-464.
7	Clinical Practice Guidelines in Oncology, Colon Cancer. Version 2.2016. Доступно на сайте www.nccn.org
8	Van Cutsem et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. <i>Annals Oncol.</i> 2016: 27(8), 1386-1422.
9	Allegra et al. Extended <i>RAS</i> Gene Mutation Testing in Metastatic Colorectal Carcinoma to Predict Response to Anti-EGFR Monoclonal Antibody Therapy: American Society of Clinical Oncology Provisional Clinical Opinion Update 2015. <i>J Clin Oncol</i> 34(2), 179-185.
10	ASCP, CAP, AMP and ASCO guideline on the Evaluation of Molecular Markers for Colorectal Cancer Expert Panel draft 2015. Available at: http://www.amp.org/committees/clinical_practice/documents/20150327CRCMMDraftRecommendationsforOCP-UPDATEDfinaldraft_001.pdf
11	Douillard et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and <i>RAS</i> mutations in colorectal cancer. <i>N Engl J Med</i> 2013: 369(11), 1023-1034.
12	Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Clinical Laboratory Waste Management; Approved Guideline - Third Edition. CLSI document GP05-A3 [ISBN 1-56238-744-8]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2011)
13	Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4 [ISBN 1-56238-961-0]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2014)
14	Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). MM13-A: Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI document MM13-A [ISBN 1-56238-591-7]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2005)

14 Часто используемые символы

Символ	Наименование	Значение
	ISO 15223-1:2012* Идентификатор символа 5.1.6	Каталожный номер Указывает номер по каталогу производителя, чтобы можно было идентифицировать медицинское изделие.
	ISO 15223-1:2012* Идентификатор символа 5.1.5	Код серии Указывает код серии изготовителя, чтобы можно было идентифицировать серию или партию.
	ISO 15223-1:2012* Идентификатор символа 5.1.1	Производитель Указывает производителя медицинского изделия в соответствии с Директивами ЕС 90/385/EEC, 93/42/EEC и 98/79/EC.
	ISO 15223-1:2012* Идентификатор символа 5.1.7	Ограничение температур Указывает пределы температуры, воздействие которой безопасно для медицинского изделия.
	ISO 15223-1:2012* Идентификатор символа 5.1.4	Использовать до Указывает дату, после которой не следует использовать медицинское изделие.
	ISO 15223-1:2012* Идентификатор символа 5.4.3	См. инструкцию по применению Указывает пользователю на необходимость ознакомиться с инструкцией по применению.
	ISO 15223-1:2012* Идентификатор символа 5.5.5	Содержит достаточно материала для <п> Указывает общее количество тестов <i>in vitro</i> (IVD), которое можно провести с реагентами набора IVD.
	ISO 15223-1:2012* Идентификатор символа 5.4.2	Для одноразового пользования Указывает медицинское изделие, предназначенное для одноразового применения или применения у одного пациента в течение одной процедуры.
	ISO 15223-1:2012* Идентификатор символа 5.2.8	Не использовать, если упаковка повреждена Указывает медицинское изделие, которое запрещается использовать, если его упаковка была повреждена или вскрыта.
	ISO 15223-1:2012* Идентификатор символа 5.7.1	Номер пациента Указывает уникальный номер, связанный с отдельным пациентом.
	ISO 15223-1:2012* Идентификатор символа 1.5.5	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i> . Указывает медицинское изделие, предназначенное для использования как медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i> .



ISO 7010:2010**
Идентификатор символа
W001

Знак предупреждения общего характера
Для обозначения предупреждения общего характера.



Директива 98/79/ЕС о
медицинских изделиях для
диагностики in vitro

Conformité Européenne (CE — знак соответствия
требованиям Европейских Директив)



Н/П

Значок ключевого кода (ключевой код). Код, напечатанный
рядом с этим значком, используют для получения
пользовательской документации.

(штрих-код)

Н/П

Используется как уникальный идентификатор изделия.

*15223-1 Редакция вторая от 01.07.2012 г. Медицинские изделия — Символы, используемые на ярлыках
медицинских изделий при маркировке и в предоставляемой информации — Часть 1: Общие требования
Опознавательный номер FDA: 5-90

**ISO 7010:2011 Графические символы — Цвета и знаки безопасности — Зарегистрированные знаки
безопасности

15 Контактная информация



Biocartis NV

Generaal de Wittelaan 11B

2800 Mechelen, Belgium (Бельгия)

Телефон: +32 15 632 888

Продукты	Сведения
Отдел по работе с клиентами и Техническая поддержка клиентов	+32 15 632 888 Факс: +32 15 632 692 customerservice@biocartis.com
Документация	Всю доступную документацию пользователя можно получить через веб-сайт компании Biocartis или по бесплатным номерам телефонов, указанным в паспорте безопасности Idylla. www.biocartis.com (раздел «Order & Support» (Заказ и поддержка)) Зарегистрируйтесь в качестве клиента, чтобы получить доступ к безопасной зоне веб-сайта Biocartis, и войдите. В безопасной зоне веб-сайта вы найдете всю документацию и помощь (ТТР, прочая информация). www.biocartis.com/ifu Архив всех инструкций по применению (IFU) Idylla и руководств пользователя. Используйте ключевой код на маркировке продукта.

Страна	Уполномоченный представитель
Малайзия	Andaman Medical Bridge Sdn. Bhd. Gurney Paragon Office Tower, Level 16, Jalan Kelawai, 10250 Penang, Malaysia (Малайзия) Тел.: +60.4.222.8849 / +60.13.595.0027 Эл. почта: info@andamanmed.com Веб-сайт: http://www.andamanmed.com
Сингапур	Andaman Medical Pte Ltd Tampines Junction, Level 09-02, 300 Tampines Avenue 5 Singapore 529653 (Сингапур) Тел.: +65.6679.5860 / +65.8110.5808 Эл. почта: info@andamanmed.com Веб-сайт: http://www.andamanmed.com
Россия	ООО «БиоЛайн» Юридический адрес: 197022, Россия, г.Санкт-Петербург, вн.тер.г. Муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д.23, литера Е, помещение 3Н/5Н, комната 208 Почтовый адрес: 197022, Россия, г.Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.23, лит. Е Эл. почта: main@bioline.ru «Горячая линия» службы технической поддержки: 8-800-333-00-49 Тел.: (812) 320-49-49 Факс: (812) 320-49-40

Версия	Релиз	Перечень редакций
1	12/2016	Первая версия

Информация об авторском праве

© Biocartis NV, 2016. All rights reserved. Никакая часть данной публикации не может быть воспроизведена, передана, перезаписана или переведена на любой язык, включая компьютерные языки, ни в какой форме и никакими способами без предварительно выраженного в письменной форме разрешения компании Biocartis N.V.. Продукт разрешено использовать исключительно в соответствии с Условиями и положениями компании Biocartis (предоставленными при приобретении Продукта), включая условия прав, передаваемых по лицензии (что разрешено и что запрещено делать), гарантию и использование программного обеспечения. Внимательно прочитайте условия и положения компании Biocartis, прежде чем приступать к использованию продукта.



Biocartis N.V.

Generaal De Wittelaan 11 B3, 2800 Mechelen, Belgium

+32 15 632 888

www.biocartis.com

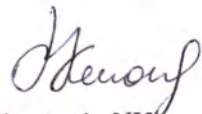
Компания Biocartis оставляет за собой право на изменение своей продукции и услуг в любое время. Хотя документация была подготовлена с целью обеспечения правильности, компания Biocartis не несет ответственность за ошибки, неточности или упущения, с которыми пользователь может столкнуться в настоящей Инструкции по применению, за применение Idylla NRAS-BRAF Mutation Test без прочтения настоящей Инструкции по применению или за использование Системы Idylla без прочтения относящейся к Системе документации.

Товарный знак и логотип Biocartis — это товарные знаки, принадлежащие компании Biocartis, используемые и зарегистрированные в Европе.

Idylla — это товарный знак, зарегистрированный в Соединенных Штатах Америки и в других странах.

Товарный знак и логотип Idylla — используемые товарные знаки, принадлежащие компании Biocartis.

Numbered, sewed, and sealed 37 sheets in all



Biocartis NV

Marina Belonogova

Regulatory Compliance Director

Biocartis NV

Generaal De Wittelaan 11B

2800 MECHELEN

Belgium

+32 (0) 15 632 6000



Мехелен, 30 июля 2021 г.

в РОСЗДРАВНАДЗОР
от Биокартис НВ, Бельгия

Мы направляем вам следующие документы для регистрации медицинского изделия в Российской Федерации:

Инструкция по применению медицинского изделия «Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test для определения соматических мутаций в онкогенах NRAS и BRAF для лабораторных исследований in vitro методом ПЦР в реальном времени на Анализаторе Idylla».

<ПОДПИСЬ> 30.07.2021

С уважением,
Марина Белоногова
Директор по регуляторным вопросам
Биокартис НВ

Штамп:
Биокартис НВ
Генерал Де Виттelaан 11В
2800 Мехелен
Бельгия
+32 (0)15 632 600

Штамп:
Подтверждаю подлинность подписи
г-жи Марины Белоноговой
Антверпен, 06.08.2021 г.

<ПОДПИСЬ>

Гербовая печать:
Ассоциированный нотариус
Фредерик Вламминк
АНТВЕРПЕН

Инструкция по применению «Тест Idylla NRAS-BRAF Mutation Test для определения соматических мутаций в онкогенах NRAS и BRAF для лабораторных исследований in vitro методом ПЦР в реальном времени на Анализаторе Idylla» на русском языке

Итого пронумеровано, прошито и скреплено печатью 37 листов

Биокартис НВ

<подпись>

Марина Белоногова

Директор по регуляторным вопросам

Штамп:
Биокартис НВ
Генерал Де Виттеллан 11В
2800 Мехелен
Бельгия
+32 (0)15 632 600

-----Конец перевода документа-----

Я, переводчик Гарбовская Татьяна Эдуардовна, владеющая русским, английским и нидерландским языками, подтверждаю, что выполненный мною перевод приложенного документа является правильным, точным и полным.

Гарбовская Татьяна Эдуардовна

Российская Федерация, Санкт-Петербург,
первого декабря две тысячи двадцать первого года.

Я, **Остапенко Елена Константиновна**, нотариус нотариального округа
Санкт-Петербург, свидетельствую подлинность подписи переводчика
Гарбовской Татьяны Эдуардовны.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 78/189-н/78-2021-19-799

Уплачено за совершение нотариального действия: 500 руб. 00 коп.

Е.К. Остапенко



Бюро переводов «Аврора»
197342, г. Санкт-Петербург,
м. Черная речка,
ул. Торжковская, д. 5,
БЦ «Оптима», офис 417
тел: (812) 441-39-10
www.aurora-piter.com
aurora-piter@mail.ru

AURORA Translation Services
197342, Saint Petersburg,
Chernaya Rechka subway st.
5 Torzhkovskaya Str.
OPTIMA Business Center, office 417
phone: (812) 441-39-10
www.aurora-piter.com
aurora-piter@mail.ru

ОГРН: 1089847219043
ИНН/КПП: 7841388560/781401001
ОКПО 09801859 ОКОНХ 96120
р/с 40702810507380000118
ФИЛИАЛ ПЕТРОВСКИЙ
ПАО БАНКА "ФК ОТКРЫТИЕ"
к/с 30101810540300000795
БИК 044030795

PSRN: 1089847219043
ITN/CRR: 7841388560/781401001
RNNBO 09801859 ARCEA 96120
s/a 40702810507380000118
PETROVSKY BRANCH
OF FC OTKRYTIE BANK, PJSC
cor/a 30101810540300000795
BIC 044030795

Итого в настоящем документе

40 (сорок) листов
Нотариус:

Е.К. Остапенко

