

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 KRAS Mutation Test for the determination of somatic mutations in the KRAS oncogene for in vitro laboratory studies by real-time PCR on the Idylla Analyzer"** (Тест Idylla KRAS Mutation Test для определения соматических мутаций в онкогене KRAS для лабораторных исследований in vitro методом ПЦР в реальном времени на Анализаторе Idylla).

Issued date: 16 FEB 2023

Name and Position: Aiziheer Ainiwaer, Regulatory affairs manager

Signature:



Seen for legalization of
the signature of

Aiziheer Ainiwaer

Antwerpen, 03/03/2023



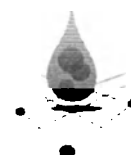
Инструкция по применению

Тест Idylla KRAS Mutation Test для определения соматических мутаций в онкогене KRAS для лабораторных исследований *in vitro* методом ПЦР в реальном времени на Анализаторе Idylla

Idylla KRAS Mutation Test



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



BIOCARTIS



ВСТ007559



A0020



Для диагностики *in vitro*

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	10
6 Предупреждения и меры предосторожности	11
7 Хранение Картриджей и обращение с ними	12
8 Тип препарата, его хранение и приготовление	13
8.1 Требования к препаратам	13
8.2 Хранение	14
8.3 Приготовление образца	14
8.3.1 Срезы FFPE	14
8.3.2 Зафиксированные на предметном стекле срезы ткани FFPE	14
9 Проведение теста	16
9.1 Методика теста	16
9.2 Контроль качества	17
10 Интерпретация результатов	19
10.1 Действительный результат	19
10.1.1 Обнаружена мутация в гене KRAS	20
10.1.2 Мутация в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146 гена KRAS не обнаружена	20
10.2 Недействительный результат	21
11 Ограничения	22
12 Характеристики	23
12.1 Аналитическая чувствительность	23
12.2 Аналитическая специфичность	24
12.3 Воспроизводимость	26

12.3.1 Воспроизводимость между лабораториями.....	26
12.3.2 Воспроизводимость между партиями.....	26
12.4 Точность: характеристики KRAS по сравнению с эталонным тестом.....	27
12.5 Интерферирующие вещества.....	31
12.6 Коммутативность.....	33
13 Ссылки.....	34
14 Часто используемые символы.....	35
15 Контактная информация.....	37

1 Название

Тест Idylla KRAS Mutation Test для определения соматических мутаций в онкогене KRAS для лабораторных исследований *in vitro* методом ПЦР в реальном времени на Анализаторе Idylla

Краткое название:

Idylla KRAS Mutation Test , KRAS

2 Назначение / Показания для применения

2.1 Назначение

Для диагностики *in vitro*.

Для использования в Системе Biocartis Idylla.

Тест Idylla KRAS Mutation Test, выполняемый в Системе Biocartis Idylla, является диагностическим тестом *in vitro* на качественное определение мутаций в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146 онкогена KRAS. Выполнение теста Idylla KRAS Mutation Test от момента выбора образца до получения результата начинается с выделения ДНК из фиксированного в формалине и залитого парафином (FFPE) среза ткани колоректального рака (КРР) человека для последующей ПЦР-амплификации с детекцией в режиме реального времени.

2.2 Показания для применения

Тест Idylla KRAS Mutation Test показан для определения статуса мутации гена KRAS в опухоли пациентов с метастатическим колоректальным раком на момент постановки диагноза, и для облегчения принятия многопрофильной группой специалистов решения о лечении. Тест Idylla KRAS Mutation Test не предназначен для диагностики колоректального рака.

2.3 Целевой пользователь

Тест Idylla KRAS 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 (2).

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 (2,3,4) 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 %.

Согласно рекомендациям NCCN (4), ESMO (5), ASCO (6) и рекомендациям CAP/AMP/ASCO (7), 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 (8).

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 KRAS Idylla (KRAS 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 KRAS Mutation Test выявляет мутации в экзонах 2, 3 и 4 онкогена *KRAS*. Тест включает пять мультиплексных аллель-специфичных ПЦР, предусматривающих амплификацию специфических последовательностей гена *KRAS* с мутациями в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146. Одновременно амплифицируется сохраненный фрагмент в зоне на стыке интрона 4 и экзона 5 гена *KRAS*. Такая реакция ПЦР является контролем обработки образца (SPC), гарантирующим надлежащее выполнение всего процесса — от подготовки образца до получения результата — и присутствует в каждом из 5 мультиплексов. Кроме того, данная контрольная реакция позволяет измерить количество амплифицируемой ДНК в образце и используется для анализа статуса мутации образца.

Тест Idylla BRAF Mutation Test готов к применению и содержит необходимые реагенты для приготовления образца и проведения амплификации ПЦР 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. Высвобождаются нуклеиновые кислоты для последующей ПЦР-амплификации.

- **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 21 мутации в кодонах 12 и 13 экзона 2, кодонах 59 и 61 экзона 3, и кодонах 117 и 146 экзона 4 онкогена *KRAS*.

Детекция этих конкретных мишеней осуществляется с помощью меченных флуоресцентным красителем зондов. В процессе специфической амплификации и детекции генерируются флуоресцентные сигналы, которые затем анализируются специальным программным обеспечением KRAS TTP. Флуоресцентные сигналы транслируются в генетический сигнал. В конце цикла на экране

Консоли появляется результат, сообщающий о наличии или отсутствии конкретной мутации в гене *KRAS* анализируемого образца. Мутации, которые могут быть обнаружены с помощью теста *Idylla KRAS Mutation Test*, приводятся в таблице ниже.

Мутации, которые могут быть обнаружены с помощью теста *Idylla KRAS Mutation Test*, приводятся в таблице ниже.

Таблица 1. Номенклатура мутаций гена *KRAS*, выявляемых с помощью теста *Idylla KRAS Mutation Test*.

Ген	Экзон	Кодон	Мутация	Изменение аминокислоты	Изменение кодировочной ДНК	Генетический сигнал Idylla KRAS
KRAS	2	12	G12A	p.Gly12Ala	c.35G>C	G12A
			G12C	p. Gly12Cys	c.34G>T	G12C
			G12D	p.Gly12Asp	c.35G>A	G12D
			G12R	p.Gly12Arg	c.34G>C	G12R
			G12S	p.Gly12Ser	c.34G>A	G12S
			G12V	p. Gly12Val	c.35G>T	G12V
	3	13	G13D	p.Gly13Asp	c.38G>A	G13D
		59	A59E	p.Ala59Glu	c.176C>A	A59T/E/G
			A59G	p.Ala59Gly	c.176C>G	
			A59T	p.Ala59Thr	c.175G>A	
		61	Q61H	p.Gln61His	c.183A>C	Q61H
			Q61H	p.Gln61His	c.183A>T	
			Q61K	p.Gln61Lys	c.181C>A	Q61K
			Q61K	p.Gln61Lys	c.180_181delinsAA	
			Q61L	p.Gln61Leu	c.182A>T	Q61L/R
			Q61R	p.Gln61Arg	c.182A>G	
	4	117	K117N	p.Lys117Asn	c.351A>C	K117N
			K117N	p.Lys117Asn	c.351A>T	
		146	A146P	p.Ala146Pro	c.436G>C	A146P/T/V
			A146T	p.Ala146Thr	c.436G>A	
			A146V	p.Ala146Val	c.437C>T	

4.2 Принципы специфического для теста программного обеспечения

Специфическое для KRAS 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). 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

При приобретении теста Idylla KRAS Mutation Test поставляются следующие материалы (каталожный номер: A0020/6):

- Картриджи для Idylla KRAS Mutation Test (коробка с шестью Картриджами, каталожный номер: A0020/6). Картриджи упакованы в индивидуальные герметичные пакеты. Каждый Картридж содержит необходимые реагенты для проведения одного Idylla KRAS 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 2. Спецификации поставляемых материалов для Idylla KRAS Mutation Test.

Артикул	Спецификация
Средняя масса запечатанного Картриджа	117,3±5,0 г
Размеры Картриджа	96,2 мм × 72,3 мм × 42,2 мм (высота × ширина × глубина) ±05%
Размеры транспортировочного контейнера (6 Картриджей)	285 мм × 120 мм × 95 мм (высота × ширина × глубина) ±5%
Масса транспортировочного контейнера (6 Картриджей)	0,8 кг ± 10%
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 Idylla KRAS Mutation Test требуются следующие материалы.

Таблица 3. Материалы, требуемые для выполнения Idylla KRAS Mutation Test.

Артикул	Спецификация
Анализатор Idylla*	Каталожный номер P0010
Консоль Idylla*	Каталожный номер P1010
KRAS Пакет типа теста (ТТР)	Доступно на защищенном веб-сайте компании https://secure.biocartis.com/#/  СОВЕТ Вам будет нужно создать учетную запись пользователя, См. главу 15 : Контактная информация на странице 37.
KRAS Инструкция по применению	Доступно на веб-сайте www.biocartis.com/ifu с ключевым кодом ВСТ007559 (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 или аналогичные зарегистрированные на территории РФ
Вода без нуклеаз	Например, Sigma-Aldrich, каталожный номер реагентов для молекулярной биологии: W4502
Пинцеты с тупым кончиком	(Желательно без насечек) зарегистрированный на территории РФ
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 или аналогичные зарегистрированные на территории РФ

* 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 Idylla См. главу 15 : Контактная информация на странице 37. Инструкции по установке ТТР приведены в Руководстве пользователя.

6 Предупреждения и меры предосторожности

К Idylla KRAS Mutation Test применимы следующие предупреждения и меры предосторожности.

- Для диагностики *in vitro*.
- Перед выполнением теста внимательно прочитайте инструкции.
- С пролитым материалом следует обращаться в соответствии с инструкциями, приведенными в Руководстве пользователя Анализатора Idylla для проведения ПЦР с регистрацией результатов в реальном времени для диагностики *in vitro*.
- Не используйте обработанные Картриджи повторно. Картриджи предназначены только для одноразового использования.
- Воздействие на нераспакованный Картридж высокой влажности и высокой температуры может отрицательно повлиять на результаты анализа.
- Не используйте окрашенные образцы.
- 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 (9, 10, 11).
- 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.
- Все результаты должны интерпретироваться обученным персоналом в сочетании с оценкой клинических признаков, симптомов и анамнеза пациента.
- Утилизируйте использованные Картриджи в соответствии с процедурами вашей лаборатории.
- Для получения дополнительной информации об Анализаторе Idylla обращайтесь к Руководству пользователя «Анализатора Idylla для проведения ПЦР с регистрацией результатов в реальном времени для диагностики *in vitro*, в составе, с принадлежностями» и (или) Паспорту безопасности.

7 Хранение, транспортировка 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, для достижения надлежащей рабочей температуры его требуется хранить приблизительно один час при комнатной температуре.
- 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 4 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 трясали. При использовании Картриджа, который роняли или трясали, можно получить недействительные результаты.
- Работать с Картриджами и образцами следует на чистой и обеззараженной поверхности.
- Не открывайте крышку Картриджа, пока не будете готовы к выполнению теста.
- 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 (9, 10, 11).
- Утилизируйте неиспользованные и просроченные Картриджи как опасные отходы.
- Не используйте обработанные Картриджи повторно. Картриджи предназначены только для однократного использования.
- Не подвергайте нераспакованные Картриджи воздействию температуры выше 30 °C и относительной влажности выше 80 %.
- При обращении с биологическими образцами соблюдайте правила техники безопасности своего учреждения и используйте соответствующие средства индивидуальной защиты.
- Не превышайте допустимое количество препарата: 600 мм² для срезов ткани 5 мкм и 300 мм² для срезов ткани 10 мкм.

Заявленный срок годности при хранении, основанный на данных о стабильности в реальном времени

Срок годности при хранении определен на основании данных, полученных в ходе испытаний стабильности готового продукта (ГП).

В программу испытаний стабильности в реальном времени были включены три серии, чтобы убедиться в их однородности при установлении срока годности. Производство и упаковка этих серий осуществлялись в обычном

7 Хранение Картриджей и обращение с ними

порядке, и они ничем не отличались от рутинной продукции по форме, компоновке и функциональному назначению.

Заявленный срок годности теста Idylla KRAS 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:

- 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 80 %.

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.

Стабильность при транспортировке

При транспортировке картриджи подвергаются характерным для этого процесса нагрузкам: перепадам температуры, влажности и давления, а также ударам и вибрации.

Первичная упаковка (пакет), групповая упаковка (картонная коробка) и транспортная упаковка (см. **Ошибка! Источник ссылки не найден.**) должны обеспечивать защиту от указанных нагрузок:

- пакет защищает картриджи от перепадов влажности;
- групповая упаковка и транспортная упаковка обеспечивают защиту от ударов и вибрации.

Пакет и групповая упаковка защищают также от перепадов давления.

Эта стандартная система упаковки не защищает продукт от колебаний температуры. Для оценки влияния этого стрессового фактора на образцах одной серии были проведены испытания с имитацией температурных условий в процессе транспортировки. Для этого перед началом испытаний в реальном времени образцы подвергли циклическому изменению температуры.

Стабильность в процессе использования

Стабильность картриджей без упаковки

Для верификации стабильности картриджей без упаковки (без пакета и без испытуемого образца) проводили анализы с картриджами одной серии в начале срока годности. В конце срока годности анализы с картриджами этой серии будут проведены повторно.

Картриджи были извлечены из пакетов и помещены в термостат с температурой 25 °C и относительной влажностью 65%.

В каждой временной точке оценивали по шесть картриджей. Были установлены следующие временные точки для оценки: T0, 1, 2, 3, 4 и 5 дней после извлечения из пакета.

После извлечения из пакета картриджи Idylla KRAS Mutation Test стабильны в течение 4 дней при хранении при комнатной температуре (18–25 °C) и влажности не выше 65 % (стабильность в процессе использования).

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

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.

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.

Вывод из эксплуатации и утилизация:

Система и/или ее части, в частности Картриджи KRAS, 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 (11).

Внимание!

Для получения правильных результатов обращайтесь со срезами ткани FFPE с осторожностью. 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 препаратов для теста Idylla KRAS MutationTest 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 препарата:

Рисунок 1. Критерии, рекомендуемые для выбора образца для теста Idylla KRAS Mutation Test.



- Если препарат содержит 10 % или более опухолевых клеток, макродиссекцию выполнять не следует.
- Если препарат содержит менее 10 % 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 5 мкм или
 - 25 мм² для срезов ткани 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 5 мкм и
 - 300 мм² для срезов ткани 10 мкм.

**ВНИМАНИЕ!**

Для выполнения макродиссекции используйте индивидуальный скальпель или другой подходящий инструмент для каждого образца во избежание перекрестной контаминации образцов.

Использование окрашенных образцов может привести к получению недействительных и (или) недостоверных результатов.

8.2 Хранение

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

8.3 Приготовление образца

8.3.1 Срезы FFPE

Чтобы приготовить образец из среза, выполните следующие инструкции:

Шаг	Действие
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	Продолжите процедуру в соответствии с главой 9 : Проведение теста на странице 16.

8.3.2 Зафиксированные на предметном стекле срезы ткани FFPE

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

Шаг	Действие
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 нескольких срезов ткани повторите шаги 2 и 3, используя то же бритвенное лезвие (пока не будут выполнены минимальные требования к количеству опухолевой ткани).
- 5 Пинцетом поместите второй увлажненный лист поверх материала FFPE.
- 6 Утилизируйте бритвенное лезвие.
- 7 Продолжите процедуру в соответствии с главой 9 : Проведение теста на странице 16.

9 Выполнение теста

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.

Шаг	ДЕЙСТВИЕ
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.
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 прокладке камеры лизиса, расположенной на дне отверстия Картриджа.  ВНИМАНИЕ! Постарайтесь поместить образец в середину прокладки камеры лизиса для правильного выполнения теста.  Не касайтесь прокладки камеры лизиса 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.

Шаг	Действие
	 Совет 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.  Информация Время обработки для Idylla KRAS Mutation Test составляет приблизительно 124–135 минут.
17	После завершения теста просмотрите результаты теста на Консоли. При желании можно распечатать отчет.
18	Утилизируйте использованный Картридж в соответствии с правилами вашей лаборатории.  Информация Доступны также рекомендации Института клинических и лабораторных стандартов по утилизации отходов (9).

9.2 Контроль качества

Каждый тест Idylla KRAS 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.

10 Интерпретация результатов

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

Idylla KRAS Mutation Test дает три типа возможных результатов:

- Мутация в кодоне 12, 13, 59, 61, 117 или 146 гена KRAS не обнаружена
- Обнаружена мутация в кодоне 12, 13, 59, 61, 117 или 146 гена KRAS
- 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 *KRAS*.

10.1 Действительный Картридж

В случае действительного теста результат отображается на Консоли следующим образом:

Рисунок 2. Пример результата «Мутация обнаружена» отображен на Консоли.

KRAS Генотип	ОБНАРУЖЕНА МУТАЦИЯ В КОДОНЕ 61 KRAS
гена KRAS	Q61K
Белок	p.Gln61Lys
Замена нуклеотида	c.181C>A ; c.180_181delinsAA

В случае гетерогенности образцов или множественных мутаций сообщается только выявленная доминирующая мутация.

10.1.1 Обнаружена мутация в гене KRAS

Таблица 4. Возможные KRAS результаты, полученные с помощью Idylla KRAS Mutation Test.

KRAS	Кодон	Мутация	Белок	ЗАМЕНА НУКЛЕОТИДА
12		G12A	p.Gly12Ala	c.35G>C
		G12C	p. Gly12Cys	c.34G>T
		G12D	p.Gly12Asp	c.35G>A
		G12R	p.Gly12Arg	c.34G>C
		G12S	p.Gly12Ser	c.34G>A
		G12V	p. Gly12Val	c.35G>T
13		G13D	p.Gly13Asp	c.38G>A
59		A59T/E/G	p.Ala59Thr/Glu/Gly	c.175G>A/c.176C>A/c.176C>G
61		Q61H	p.Gln61His	c.183A>C;c.183A>T
		Q61K	p.Gln61Lys	c.181C>A;c.180_181delinsAA
		Q61L	p.Gln61Leu	c.182A>T
		Q61R	p.Gln61Arg	c.182A>G
117		K117N	p.Lys117Asn	c.351A>C;c.351A>T
146		A146P/T/V	p.Ala146Pro/Thr/Val	c.436G>C/c.436G>A/c.437C>T

10.1.2 Мутация в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146 гена KRAS не обнаружена

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

ГЕНОТИП KRAS	Мутация в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146 гена KRAS НЕ ОБНАРУЖЕНА
--------------	---

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

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

10.2 Недействительный результат

По перечисленным ниже причинам будет получен недействительный результат.

Препарат:

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

Картридж:

- неправильное хранение Картриджей;
- использование Картриджей, срок использования которых после извлечения из пакета истек;
- неисправность Картриджа.

Рисунок 4. Пример недействительного результата отображен на Консоли.

ГЕНОТИП KRAS

ТЕСТ НЕДЕЙСТВИТЕЛЕН

Примечание

Повторите тест с новым Картриджем.

11 Ограничения

К Idylla KRAS 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.
- Idylla KRAS Mutation Test оптимизирован для применения только с системой Idylla.
- Idylla KRAS Mutation Test предполагает использование срезов ткани FFPE колоректальных опухолей.
- Idylla KRAS Mutation Test следует использовать в соответствии с инструкцией по применению. Любые отклонения от инструкций должны быть проверены на предмет пригодности пользователем.
- Тест Idylla KRAS Mutation Test не должен использоваться ни для целей диагностики, ни для целей мониторинга колоректального рака.
- Тест Idylla KRAS Mutation Test является качественным тестом. Данный тест не предназначен для количественного определения частот аллеля.
- Рекомендуемая площадь опухоли для теста Idylla KRAS Mutation Test составляет $\geq 50 \text{ мм}^2$ для срезов ткани 5 мкм и $\geq 25 \text{ мм}^2$ для срезов ткани 10 мкм с минимальным процентным содержанием клеток опухоли 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. 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 недействительных и (или) недостоверных результатов.

12 Характеристики

Подтверждаются следующие рабочие характеристики:

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

12.1 Аналитическая чувствительность

Предел обнаружения (LOD) определяется как наименьшее количество копий мутаций в гене KRAS, которое с достоверностью 95 % может быть последовательно обнаружено в ≥ 95 % тестов. Этот LOD зависит от частоты аллеля, а также от анализируемого количества ткани. Значения LOD мутаций в гене KRAS, которые могут быть обнаружены с помощью теста Idylla KRAS Mutation Test, были установлены тестированием серии разведений отдельных мутаций гена KRAS с определенной частотой аллеля и известным количеством копий. Серии разведений были приготовлены из следующих материалов:

- разжиженные искусственные препараты FFPE мутантного гена KRAS с известным количеством копий гена KRAS;
- разжиженные искусственные препараты FFPE дикого типа гена KRAS с известным количеством копий гена KRAS;
- синтетические олигонуклеотиды целевой ДНК, включающие мутации гена KRAS.

Разжиженные искусственные препараты FFPE дикого типа гена KRAS и материалы мутантного гена KRAS получали из искусственных препаратов FFPE, соответствующих срезам 5 мкм площадью 58 мм². Для мутаций гена KRAS G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D, Q61H, Q61L, а также A146T использовали препараты с 5 % частотой аллеля (или 1 % для G12R), приготовленные посредством смешивания разжиженного материала FFPE мутантного гена KRAS и разжиженного материала FFPE дикого типа гена KRAS до нужной частоты аллеля. Затем эти препараты использовали для получения серий двукратных разведений.

С целью подготовки серий разведения для мутаций Q61K (вариант с.180_181delinsAA), K117N (вариант с.351A>T) и A59E в разжиженный материал FFPE дикого типа гена KRAS была введена синтетическая целевая ДНК до необходимой частоты аллеля.

Было приготовлено 12 серий двукратных разведений, после чего было проведено тестирование с Картриджами из различных партий теста Idylla KRAS Mutation Test. Проанализированные количества были эквивалентны срезам площадью от 58 мм² до 3,6 мм², то есть эквивалентны от 1,0 до 0,063 среза FFPE толщиной 5 мкм и общей площадью 58 мм². Количество копий мутаций KRAS в этих сериях разведений с 5 % частотой аллеля составило от 900 до 56 на реакцию ПЦР. Для определения LOD по логистической регрессии в этих сериях разведений использовались коэффициенты мутаций.

Полученные значения LOD подтверждали путем 27 повторений теста на соответствующем верхнем пределе 95 % доверительного интервала с использованием Картриджей из трех серий теста Idylla KRAS Mutation Test (по 9 повторений на тест).

Это привело к заявленному количеству копий мутантного гена KRAS с коэффициентом позитивности не менее 95 %, как показано в таблице 5.

Таблица 5. Подтвержденные значения LOD и соответствующие эквиваленты площади ткани.

Мутация гена KRAS	Мутантный материал гена KRAS	Частота аллеля	Контроль выявляет мутацию гена KRAS с коэффициентом подтвержденности > 95 %		
			Количество копии	Эквивалент площади ткани (мм ² для 5 мкм срезы ткани)	Коэффициент подтвержденности
G12A	Препарат FFPE	5 %	450	29,0	27/27
G12C	Препарат FFPE	5 %	56	3,6	27/27
G12D	Препарат FFPE	5 %	113	7,3	27/27
G12R	Препарат FFPE	1 %	90	5,8	27/27
G12S	Препарат FFPE	5 %	225	14,5	27/27
G12V	Препарат FFPE	5 %	225	14,5	27/27
G13D	Препарат FFPE	5 %	900	58,0	27/27
A59E	Синтетическая целевая	5 %	56	3,6	26/27
Q61H	Препарат FFPE	5 %	113	7,3	27/27
Q61K	Синтетическая целевая	5 %	225	14,5	27/27
Q61L	Препарат FFPE	5 %	113	7,3	27/27
K117N	Синтетическая целевая	5 %	56	3,6	27/27
A146T	Препарат FFPE	5 %	900	58,0	27/27

Выводы:

Для всех протестированных мутаций KRAS частота совпадений составила более 95%, т.е. 96,3% для A59E (частота совпадений 26/27) и 100% для всех остальных (частота совпадений 27/27) при 95 % доверительном интервале.

12.2 Аналитическая специфичность

Виртуальный анализ последовательности генома человека не выявил реактивности ни одного из олигонуклеотидных праймеров за пределами гена *KRAS*, которая могла бы привести к неспецифическому образованию и (или) выявлению ампликонов, таким образом исключив перекрестную реактивность праймеров в тесте Idylla KRAS Mutation Test с последовательностью гомологов в гене *NRAS* или в псевдогене *KRAS P1*.

Скрининг мутаций, выявленных путем виртуального анализа человеческого гена *KRAS*, показал три мутации за пределами кодонов-мишеней теста Idylla KRAS Mutation Test, которые могут привести к ложноположительным результатам теста Idylla KRAS Mutation Test, а именно p.G10_A11insG (с.30_31insGGA), p.C118S (с.353G>C) и p.G60D (с.179G>A). Однако они встречаются редко, вероятность ложноположительного результата небольшая, и ей можно пренебречь.

Известные варианты мутаций KRAS — мишени теста Idylla KRAS Mutation Test — были определены в этом виртуальном анализе для выявления и обеспечения правильных результатов теста Idylla KRAS Mutation Test. Единственные исключения, которые нельзя выявить, — это три редко встречающихся варианта G12D (с.35_36delinsAC), G12V (с.35_36delinsTC) и Q61R (с.182_183delinsGT).

Из известных мутаций в кодонах, исследуемых с помощью теста Idylla KRAS Mutation Test, но для которых праймеры изначально не были разработаны, мутация G12W (с.34_36delinsTGG) будет выявляться и определяться как G12C, а мутации G13N (с.37_38delinsAA) и G13E (с.38_39delinsAA или с.38_39delinsAG) будут определяться как G13D. Все остальные варианты будут отображаться как «Мутация не обнаружена».

Заключение

Данная аналитическая специфичность для выявления генотипа KRAS WT на 11 образцах, каждый из которых был протестирован в 16 раз, составляет 97,7% (171/175).

12.3 Воспроизводимость

12.3.1 Воспроизводимость между лабораториями

Для оценки воспроизводимости теста Idylla KRAS Mutation Test использовалась панель, состоящая из следующих четырех искусственных препаратов FFPE:

- препараты FFPE KRAS G12D с частотой аллеля 5 %*;
- препараты FFPE KRAS G12S с частотой аллеля 5 %*;
- препараты FFPE KRAS G12V с частотой аллеля 5 %*;
- препараты FFPE KRAS G13D с частотой аллеля 50 %*.

** Частоты аллелей, превышающие предел обнаружения и основанные на наличии в продаже стандартных образцов FFPE*

Для оценки воспроизводимости между лабораториями, в разные дни, разными операторами и с использованием разных анализаторов препараты испытывались 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 препарат. Дисперсионный анализ с использованием смешанной линейной модели показал, что эффекты разных источников вариации ничтожно малы или отсутствуют. Результаты качественного анализа на основании полученных сигналов от мутантного гена KRAS показаны в таблице 6.

Таблица 6. Результаты воспроизводимости между лабораториями.

ПРЕПАРАТ	СОВПАДЕНИЕ (ПРОЦЕНТ)	ДОВЕРИТЕЛЬНЫЙ ИНТЕРВАЛ 95 % (ПРОЦЕНТ)
5 % G12D	120/120 (100 %)	[96,9–100]
5 % G12S	120/120 (100 %)	[96,9–100]
5 % G12V	120/120 (100 %)	[96,9–100]
50 % G13D	120/120 (100 %)	[96,9–100]

12.3.2 Воспроизводимость между партиями

Было проведено исследование воспроизводимости между партиями теста Idylla KRAS Mutation Test. Панель препаратов протестировали с использованием трех партий. Тесты проводились двумя операторами на 25 Анализаторах в течение 3 дней; для каждого препарата было выполнено по 25 повторений теста каждой партии. Полученные результаты для трех партий приводятся в таблице 7.

Таблица 7. Результаты оценки воспроизводимости между партиями с использованием трех партий.

ПРЕПАРАТ	СОВПАДЕНИЕ (ПРОЦЕНТ)	ДОВЕРИТЕЛЬНЫЙ ИНТЕРВАЛ 95 % (ПРОЦЕНТ)
5 % G12A	75/75 (100 %)	[95,1–100]
5 % G12D	75/75 (100 %)	[95,1–100]
5 % G12S	75/75 (100 %)	[95,1–100]
5 % G12V	75/75 (100 %)	[95,1–100]
5 % G13D	75/75 (100 %)	[95,1–100]

Воспроизводимость определения генотипа для всех препаратов с мутациями гена KRAS и партий теста Idylla KRAS Mutation Test составила 100 % (375/375 правильных результатов теста).

Выводы

Исследования воспроизводимости между лабораториями и между сериями, проведенные с использованием панели образцов, представляющих пять мутаций KRAS, показали, что тест Idylla™ KRAS Mutation Test способен стабильно давать достоверные результаты независимо от площадки, оператора, серии картриджа и используемого анализатора. Воспроизводимость между сериями и между лабораториями составила 100% с достоверностью 95%.

12.4 Точность: характеристики KRAS по сравнению с эталонным тестом

В ходе ретроспективного исследования характеристики теста Idylla KRAS Mutation Test оценивались на образцах, полученных от пациентов с метастатическим колоректальным раком (КРР). Для сравнения в каждом исследовании проводили анализ того же набора образцов пациентов с помощью эталонного теста.

В первом исследовании с помощью теста Idylla KRAS Mutation Test и эталонного ПЦР-анализа проанализировали 252 образца на предмет мутаций в кодонах 12 и 13 гена KRAS. С помощью эталонного теста было получено 57 недействительных результатов, с помощью теста Idylla KRAS Mutation Test — 9 недействительных результатов, 8 из которых были также недействительны при эталонном методе. Всего оба теста дали достоверный результат анализа 194 образцов (см. таблицу 8).

Таблица 8. Сравнение теста Idylla KRAS Mutation Test и эталонного ПЦР-анализа KRAS.

ОБРАЗЦЫ KPP (N = 194)	ЭТАЛОННЫЙ ТЕСТ								
IDYLLA KRAS MUTATION TEST	G12A	G12C	G12D	G12R	G12S	G12V	G13D	МУТАЦИЯ НЕ ОБНАРУЖЕНА	Итого
G12A	6								6
G12C		6							6
G12D			25						25
G12R				3				1	4
G12S					6				6
G12V					1	15		1	17
G13D					1		16	3	20
Мутация не обнаружена	1							97	98
A59T/E/G								1	1
Q61H/H2								3	3
Q61K/K2									0
Q61L/R									0
K117N1/N2		1						2	3
A146T/V/P						1		4	5
Итого	7	7	25	3	8	16	16	112	194

Серым цветом показаны мутации в гене KRAS, определенные с помощью теста Idylla KRAS Mutation Test, но не определенные с помощью эталонного ПЦР-анализа. Если процент опухолевых клеток в образцах превышал 25 %, проводили макродиссекцию.

В 10 из 194 образцов тест Idylla KRAS Mutation Test определил мутацию в кодоне 59, 61, 117 или 146, тогда как эталонный метод, не предназначенный для определения мутации в этих кодонах, классифицировал их как «Мутация не обнаружена».

При использовании эталонного теста пять образцов были зарегистрированы как «Мутация не обнаружена», тогда как тест Idylla KRAS Mutation Test определил мутации в кодонах 12 и 13.

Тест Idylla KRAS Mutation Test показал отсутствие мутаций в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146 одного образца, в то время как эталонный тест был положительным на мутацию G12A. Для двух образцов тест Idylla KRAS Mutation Test определил мутацию в кодонах 117 и 146, а эталонный тест зарегистрировал мутацию в кодоне 12.

Анализ совпадений результатов тестов приведен в таблице 9. Так как эталонный метод не определил мутации в гене KRAS в кодонах 59, 61, 117 и 146, дискордантные результаты для этих кодонов (n = 12) были исключены. За исключением 6 дискордантных результатов в остальных образцах, 176 из 182 результатов теста Idylla KRAS Mutation Test были полностью конкордантными с результатами, полученными эталонным методом. То есть общий процент совпадений между двумя методами для определения мутаций в гене KRAS в кодонах 12 и 13 составил 96,7 % (95 % доверительный интервал от 93,0 % до 98,5 %).

Процент совпадений отрицательных результатов в данном исследовании точности составил 95,1 % (95 % доверительный интервал от 89,0 % до 97,9 %), а процент совпадений положительных результатов — 98,8 % (95 % доверительный интервал от 93,3 % до 99,8 %).

Таблица 9. Характеристики теста Idylla KRAS Mutation Test в сравнении с эталонным ПЦР-анализом.

ОБРАЗЦЫ КРР (n = 182)	KRAS	ЭТАЛОННЫЙ ТЕСТ		
		Мутация гена KRAS	Мутация не обнаружена	Итого
Idylla KRAS Mutation Test	Обнаружена мутация	79	5*	84
	Мутация не обнаружена	1	97	98
	Итого	80	102	182

*1 положительный образец по результатам анализа дискордантности методом NGS.

Из-за ограниченного количества материала (n = 2) или недостаточного качества ДНК (n = 3) удалось разъяснить только 1 из 6 дискордантных результатов. В образце, который по эталонному ПЦР-анализу был зарегистрирован как «Мутация не обнаружена» и в котором тест Idylla KRAS Mutation Test показал мутацию G12V, наличие этой мутации было подтверждено целевым секвенированием следующего поколения (NGS). Следовательно, с помощью теста Idylla KRAS Mutation Test было получено 177 правильных результатов. После разъяснения этого дискордантного результата общий процент совпадений увеличился до 97,3 % (95 % доверительный интервал от 93,7 % до 98,8 %). Процент совпадений отрицательных результатов увеличился до 96,0 % (95 % доверительный интервал от 90,3 % до 98,4 %), а процент совпадений положительных результатов остался на уровне 98,8 % (95 % доверительный интервал от 93,3 % до 99,8 %).

Во втором исследовании анализировали 204 образца пациентов с помощью теста Idylla KRAS Mutation Test и эталонного метода целевого NGS, который позволяет выявить относительные доли до 1 % мутантного аллеля по сравнению с аллелем дикого типа. С помощью эталонного метода был получен один недействительный результат, а с помощью теста Idylla KRAS Mutation Test — 5 недействительных результатов, один из которых был также недействителен по эталонному методу. Всего оба метода дали достоверный анализ в 199 образцах (см. таблицу 10).

Таблица 10. Сравнение теста Idylla KRAS Mutation Test и эталонного метода NGS.

ОБРАЗЦЫ КРР (n = 199)	KRAS	Эталонный метод NGS												Итого
		G12A	G12C	G12D	G12R	G12S	G12V	G13D	Q61H/H2	A146T/V/P	Мутация НЕ ОБНАРУЖЕНА	G13R	A59V	
Idylla KRAS Mutation Test	G12A	4												4
	G12C		4								1			5
	G12D			14			1				1			16
	G12R				2									2
	G12S					4								4
	G12V						27							27
	G13D							12			1			13
	A59T/E/G													0
	Q61H/H2								5					5
	Q61K/K2													0
	Q61L/R													0
	K117N1/N2													0
	A146T/V/P									8	1			9
	Мутация не обнаружена	1		2		1	3				105	1	1	114
	Итого	5	4	16	2	5	31	12	5	8	109	1	1	199

Серым цветом показаны мутации в гене KRAS, определенные с помощью секвенирования, но не определяемые с помощью Idylla KRAS Mutation Test. Если процент опухолевых клеток в образцах был ниже 10 %, проводили макродиссекцию.

В двух образцах из 199 эталонный метод показал мутации в кодонах 13 и 59 соответственно, а результат теста Idylla KRAS Mutation Test был «Мутация не обнаружена», поскольку он не разработан для выявления этих мутаций.

При использовании эталонного теста четыре образца были зарегистрированы как «Мутация не обнаружена», тогда как тест Idylla KRAS Mutation Test определил мутации в кодонах 12, 13 и 146.

При использовании теста Idylla KRAS Mutation Test 7 образцов были зарегистрированы как «Мутация не обнаружена», в то время как эталонный метод показал наличие мутаций G12A, G12D (n = 2), G12S или G12V (n = 3).

Анализ совпадений результатов тестов приведен в таблице 11. Поскольку тест Idylla KRAS Mutation Test не позволяет определить мутации G13R и A59V гена KRAS, дискордантные результаты анализа соответствующих образцов (n = 2) были исключены. За исключением 11 дискордантных результатов в остальных образцах, 186 из 197 результатов теста Idylla KRAS Mutation Test были полностью

конкордантными с результатами, полученными эталонным методом. То есть общий процент совпадений между двумя методами для определения мутаций в гене KRAS в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146 составил 94,4 % (95 % доверительный интервал от 90,3 % до 96,9 %).

Процент совпадений отрицательных результатов в данном исследовании точности составил 96,3 % (95 % доверительный интервал от 90,9 % до 98,6 %), а процент совпадений положительных результатов — 92,0 % (95 % доверительный интервал от 84,5 % до 96,1 %).

Таблица 11. Характеристики Теста Idylla KRAS Mutation Test в сравнении с эталонным методом NGS.

ОБРАЗЦЫ КРР (n = 197)	Эталонный метод NGS			
	KRAS	Мутация гена KRAS	Мутация не обнаружена	Итого
Idylla KRAS Mutation Test	Обнаружена мутация	81	4*	85
	Мутация не обнаружена	7**	105	112
	Итого	88	109	197

*3 положительных образца по результатам анализа дискордантности ddPCR.

**5 положительных образцов по результатам анализа дискордантности ddPCR.

Образцы с дискордантными результатами (Таблица 11) были затем проанализированы по методу капельной цифровой PCR (ddPCR). Метод ddPCR позволил подтвердить мутации в трех и четырех образцах, в которых тест Idylla KRAS Mutation Test выявил мутации, а метод NGS показал генотип KRAS дикого типа. Метод ddPCR позволил подтвердить мутации в 5 из 7 образцов, в которых метод NGS выявил мутации, а тест Idylla KRAS Mutation Test дал отрицательный результат.

После разъяснения дискордантных результатов оказалось, что 191 результат теста Idylla KRAS Mutation Test бы верным, и общий процент совпадений повысился до 97,0 % (95 % доверительный интервал от 93,5 % до 98,6 %). Процент совпадений отрицательных результатов увеличился до 99,1 % (95 % доверительный интервал от 94,9 % до 99,8 %), а процент совпадений положительных результатов — до 94,4 % (95 % доверительный интервал от 87,5 % до 97,6 %).

Выводы

Все показатели согласия превышают 90% с доверительной вероятностью 95% на основе одностороннего интервала оценки Вильсона.

12.5 Интерферирующие вещества

В двух ретроспективных исследованиях путем анализа 252 и 204 срезов ткани FFPE, полученных от пациентов с метастатическим колоректальным раком (КРР), было изучено потенциальное влияние некротической ткани на характеристики теста Idylla KRAS Mutation Test. При анализе большинства препаратов, содержащих до 10 % некротической ткани (n = 403) или 11–25 % (n = 39) или 26–50 % (n = 14) от тестируемой площади ткани FFPE, был получен действительный результат (см. таблицу 12), то есть некротическая ткань не влияет на результаты теста Idylla KRAS Mutation Test.

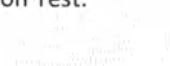


Таблица 12. Уровень действительных результатов теста *Idylla KRAS Mutation Test* для препаратов FFPE с различным уровнем некроза. Показаны результаты двух отдельных исследований.

Процент некротической ткани от тестируемой площади ткани образца FFPE	Результаты			Процент действительных результатов
	Протестированные образцы FFPE	Действительно	Тест недействителен	
0–10 %	218	211	7	96,8 %
11–25 %	27	26	1	96,3 %
26–50 %	7	6	1	85,7 %
ИТОГО	252	243	9	96,4 %

Процент некротической ткани от тестируемой площади ткани образца FFPE	Результаты			Процент действительных результатов
	Протестированные образцы FFPE	Действительно	Тест недействителен	
0–10 %	185	180	5	97,3 %
11–25 %	12	12	0	100 %
26–50 %	5	5	0	100 %
> 50 %	2	2	0	100 %
ИТОГО	204	199	5	97,5 %

Полученные в тех же исследованиях генотипы KRAS сравнивали со статусом по гену KRAS, определенным с помощью эталонных методов ПЦР для гена KRAS или целевого NGS. Конкордантный результат был получен при анализе 362 из 379 препаратов FFPE, включенных в данные исследования, (см. таблицу 12). Большинство дискордантных результатов были получены при анализе образцов с низким содержанием некротической ткани, то есть отсутствует корреляция между наличием некротической ткани и дискордантными результатами тестов. Дискордантные результаты показаны в таблицах 11 и 13.

Таблица 13. Уровень совпадения теста Idylla KRAS Mutation Test для препаратов FFPE с различными уровнями некроза. Показаны результаты двух отдельных исследований.

Процент некротических тканей от тестируемой площади ткани образца FFPE	Протестированные образцы FFPE	Результаты		Процент конкордантных результатов
		Конкордантные	Дискордантные	
0–10 %	165	160	5	97,0 %
11–25 %	12	12	0	100,0 %
26–50 %	5	4	1	80,0 %
ИТОГО	182	176	6	96,7 %

Процент некротических тканей от тестируемой площади ткани образца FFPE	Протестированные образцы FFPE	Результаты		Процент конкордантных результатов
		Конкордантные	Дискордантные	
0–10 %	178	168	10	94,4 %
11–25 %	12	12	0	100,0 %
26–50 %	5	4	1	80,0 %
> 50 %	2	2	0	100 %
ИТОГО	197	186	11	94,4 %

12.6 Коммутативность

Тест Idylla KRAS Mutation Test прослеживается до гена *KRAS*. Эталонный метод ПЦР и тест Idylla KRAS Mutation Test показали аллель дикого типа и мутации в кодонах 12 и 13. Целевое секвенирование следующего поколения и тест Idylla KRAS Mutation Test показали аллель дикого типа и мутации в кодонах 12, 13, 59, 61, 117 и 146. Как показали исследования воспроизводимости и сравнительные исследования клинических препаратов, неопределенность теста является очень низкой, поскольку результаты анализ 176 из 182 препаратов и 186 из 197 препаратов были полностью конкордантными.

13 Ссылки

НОМЕР ССЫЛКИ	СВЕДЕНИЯ
1	Lovly <i>et al.</i> My Cancer Genome, RAS and BRAF genes, 2015.
2	Beadling <i>et al.</i> Multiplex Mutation Screening by Mass Spectrometry. J Mol Diag 2011: 13(5), 504–513.
3	Lovly <i>et al.</i> Routine Multiplex Mutational Profiling of Melanomas Enables Enrollment in Genotype-Driven Therapeutic Trials. (K. Smalley, Ed.) PLoS ONE 2012: 7(4), e35309.
4	Van Cutsem <i>et al.</i> ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer, Annals of Oncology 2016: 8, 1386-1422.
5	Clinical Practice Guidelines in Oncology, Colon Cancer. Version 1.2017. Доступно на сайте www.nccn.org
6	Allegra <i>et al.</i> Extended RAS Gene Mutation Testing in Metastatic Colorectal Carcinoma to Predict Response to Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody Therapy: American Society of Clinical Oncology Provisional Clinical Opinion Update 2015. J Clin Oncol 2016: 34, 179-185.
7	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
8	Douillard <i>et al.</i> Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. N Engl J Med 2013: 369(11),1023-1034.
9	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).
10	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).
11	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	СТАНДАРТ	ОПИСАНИЕ
	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/ЕЕС, 93/42/ЕЕС и 98/79/ЕС.
	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 <n> 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	Не использовать повторно Указывает медицинское изделие, предназначенное для одноразового применения или применения для 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 5.5.1	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 <i>in vitro</i>	Conformité Européenne (CE — знак соответствия требованиям Европейских Директив)
	Н/Д	Значок ключевого кода (ключевой код). Код, нанесенный рядом с этим значком, необходимо использовать, если нужно получить пользовательскую документацию.
(штрих-код)	Н/Д	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

Поддержка	Сведения
Отдел по работе с клиентами и Техническая поддержка клиентов	+32 15 632 888 Факс: +32 15 632 692 customerservice@biocartis.com
Документация	Всю документацию пользователя можно получить через веб-сайт компании Biocartis или по бесплатным номерам телефонов, указанным в Паспорте безопасности. 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

Продукт Версия	ИПП О публиковано	Перечень редакций
1	06/2015	Первая версия для CE-IVD
2	09/2015	Обновление Раздела «Характеристики»
3	06/2016	• Обновление Раздела «Требования к препарату» • Обновление Раздела «Характеристики» • Незначительные правки в тексте инструкции по применению.
4	02/2017	• Новый шаблон, соответствующий ИПП других продуктов. • Обновление разделов «Научная основа», «Поставляемые материалы», «Ссылки» и «Часто используемые символы». • Добавление разделов «Показания для применения» и перечня уполномоченных представителей. • Исправления опечаток

Информация об авторском праве

© Biocartis NV, 2015. 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 приступить к использованию продукта.



Biocartis N.V.

Generaal de Wittelaan 11B

2800 Mechelen, Belgium (Бельгия)

+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 анализа, за применение Idylla без прочтения настоящей инструкции 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.



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 KRAS Mutation Test для определения соматических мутаций в онкогене KRAS для лабораторных исследований in vitro методом ПЦР в реальном времени на Анализаторе Idylla».

Дата выдачи: **16 февраля 2023 г.**

Имя и должность: Айзихир Айниваэр, менеджер по нормативно-правовым вопросам

Подпись: **<ПОДПИСЬ>**

Штамп:
Подтверждаю подлинность подписи
Айзихира Айниваэра

Антверпен, 03.03.2023 г.

<ПОДПИСЬ>

Гербовая печать:
Ассоциированный нотариус
Йохан КИБОМС
АНТВЕРПЕН

[Инструкция по применению «Тест Idylla KRAS Mutation Test для определения соматических мутаций в онкогене KRAS для лабораторных исследований in vitro методом ПЦР в реальном времени на Анализаторе Idylla» на русском языке]

Я, переводчик Вихрова Любовь Сергеевна, владеющая русским, английским и нидерландским языками, подтверждаю, что выполненный мною перевод приложенного документа является правильным, точным и полным.

by Vihrova Lyubov Sergeevna

Российская Федерация, Санкт-Петербург,
пятого апреля две тысячи двадцать третьего года.
Я, **Остапенко Сергей Евгеньевич**, временно исполняющий
обязанности нотариуса нотариального округа Санкт-Петербург
Остапенко Елены Константиновны, свидетельствую подлинность
подписи переводчика **Вихровой Любви Сергеевны**.
Подпись сделана в моем присутствии.
Личность подписавшего документ установлена.
Зарегистрировано в реестре: № 78/189-н/78-2023- 3-1533
Уплачено за совершение нотариального действия: 600 руб. 00 коп.

С.Е. Остапенко



[Handwritten signature of S.E. Ostapenko]

Бюро переводов «Аврора»
197342, г. Санкт-Петербург,
м. Черная речка,
ул. Торжковская, д. 5,
БЦ «Оптима», офис 331
тел: (812) 441-39-10
www.aurora-piter.com
aurora-piter@mail.ru

AURORA Translation Services
197342, Saint Petersburg,
Chernaya Rechka subway station
5 Torzhkovskaya St.
OPTIMA Business Center, office 331
phone: (812) 441-39-10
www.aurora-piter.com
aurora-piter@mail.ru

ОГРН: 1089847219043
ИНН/КПП: 7841388560/781401001
ОКПО 09801859 ОКОНХ 96120
p/c 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
41 (сорок один) лист

Вр. и.о. нотариуса