



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN Nº 6606

BUENOS AIRES 15 JUN 2017

VISTO, el expediente nº 1-47-3110-5786/16-0 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma BIOARS S.A. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso "in Vitro" denominados 1) Idyllia CONSOLE, 2) Idyllia INSTRUMENT / Sistema concebido para la detección de objetivos de ácido nucleico en diversos tipos de muestras humanas, mediante el uso de Cartridges desechables Idyllia específicos para cada Test; 3) Idyllia BRAF Mutation Test / Test diagnóstico para la detección cualitativa de las mutaciones V600E/E2/D Y V600K/R/M en el codón 600 del gen BRAF utilizando un ensayo de PCR en tiempo real; y 4) Idyllia KRAS Mutation Test / Test diagnóstico para la detección cualitativa de las mutaciones en los codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146 del oncogén KRAS utilizando un ensayo de PCR en tiempo real.

Que a fs. 244 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que la Dirección Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN N° 6606

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que se actúa en virtud a las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92 y por el Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACION NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MÉDICA

DISPONE:

ARTICULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso “in Vitro” denominados 1) Idyllia CONSOLE, 2) Idyllia INSTRUMENT / Sistema concebido para la detección de objetivos de ácido nucleico en diversos tipos de muestras humanas, mediante el uso de Cartridges desechables Idyllia específicos para cada Test; 3) Idyllia BRAF Mutation Test / Test diagnóstico para la detección cualitativa de las mutaciones V600E/E2/D Y V600K/R/M en el codón 600 del gen BRAF utilizando un ensayo de PCR en tiempo real; y 4) Idyllia KRAS Mutation Test / Test diagnóstico para la detección cualitativa de las mutaciones en los codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146 del oncogén KRAS utilizando un ensayo de PCR en tiempo real que serán elaborados por Biocartis NV, Generaal De Wittelaan 11 B3 2800, Mechelem (BÉLGICA) e importados por BIOARS S.A. a expendirse en envases conteniendo 1) y 2) 1 unidad; y 3) y 4) Envases por 6 determinaciones, conteniendo: 6 cartuchos



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN Nº 6606

individuales ; cuya composición se detalla a fojas 31 a 36 con un período de vida útil de 1) y 2) No aplica. Condiciones de almacenamiento: Temperatura -40 a 70°C; 3) 18 (DIECIOCHO) meses desde la fecha de elaboración ,conservado entre 2 y 30°C; 4) 4 (CUATRO) meses desde la fecha de elaboración ,conservado entre 2 y 8°C.

ARTICULO 2º.- Acéptense los rótulos y manual de instrucciones obrantes a fojas 101, 104, 107 a 230 y 237 a 242, desglosándose las fojas 107 a 109, 114 a 127, 156 a 172, 207 a 214, 237 y 240 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTICULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA, se reserva el derecho de reexaminar los métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

ARTICULO 5º.- Regístrese; gírese a Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con la copia de los proyectos de rótulos , Manual de Instrucciones y el certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

Expediente nº: 1-47-3110-5786/16-0.

DISPOSICIÓN Nº: **6606**

av.


Dr. ROBERTO LINARES
Subadministrador Nacional
A. N. M. A. T.



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A. N. M. A. T

CERTIFICADO DE AUTORIZACION DE VENTA
DE PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº:1-47-3110-5786/16-0

Se autoriza a la firma BIOARS S.A. a importar y comercializar los Productos para Diagnóstico de uso “in vitro” denominados 1) Idyllia CONSOLE, 2) Idyllia INSTRUMENT / Sistema concebido para la detección de objetivos de ácido nucleico en diversos tipos de muestras humanas, mediante el uso de Cartridges desechables Idyllia específicos para cada Test; 3) Idyllia BRAF Mutation Test / Test diagnóstico para la detección cualitativa de las mutaciones V600E/E2/D Y V600K/R/M en el codón 600 del gen BRAF utilizando un ensayo de PCR en tiempo real; y 4) Idyllia KRAS Mutation Test / Test diagnóstico para la detección cualitativa de las mutaciones en los codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146 del oncogén KRAS utilizando un ensayo de PCR en tiempo real, en envases conteniendo 1) y 2) 1 unidad; y 3) y 4) Envases por 6 determinaciones, conteniendo: 6 cartuchos individuales. Se le asigna la categoría: Venta a laboratorios de Análisis clínicos por hallarse comprendido en las condiciones establecidas en la Ley 16.463, y Resolución M.S. y A.S. N° 145/98. Lugar de elaboración: Biocartis NV, Generaal De Wittelaan 11 B3 2800, Mechelem (BÉLGICA). Periodo de vida útil: 1) y 2) No aplica. Condiciones de almacenamiento: Temperatura -40 a 70°C; 3) 18 (DIECIOCHO) meses desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 30°C; 4) 4 (CUATRO) meses desde la

ORIGINAL



PROYECTO DE RÓTULOS

Idylla BRAF Mutation Test

Etiqueta de la caja

6 6 0 6

1 5 JUN 2017

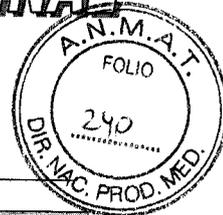
The label features the **idylla** logo (a stylized 'i' with a house-like shape) and **by BIO CARTIS**. To the right is the **BIOCARTIS** logo (a stylized 'B' with a leaf-like shape). Below the logos, the text reads: **BIOCARTIS NV**, **Generaal De Wittelaan 11 B3**, **2800 Mechelen - Belgium**, **www.biocartis.com/ifu**, and **BCT005528**. The main title is **Idylla™ BRAF Mutation Test**. Below this, there are fields for **REF** (A0010/6), **LOT** (12345678), and a date field (YYYY-MM-DD). There are also icons for a triangle with the number 6, a crossed-out circle, and a crossed-out square. A temperature range is indicated as **+2°C** to **+30°C**. At the bottom, there are two barcodes: the top one is labeled **(01)15415219111324** and the bottom one is labeled **(10)12345678(17)140210**. On the left side of the label, there is vertical text: **8122-507-4388-1A** and **8122-507-4364-2A**. In the center, there are boxes for **IVD** and **CE**.

Establecimiento Elaborador: Biocartis NV Generaal de Wittelaan 11 B3 B-2800 Mechelen, Bélgica
Establecimiento Importador BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. N° de Certificado:

Idylla System-Biocartis

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHÉVÉS
DIRECTOR TÉCNICO

ORIGINAL



PROYECTO DE RÓTULOS

Sistema Idylla

Idylla CONSOLE

Idylla™ CONSOLE

REF P1010

SN 12345678

12V; 80W max.

yyyy-mm-dd
Made in the United Kingdom

BIOCARTIS NV
Gen. De Wittelaan 11 B3
2800 Mechelen - Belgium
www.biocartis.com

IVD CE SF[®] US

6606

8122-507-4536-1A

(01)05415219000126(21)12345678(11)140716

Idylla INSTRUMENT

Idylla™ INSTRUMENT

REF P0010

SN 12345678

100-240V; 50/60 Hz; 200W max.

(01)05415219000119

(21)12345678(11)140716

www.biocartis.com

BIOCARTIS NV
Gen. De Wittelaan 11 B3
2800 Mechelen - Belgium
yyyy-mm-dd
Made in the United Kingdom

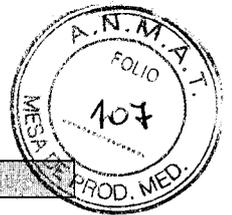
IVD CE SF[®] US

8122-507-4536-1A

Establecimiento Elaborador: Biocartis NV Generaal de Wittelaan 11 B3 B-2800 Mechelen, Bélgica
Establecimiento Importador BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. N° de Certificado:

Idylla System-Biocartis

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO



Idylla KRAS Mutation Test

Etiqueta de la caja

660

idylla by **BIOCARTIS**

BIOCARTIS

BIOCARTIS NV
 Generaal De Wittelaan 11 B3
 2800 Mechelen - Belgium

www.biocartis.com/ifu
 BCT005167

Idylla™ KRAS Mutation Test

REF A0020/6 LOT 12345678 YYYY-MM-DD

Σ₆ ⓧ ⓧ +30°C
 +2°C

IVD **CE**

(01)15415219000260

(10)12345678(17)140210

8122-506-4386-1A
 4304-050-0514-1A

Establecimiento Elaborador: Biocartis NV Generaal de Wittelaan 11 B3 B-2800 Mechelen, Bélgica
 Establecimiento Importador BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
 Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
 Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. N° de Certificado:

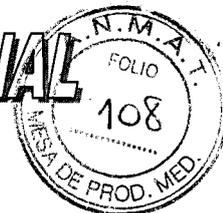
Handwritten initials

Idylla System-Biocartis

Handwritten signature

DIRECTOR TÉCNICO

ORIGINAL

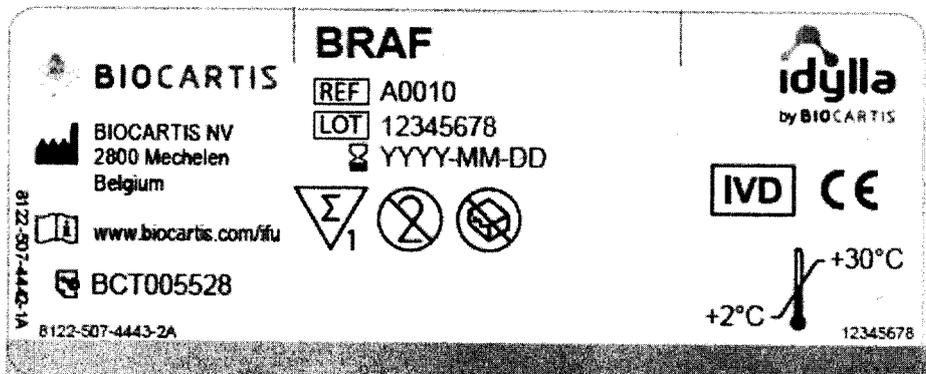


PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS

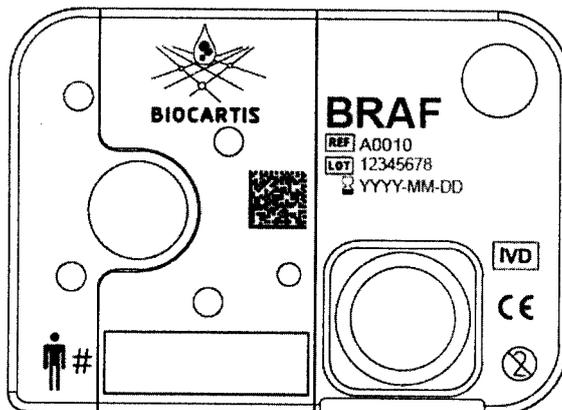
5605

Idylla BRAF Mutation Test

Rótulo del envase del cartucho



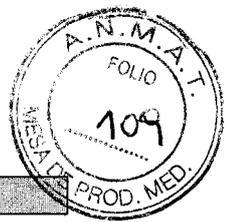
Rótulo del cartucho



Idylla System-Biocartis

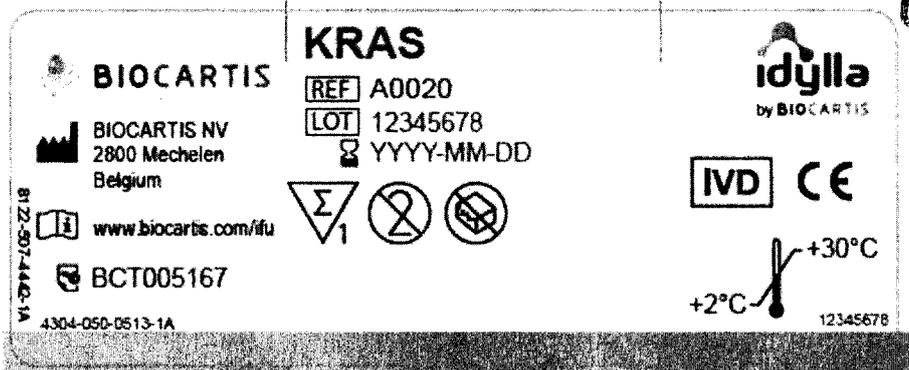
Yunior...

BIO...
DIRECTOR TÉCNICO

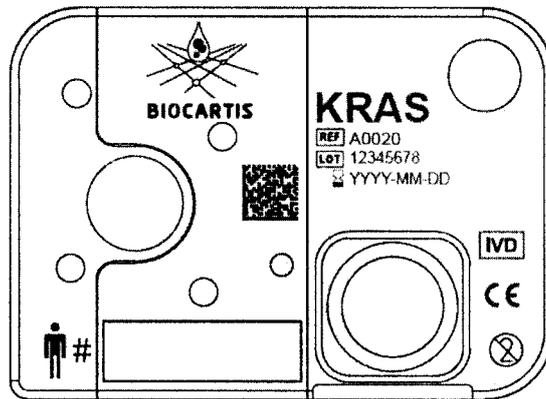


Idylla KRAS Mutation Test

Rótulo del envase del cartucho



Rótulo del cartucho



Establecimiento Elaborador: Biocartis NV Generaal de Wittelaan 11 B3 B-2800 Mechelen, Bélgica
Establecimiento Importador BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. N° de Certificado:

Idylla System-Biocartis

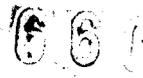
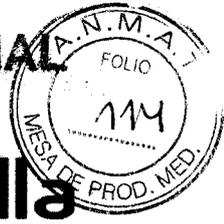
Handwritten signature

DRA. CLAUDIA E. ETCHÉVÉS
DIRECTOR TÉCNICO

Handwritten mark

Handwritten mark

ORIGINAL



Instrucciones de uso

Idylla™

BRAF Mutation Test

es

CP



Biocartis NV
Generaal de Wittelaan 11 B3
2800 Mechelen, Belgium
www.biocartis.com



BCT005528

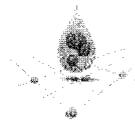
REF

A0010

CE

IVD

Para uso diagnóstico in vitro.
02/2016



BIOCARTIS

Claudia Stone
BIOCARIS S.P.A.
BIO. CLAUDIA STONE
DIRECTOR GENERAL

E

Información de copyright

© Biocartis NV, 2015. All rights reserved. Ninguna parte de la presente publicación se puede reproducir, transmitir, transcribir ni traducir a ningún idioma o lenguaje informático, de ningún modo ni por ningún medio sin el previo consentimiento por escrito de Biocartis NV. El producto solo se puede utilizar de acuerdo con los Términos y Condiciones de Biocartis (los que se le han proporcionado al adquirir el producto), incluso en términos de derechos otorgados bajo licencia (lo que puede y no puede hacer), de garantía y de uso del software. Lea atentamente los presentes Términos y Condiciones de Biocartis antes de hacer cualquier uso del producto.



Biocartis NV
Generaal De Wittelaan 11 B3
2800 Mechelen
Bélgica
Teléfono: +32 15 632 888
www.biocartis.com

Biocartis se reserva el derecho de modificar sus productos y servicios en cualquier momento. Si bien los productos han sido preparados para garantizar su precisión, Biocartis no asume ninguna responsabilidad por los errores, inexactitudes u omisiones que pudieran surgir en estas instrucciones de uso, por el uso del BRAF Mutation Test Idylla™ sin haber leído estas instrucciones de uso, ni por el uso del Sistema Idylla™ sin haber leído la documentación del Sistema.

La marca comercial y el logotipo de Biocartis son marcas comerciales de Biocartis que se utilizan y están registradas en Europa.

La marca comercial y el logotipo de Idylla son marcas comerciales en uso que pertenecen a Biocartis.

LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO OTORGA DERECHOS AL COMPRADOR BAJO CIERTAS PATENTES DE ROCHE PARA USARLO ÚNICAMENTE PARA PROPORCIONAR SERVICIOS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO EN SERES HUMANOS. POR EL PRESENTE NO SE OTORGA NINGUNA PATENTE GENERAL U OTRA LICENCIA DE CUALQUIER TIPO DISTINTA DE ESTE DERECHO DE USO ESPECÍFICO A PARTIR DE LA COMPRA.

NOTA PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

La sonda MGB contenida en este producto está cubierta por una o más de las siguientes patentes de EE. UU. y las correspondientes patentes fuera de EE. UU.: 5.801.155 y 6.084.102 y se vende con una licencia de ELITech Group. La compra de este producto incluye una licencia para usar solo esta cantidad de producto únicamente para el propio uso del comprador en el campo de diagnóstico *in vitro* humano (de acuerdo con la FDA y otros requisitos normativos aplicables) y no se puede usar para otro uso comercial incluido, entre otros, el nuevo empaquetado o nueva venta de cualquier forma.

BIOCARTIS



0609

VERSIÓN	PUBLICACIÓN	LISTA DE ACTUALIZACIONES
1	09/2014	Primera versión
2	09/2015	Segunda versión: <ul style="list-style-type: none">• Producto actualizado a GTIN05415219111327, añadido nuevo código clave BCT005528• Actualizaciones de diseño menores• Nuevo icono código clave (Keycode) incluido y define
3	02/2016	Correcciones menores de las características de rendimiento de la Tabla 1. Áreas de tejido correspondientes al límite de detección

E

CS

Contenidos

1 Instrucciones de uso del BRAF Mutation Test Idylla™	5
1.1 Nombre	5
1.2 Uso previsto	5
1.3 Indicaciones de uso	6
1.4 Resumen y explicación del Test	6
1.4.1 Antecedentes	6
1.4.2 Principios del procedimiento	7
1.4.3 Principios del TTP	8
2 Contenido del producto	9
2.1 Materiales suministrados	9
2.2 Materiales requeridos pero no suministrados	9
2.3 Almacenamiento y manipulación de los Cartuchos	10
3 Tipo de muestra, almacenamiento y preparación	11
3.1 Requisitos relacionados con las muestras	11
3.2 Almacenamiento	12
3.3 Preparación de la muestra	12
3.3.1 Portaobjetos montados con tejido parafinado FFPE	12
3.3.2 Láminas de tejido FFPE	12
4 Realizar un Test	14
5 Resultados	17
5.1 Se detectó mutación en el codón 600 de BRAF	17
5.2 No se detectó mutación en el codón 600 de BRAF	18
5.3 Datos de ADN insuficientes	18
5.4 No válido	18
6 Control de calidad	19
7 Limitaciones	20
8 Rendimiento	21
8.1 Especificidad analítica	21
8.2 Sensibilidad analítica	21
8.3 Reproducibilidad	22
8.3.1 Reproducibilidad entre laboratorios	22
8.3.2 Reproducibilidad entre lotes	22

3606



8.4 Sustancias de interferencia22

8.5 Precisión: Rendimiento del BRAF Mutation Test en comparación con un método de referencia23

8.6 Conmutabilidad23

9 Referencias24

9.1 Símbolos utilizados 25

10 Datos de contacto26

L

S

[Handwritten signature]

1 Instrucciones de uso del BRAF Mutation Test Idylla™

1.1 Nombre

BRAF Mutation Test Idylla™

Nombre corto: BRAF

1.2 Uso previsto

Para uso diagnóstico in vitro.

Para ser usado en el Sistema Idylla™ de Biocartis.

El BRAF Mutation Test Idylla™ que se realiza en el Sistema Idylla™ de Biocartis, es un Test de diagnóstico in vitro para la detección cualitativa de las mutaciones V600E/E2/D y V600K/R/M en el codón 600 del gen *BRAF*. El BRAF Mutation Test Idylla™ utiliza ADN liberado de muestras de tejido fijado en formalina y embebido en parafina (FFPE, por sus siglas en inglés) de células tumorales de melanoma humano. El Test es una PCR en tiempo real desde la muestra hasta el resultado.

5

CG



6606

1.3 Indicaciones de uso

Los resultados del BRAF Mutation Test Idylla™ pueden resultar útiles para los médicos para ayudar a identificar qué pacientes de melanoma metastático se pueden beneficiar de la terapia dirigida BRAF. El BRAF Mutation Test Idylla™ no está diseñado para diagnosticar el melanoma metastático. El médico deberá tener en cuenta otros factores de la enfermedad, además del estado de la mutación del paciente, para tomar una decisión en cuanto a la terapia.

El BRAF Mutation Test Idylla™ identifica las siguientes mutaciones en el gen BRAF:

GRUPO DE MUTACIÓN	TIPO DE MUTACIÓN	DETALLES
V600E/E2/D	V600E	<ul style="list-style-type: none"> Cambio de base: c.1799T>A Cambio de aminoácido: p.(Val600Glu)
	V600E2	<ul style="list-style-type: none"> Cambio de base: c.1799_1800TG>AA Cambio de aminoácido: p.(Val600Glu)
	V600D	<ul style="list-style-type: none"> Cambio de base: c.1799_1800TG>AT, c.1799_1800TG>AC Cambio de aminoácido: p.(Val600Asp)
V600K/R/M	V600K	<ul style="list-style-type: none"> Cambio de base: c.1798_1799GT>AA Cambio de aminoácido: p.(Val600Lys)
	V600R	<ul style="list-style-type: none"> Cambio de base: c.1798_1799GT>AG Cambio de aminoácido: p.(Val600Arg)
	V600M	<ul style="list-style-type: none"> Cambio de base: c.1798G>A Cambio de aminoácido: p.(Val600Met)

El BRAF Mutation Test Idylla™ no discrimina entre las mutaciones V600E, E2 y D por un lado, y entre las mutaciones V600K, R y M por el otro.

1.4 Resumen y explicación del Test

1.4.1 Antecedentes

Si bien el melanoma maligno alguna vez se consideró poco común, la incidencia anual ha aumentado drásticamente durante las últimas décadas. En Europa, se registran aproximadamente 100 000 nuevos casos de melanoma cada año (1). Para pacientes con melanoma metastático o inoperable, las terapias dirigidas a BRAF y MEK (inhibidores de BRAF y MEK) han mostrado una actividad antitumoral significativa si las células tumorales presentan mutaciones características en el gen *BRAF* (2).

Las mutaciones en el gen *BRAF* aparecen aproximadamente entre un 40 % y 60 % de los melanomas metastásicos (3). En un porcentaje entre el 74 % y el 79 % (4) de las mutaciones en *BRAF*, la mutación activadora consiste en la sustitución de valina por ácido glutámico en el aminoácido 600 (mutación V600E), mientras que la mayor parte del resto (12-15 %, 4) consiste en una sustitución alternativa (valina por lisina)

en el locus V600 (mutación V600K). Las proteínas de BRAF mutadas tienen una elevada actividad de quinasas y se transforman en células NIH3T3.

Asimismo, la función RAS no es necesaria para el crecimiento de las líneas celulares cancerosas con la mutación V600E (5). Las sustituciones de ácido aspártico (V600D) son muy raras y bioquímicamente muy similares a las sustituciones de ácido glutámico (V600E). Las sustituciones de arginina (V600R) se han detectado en un 3-5 % (4) de casos de melanoma y son bioquímicamente muy similares a las sustituciones de lisina (V600K). Se han detectado mutaciones V600M en el 0-4 % (4) de tejidos con melanoma.

Aunque los datos de resultados del tratamiento para las mutaciones D, R y M son escasos (un paciente que alberga un melanoma metastásico con una mutación doble V600E/M ha mostrado una respuesta abrumadora al dabrafenib inhibidor de BRAF (6) y un paciente que alberga un melanoma con V600R respondió bien al tratamiento (7)), por lo general estas sustituciones se consideran objetivos auténticos para inhibidores de BRAF y MEK con respuestas objetivo similares y efectos secundarios como los observados en pacientes con mutaciones de V600E (7).

1.4.2 Principios del procedimiento

El Sistema Idylla™ de Biocartis es un dispositivo de diagnóstico *in vitro* (IVD). El Sistema cubre el proceso completo desde la muestra hasta el resultado con una preparación de la muestra completamente integrada seguida de una amplificación de la PCR en tiempo real y detección de secuencias de destino. El Sistema Idylla™ consta de la Consola Idylla™ conectada a uno o más Instrumentos Idylla™. Los Cartuchos Idylla™, diseñados para aplicaciones específicas, se pueden utilizar en el Sistema Idylla™ con paquetes de tipo de Test (TTP) específicos de la aplicación. El software específico del BRAF Idylla™ (TTP, paquete de tipo de Test, BRAF) analiza automáticamente los datos de la PCR obtenidos.

INFORMACION

Para obtener una descripción completa del Sistema Idylla™, consulte el Manual del operador de Idylla™.

EL BRAF Mutation Test Idylla™ detecta las mutaciones V600E/E2/D y V600K/R/M en el codón 600 del gen BRAF. El Test consiste en tres reacciones de la PCR dúplex específicas de alelo, diseñadas para amplificar específicamente las mutaciones en BRAF de tipo salvaje, BRAF T1799>A y BRAF G1798>A, cada una combinada con un gen de control endógeno que actúa como un control de procesamiento de la muestra. Este control comprueba al ejecución adecuada del proceso completo desde la muestra hasta el resultado. Los BRAF Tests están listos para usar y contienen los reactivos necesarios para llevar a cabo la preparación de la muestra y la detección de PCR en tiempo real, comenzando por la inserción de secciones de tejido FFPE.

Los pasos del proceso del Test son los siguientes:



- **Licuação y lisis celular de FFPE:** Tras la inserción de la sección de tejido FFPE en el Cartucho, una combinación de reactivos químicos, enzimas, calor y ultrasonido focalizado de alta intensidad (HIFU) induce la desparafinación, el trastorno del tejido y la lisis de células. Se liberan los ácidos nucleicos y están listos para la posterior amplificación de la PCR.
- **PCR en tiempo real con cebadores específicos de alelo:** amplificación y detección fluorescente de objetivos BRAF. Hay reactivos de PCR en una fórmula estable en 3 cámaras de PCR. Cada cámara contiene los reactivos específicos relacionados con el objetivo que se desea detectar:
 - Tipo salvaje en la cámara A,
 - V600E/E2/D en la cámara B
 - y V600 K/R/M en la cámara C.

Además, cada cámara de PCR también contiene los reactivos para la detección simultánea de un control endógeno del procesamiento de la muestra. La detección de estos objetivos específicos se realiza con sondas de etiquetado fluorescente.

Al finalizar la ejecución, se puede obtener un informe final en la pantalla de la Consola que indica la presencia o ausencia de una mutación específica en el codón 600 del gen *BRAF*.

1.4.3 Principios del TTP

El TTP BRAF específico analiza automáticamente las señales fluorescentes recopiladas. El resultado final se presenta en la Consola.

Todas las señales fluorescentes obtenidas se evalúa para ver si cumplen los criterios de aceptación para su validez. Se calcula un valor de ciclo de cuantificación (Cq) para cada curva válida.

Las señales de SPC (control de procesamiento de muestra) se utilizan para verificar el adecuado procesamiento del proceso completo desde la muestra hasta el resultado. La presencia de un genotipo mutante se determina con el cálculo del ΔCq . El valor del ΔCq es la diferencia entre el Cq de tipo salvaje de BRAF y el Cq de V600E/E2/D o V600K/R/M.

La señal mutante se considera válida si el ΔCq se encuentra dentro de un rango validado y la muestra se caracterizará como un positivo de la mutación V600 de BRAF, que indica el grupo de mutación específico.

Todas las muestras con una señal de tipo salvaje pero con un valor de ΔCq fuera del rango validado se caracterizan como un negativo de la mutación V600 de BRAF.

INFORMACIÓN

Resultados.



2 Contenido del producto

2.1 Materiales suministrados

Se proporcionan los siguientes materiales al comprar BRAF Tests:

- BRAF Mutation Test Idylla™. El embalaje del producto (n.º de cat.: A0010/6) contiene 6 Tests. Los Cartuchos vienen envasados de forma individual en una bolsa sellada. Cada Cartucho contiene los reactivos necesarios para realizar un solo BRAF Test. El Cartucho está herméticamente sellado, lo que impide el contacto entre el usuario que manipula el Test y los reactivos que están en el interior del Cartucho.

Los siguientes materiales se pueden obtener a través del sitio web del fabricante como se indica en la etiqueta o la organización del servicio del fabricante:

- Paquete de tipo de Test (TTP) de BRAF.
- Instrucciones de uso del BRAF Mutation Test.

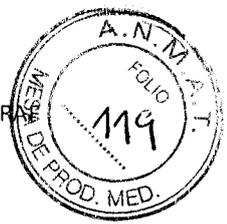
2.2 Materiales requeridos pero no suministrados

Los siguientes materiales son necesarios para realizar un BRAF Test pero no los suministra el fabricante del Test:

- Instrumento Idylla™ (N.º de Cat. P0010) y Consola (N.º de Cat. P1010)
- Filtros de papel Whatman (GE Healthcare): grado 1: 500 círculos de 10 mm. N.º de Cat.: 1001-6508)
- Portaobjetos de vidrio
- Agua libre de nucleasas (por ej., Sigma-Aldrich, Reactivo de biología molecular, N.º de Cat.: W4502)
- Pinzas (preferiblemente pinzas no estriadas)
- Agente limpiador (ej.: etanol 70 %)
- Navajas (ej.: cuchilla sencilla (navajas científicas GEM), distribuidor SPI, N.º de Cat.: 05025-AB/05025-MB)

1 PRECAUCIÓN

Evite la transferencia entre una muestra y otra limpiando las pinzas concienzudamente después de cada uso.



6606

2.3 Almacenamiento y manipulación de los Cartuchos

Almacene los Cartuchos del BRAF Mutation Test Idylla™ tan pronto como los reciba a temperatura ambiente. Asegúrese de que los Cartuchos han alcanzado la temperatura ambiente (18-25 °C) antes de usarlos.

Los Cartuchos no utilizados permanecerán estables hasta la fecha caducidad indicada en la etiqueta si se guardan bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas y se mantienen en el envase en el que se entregan, es decir, en la bolsa sellada.

ⓘ PRECAUCIÓN

- Utilice el Cartucho **en un rango de 2 horas** tras la apertura de la bolsa.
- Cuando se almacena en un refrigerador, el Cartucho tarda una hora a temperatura ambiente en alcanzar la temperatura de funcionamiento adecuada.
- No utilice el Test si la bolsa está perforada o presenta otras señales de daños.
- No utilice un Test que evidencie cualquier daño visible. No utilice un Test que se haya caído.
- Es necesario tratar los Cartuchos y las muestras en una superficie limpia y descontaminada.
- Una vez que se inserte la muestra en el Cartucho, manténgalo nivelado.
- No abra la tapa del Cartucho hasta que esté listo para realizar un Test.
- No intente volver a abrir la tapa del Cartucho después de insertar una muestra y haber cerrado la tapa, ni tampoco después de una ejecución del Test.
- Los derrames se deben manejar de acuerdo con las instrucciones que se describen en el Manual del usuario de Idylla™.
- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los Cartuchos utilizados, como posibles agentes infecciosos. Las directrices para la manipulación, el almacenamiento y la eliminación de muestras están disponibles en los documentos del Clinical and Laboratory Standards Institute (8).
- Compruebe la fecha de caducidad del Cartucho antes de usarlo.
- Trate los Cartuchos sin usar o caducados como desechos biológicamente peligrosos.
- No reutilice los Tests procesados. Los Tests son para un solo uso únicamente.
- No someta los Tests sin empaquetar a temperaturas que superen los 25 °C y a una humedad relativa superior al 65 %.
- Siga los procedimientos de seguridad de su institución para la manipulación de muestras biológicas. Use un equipo de protección personal apropiado.
- No exceda la cantidad de muestra permitida: 600 mm² para secciones de tejido de 5 µm y 300 mm² para secciones de tejido de 10 µm. La sobrecarga de un Cartucho podría suponer un resultado de **datos de ADN insuficientes**. Ejecute el Test de nuevo con una nueva muestra del mismo espécimen con menos datos de la muestra (dentro del rango de datos).

E

CS

BIOQ. CLAUDIA ECHEVERRI
DIRECTORA TÉCNICA

3 Tipo de muestra, almacenamiento y preparación

Recoja las muestras de acuerdo con los procedimientos estándares del laboratorio. Las directrices para la recolección, el transporte, la preparación y el almacenamiento de las muestras para los métodos moleculares están disponibles en los documentos del Clinical and Laboratory Standards Institute (documento de CLSI MM13-A 3. 10).

PRECAUCIÓN

Manipule las secciones de tejido parafinado FFPE con cuidado para obtener resultados precisos. Es vital evitar la contaminación cruzada entre muestras.

3.1 Requisitos relacionados con las muestras

Se deben seguir los procedimientos estándares de fijación en formalina e inclusión en parafina. Fije las muestras de tejido tan pronto como sea posible después de la extirpación quirúrgica y limite los tiempos de fijación a un máximo de 24 horas para reducir el riesgo de fragmentación extrema del ADN.

Se pueden usar secciones de tejido FFPE de 5 μm a 10 μm como muestra en el BRAF Mutation Test Idylla™. Según la evaluación histopatológica con hematoxilina y eosina (HE), se aplican los siguientes criterios para la selección de la muestra:

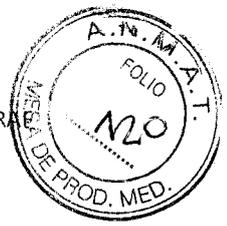
- Si una muestra contiene más del 50 % de células tumorales, según lo que indica un patólogo, **no** se tiene que realizar ninguna macrodissección.
- Si una muestra contiene menos del 50 % de células tumorales, según lo que indica un patólogo, se tiene que realizar una macrodissección para poder llegar a un contenido de al menos el 50 % de células tumorales.
- El área del tejido de la muestra debería ser **como mínimo**:
 - 50 mm² cuando se usan las secciones de tejido de 5 μm y
 - 25 mm² cuando se usan secciones de tejido de 10 μm .

Se pueden usar varias secciones de tejido FFPE para cumplir con este requisito. El tejido necrótico no cuenta para cumplir los requisitos mínimos de área de tejido y se debería eliminar.

- El área de tejido de la muestra debe tener **como máximo**
 - 600 mm² cuando se usan secciones de tejido de 5 μm y
 - 300 mm² cuando se usan secciones de tejido de 10 μm .

PRECAUCIÓN

Para realizar la macrodissección, utilice un escalpelo exclusivo por muestra para evitar la contaminación cruzada entre muestras.



6606

3.2 Almacenamiento

Se pueden almacenar secciones de tejido FFPE de 5 μm a 10 μm a una temperatura de 15-30 °C por un máximo de 60 días.

3.3 Preparación de la muestra

3.3.1 Portaobjetos montados con tejido parafinado FFPE

Para preparar una muestra de un portaobjetos con tejido FFPE montado sobre vidrio, siga estas instrucciones:

PASO	ACCIÓN
1	Humedezca dos filtros de papel con agua libre de nucleasas. Use las pinzas para colocarlos sobre el portaobjetos de vidrio que contiene la sección de tejido FFPE.
2	Con una navaja nueva, raspe la sección de tejido FFPE (macrodissección) del vidrio.
3	Transfiera el material FFPE raspado a uno de los filtros de papel humedecidos.
4	De manera opcional, si usa más de una sección de tejido, repita los pasos 2 y 3, con la misma navaja (hasta que haya alcanzado los requisitos mínimos de tejido tumoral). INFORMACIÓN Requisitos relacionados con las muestras
5	Utilice pinzas para colocar el segundo filtro de papel humedecido sobre el material FFPE.
6	Deseche la navaja.
7	Realizar un Test PRECAUCIÓN Pruebe las muestras dentro de un periodo de 2 horas tras la preparación.

3.3.2 Láminas de tejido FFPE

Para preparar una muestra de una lámina, siga estas instrucciones:

PASO	ACCIÓN
1	Humedezca dos filtros de papel con agua libre de nucleasas. Use las pinzas para colocar los filtros de papel humedecidos sobre el portaobjetos de vidrio que contiene la sección de tejido FFPE.
2	Utilice pinzas para colocar una o más láminas de tejido FFPE en uno de los filtros de papel humedecidos (hasta que haya alcanzado los requisitos mínimos de tejido tumoral). i INFORMACIÓN Requisitos relacionados con las muestras
3	Utilice pinzas para colocar el segundo filtro de papel humedecido sobre la lámina de tejido FFPE.
4	Continúe con Realizar un Test. ! PRECAUCIÓN Pruebe las muestras dentro de un periodo de 2 horas tras la preparación.

E

CB



6606

4 Realizar un Test

1 INFORMACIÓN

Consulte el Manual del operador de Idylla™ para ver la explicación completa sobre cómo preparar el Cartucho y ejecutar el Test.

Las instrucciones siguientes asumen que el Instrumento y la Consola Idylla™ están encendidos, que hay al menos un Instrumento disponible para el procesamiento y que el usuario ha iniciado la sesión en la Consola.

Handwritten mark

Handwritten mark

Handwritten signature

BIOL. CLAUDIA...
DIRECTOR GENERAL

PASO	ACCIÓN
1	<p>Abra la bolsa del Cartucho con cuidado y sáquelo.</p> <p>! PRECAUCIÓN</p> <p>Utilice el Cartucho en un rango de 2 horas tras la apertura de la bolsa sellada.</p>
2	Presione Nuevo Test en la Consola.
3	<p>Escanee el código de barras asociado a la muestra (tubo) con el lector de códigos de barras de la Consola.</p> <p>- O BIEN -</p> <p>Complete manualmente el identificación de la muestra en el campo correspondiente.</p>
4	Escanee el código de barras 2D ubicado en la parte superior del Cartucho con el lector de códigos de barras de la Consola.
5	De manera opcional, escriba un comentario para incluir en la solicitud del Test y los resultados del Test.
6	Presione Confirmar para terminar la solicitud del Test.
7	Prepare la muestra según lo que se describe en Preparación de la muestra.
8	Sostenga el Cartucho por el cuerpo y tire de la tapa para abrirla.
9	<p>Use pinzas para recoger la muestra preparada, incluidos los filtros de papel, y transfírela a la apertura del Cartucho.</p> <p>Colóquela con cuidado en la almohadilla para la lisis que está situada en la parte inferior de la abertura del Cartucho.</p> <p>! PRECAUCIÓN</p> <p>Asegúrese de situar la muestra en el medio de la almohadilla de la lisis para garantizar un correcto funcionamiento del Test.</p> <p>Asegúrese de no tocar la almohadilla de la lisis con las pinzas o con los dedos.</p>
10	Saque el clip y cierre el Cartucho empujando la tapa de manera firme para asegurar que se cierre de manera correcta. Tire suavemente de la tapa que está fijada.
11	<p>Escoja un Instrumento que esté disponible para el procesamiento.</p> <p>! CONSEJO</p> <p>La luz blanca alrededor de la bandeja del Instrumento que sugiere el Sistema parpadea.</p>
12	Presione el botón de abrir y cerrar de la bandeja para abrir el Instrumento.
13	Coloque el Cartucho en la bandeja.
14	<p>Presione el botón de abrir y cerrar de la bandeja para cerrar el Instrumento.</p> <p>El Test se inicia automáticamente. El anillo de luz blanca en el Instrumento está constantemente encendido.</p>
15	Limpie todos los materiales usados que entraron en contacto con la muestra, por ejemplo, las pinzas, con un paño humedecido con etanol al 70 % para evitar la transferencia entre una muestra y otra.
16	<p>En la Consola, se muestra el tiempo de procesamiento.</p> <p>! INFORMACIÓN</p> <p>El tiempo de procesamiento de un BRAF Mutation Test Idylla™ es de aproximadamente 90 minutos.</p>



17	Una vez finalizado el Test, vea los resultados en la Consola.	6606
18	Deseche el Cartucho usado según los procedimientos del laboratorio. i INFORMACIÓN Las directrices para la eliminación de muestras están disponibles en los documentos del Clinical and Laboratory Standards Institute (9).	

E

9

Claudio...

BIOQ. CLAUDIO...
DIRECTOR GENERAL

5 Resultados

El Sistema Idylla™ interpreta automáticamente los resultados del Test y los pone a disposición del usuario para poder visualizarlos en la Consola.

El BRAF Mutation Test Idylla™ puede informar de cuatro (4) resultados posibles:

- No se detectó mutación en el codón 600 de BRAF
- Se detectó mutación en el codón 600 de BRAF
- Datos de ADN insuficientes
- No válido

Cuando se detecta una mutación, se proporciona más información sobre el tipo de mutación. BRAF detecta dos tipos de grupos de mutación:

- V600E/V600E2/V600D
- V600K/V600R/V600M

En caso de que el resultado sea datos de ADN insuficientes/no válidos, la pantalla de la Consola muestra información adicional sobre cómo proceder.

5.1 Se detectó mutación en el codón 600 de BRAF

Cuando se detecta una mutación, pertenece al grupo V600E/E2/D o al grupo V600K/R/M. En la Consola, los resultados se muestran de la siguiente manera:

BRAF GENOTYPE	MUTATION DETECTED IN BRAF CODON 600
Mutation	V600E/V600E2/V600D
Protein HGVS	p.(Val600Glu)/p.(Val600Glu)/p.(Val600Asp)
Base Change	c.1799T>A/c.1799_1800TG>AA/ c.1799_1800TG>AT;c.1799_1800TG>AC

BRAF GENOTYPE	MUTATION DETECTED IN BRAF CODON 600
Mutation	V600K/V600R/V600M
Protein HGVS	p.(Val600Lys)/p.(Val600Arg)/p.(Val600Met)
Base Change	c.1798_1799GT>AA/c.1798_1799GT>AG/ c.1798G>A

- Proteína HGVS: indica la mutación según la nomenclatura de la Human Genome Variation Society (HGVS).
- Cambio de base: indica los cambios en el nucleótido y su posición en el gen *BRAF*.

Las capturas de pantalla anteriores muestran tanto la PCR de tipo salvaje como la PCR V600E/E2/D o V600K/R/M han generado una curva válida, que indica que se ha detectado una mutación en el codón 600 del gen *BRAF*. La



PCR de SPC, realizada en cada cámara de PCR, ha revelado una señal positiva en (al menos) la cámara de PCR en la que no se amplificó el ADN de destino de BRAF V600.

5.2 No se detectó mutación en el codón 600 de BRAF

Cuando no se detecta mutación, los resultados se muestran en el informe de la siguiente manera:

BRAF GENOTYPE	NO MUTATION DETECTED IN BRAF CODON 600
----------------------	---

Este resultado indica que solo la PCR de tipo salvaje ha generado una curva válida y que no se han detectado mutaciones V600E/E2/D o V600K/R/M dentro del rango ΔCq validado.

La Consola también puede mostrar el mismo resultado acompañado de una observación adicional:

BRAF GENOTYPE	NO MUTATION DETECTED IN BRAF CODON 600
Remark	V600K/R/M mutation <5% may not be detected

El límite de detección (LoD) del BRAF Mutation Test Idylla™ es un 1 %. Cuando la cantidad de ADN presente sea limitada pero suficiente, se marcará una muestra negativa de BRAF con la **mutación V600K/R/M<**. Puede que no se detecte el 5 %.

5.3 Datos de ADN insuficientes

Este resultado indica que la cantidad de ADN en la muestra está fuera de rango (demasiado baja o demasiado alta) para realizar una llamada de genotipo fiable. Repita el Test con un nuevo Cartucho, con más muestra pero sin superar la cantidad de muestra máxima permitida.

BRAF GENOTYPE	INSUFFICIENT DNA INPUT
Remark	Repeat test with a new cartridge, using more sample input

5.4 No válido

Esto indica que los resultados obtenidos con la muestra se desvían de las expectativas. Esto puede deberse a varias razones, tales como: Tests almacenados de manera incorrecta, Tests utilizados que superaban el período de uso después de retirarlos de la bolsa o al mal funcionamiento del Cartucho.

Por el motivo arriba mencionado, no se puede informar de ningún resultado y se recomienda repetir el Test con un nuevo Cartucho y una nueva muestra del mismo origen.

BRAF GENOTYPE	INVALID
Remark	Repeat test with a new cartridge

6 Control de calidad

Controles externos pueden ser utilizados para fines de control de calidad, pruebas de verificación, formación y otros fines. Los materiales de control derivados de FFPE de BRAF está disponibles comercialmente y se pueden comprar en Horizon Diagnostics (<http://www.horizondx.com>). Los siguientes productos están disponibles en Horizon Diagnostics en varias frecuencias alélicas:

- BRAF V600E
- BRAF V600K
- Tipo salvaje de BRAF

Estas muestras artificiales de FFPE se envían como láminas de tejido FFPE en tubos separados y se deben manipular y procesar en exactamente la misma forma descrita en el capítulo Preparación de la muestra (Láminas de tejido FFPE).

E

Q



7 Limitaciones

Las siguientes limitaciones se aplican al BRAF Mutation Test Idylla™:

- Solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Solo para uso profesional. El producto solo debe ser utilizado por personal debidamente entrenado.
- Se ha validado el BRAF Mutation Test Idylla™ para que pueda ser usado con el Sistema Idylla™ únicamente.
- El BRAF Mutation Test Idylla™ se debe utilizar de acuerdo con las instrucciones de uso. Cualquier desviación con respecto a las instrucciones deberá ser validada por el usuario.
- El BRAF Mutation Test Idylla™ ha sido diseñado para detectar mutaciones V600E, V600E2, V600D, V600K, V600R y V600M en el gen *BRAF*. Debido al diseño específico de cebador y sonda, no es posible distinguir entre las mutaciones V600E, V600E2 y V600D. Esto también se aplica para las mutaciones V600K, V600R y V600M. El BRAF Mutation Test Idylla™ no detecta otras mutaciones raras, como V600G.
- La presencia de inhibidores de la PCR, como la melanina, puede causar un resultado negativo falso o resultados con datos de ADN insuficientes. Cuando se sospecha una inhibición de la melanina, repita la prueba con una sección de tejido FFPE más pequeña, teniendo en cuenta los requisitos mínimos de muestra.
- El BRAF Mutation Test Idylla™ es un Test cualitativo. El Test no está diseñado para mediciones cuantitativas de mutaciones.
- Los tipos de muestras validados para el BRAF Mutation Test Idylla™ son las muestras de tejido FFPE provenientes de pacientes diagnosticados con melanoma.
- Para los resultados positivos de mutaciones reducidas (inferiores al 5%) poco frecuentes no se conoce el resultado clínico y todavía no se ha establecido.
- El BRAF Mutation Test Idylla™ no está validado para el diagnóstico de melanoma metastático, ni para fines de seguimiento.
- Para garantizar unos resultados fiables, el Sistema Idylla™ se debe mantener según las condiciones descritas por el fabricante.
- El área tumoral pretendida para el BRAF Mutation Test Idylla™ es de 50 mm² para secciones de tejido de 5 µm y de 25 mm² para secciones de tejido de 10 µm con un porcentaje mínimo de célula tumoral del 50 %. No se pueden garantizar resultados confiables o válidos con muestras que no cumplan con estos criterios.
- En caso de heterogeneidad de mutaciones, solo se informa de la mutación dominante. Se debería tener en cuenta la heterogeneidad de la interlesión durante la decisión clínica.
- Una recolección y manipulación incorrectas de la muestra puede provocar un ADN degradado y puede afectar al rendimiento del Test.

[Handwritten Signature]
 DR. CLAUDIO P. ...
 DIRECTOR TÉCNICO

8 Rendimiento

8.1 Especificidad analítica

La especificidad analítica del BRAF Mutation Test Idylla™ se evaluó probando los siguientes tipos de Tests con altas cantidades:

- Veinte muestras de referencia de FFPE artificiales
 - Tipo salvaje ($6,6 \cdot 10^5$ copias por Cartucho),
 - 100% de V600E mutante ($6,1 \cdot 10^5$ copias por Cartucho)
 - 100% de V600K mutante ($5,9 \cdot 10^5$ copias por Cartucho).
- Oligos objetivo sintéticos (10^6 copias por Cartucho) combinados con gDNA de tipo salvaje humano (10^6 copias por Cartucho) para V600A y V600G
- Plásmidos que representan los homólogos de BRAF BRAF P1, ARAF y CRAF (10^6 copias por Cartucho)

Los resultados obtenidos muestran que el tipo salvaje de los genotipos, V600E, V600K, V600A, BRAF P1, ARAF y CRAF, se identificaron correctamente y que no se observó reactividad cruzada.

Cuando se utilizan grandes cantidades de V600G (10^6 copias por Cartucho), el BRAF Mutation Test Idylla™ informa de V600E/E2/D, que indica una reactividad cruzada con V600G.

8.2 Sensibilidad analítica

El LoD está definido como el nivel de entrada más bajo (copias/PCR) donde la probabilidad de detección media estimada es, con una confianza del 95 %, de al menos el 95 %.

La sensibilidad analítica se determinó con muestras de FFPE artificial con 1 % V600E y 1 % V600K con contenido de ADN conocido. Según el contenido de ADN, se calcularon los números de copias de las mutaciones V600E y V600K y se prepararon las diluciones en serie.

Por cada lámina licuada, se prueban 10 diluciones en serie en réplicas de 12:

- Rango de dilución de V600E: 20 - 0,15 copias de mutación por PCR
- Rango de dilución de V600K: 40 - 0,15 copias de mutación por PCR

El modelado de regresión logística se utilizó para determinar los LoD de V600E y V600K. Esto tuvo como resultado demandas de LoD para V600E y V600K de 4 copias/PCR y 10 copias/PCR, respectivamente (consultar Tabla 1). Para verificar el LoD de cada mutante, se preparó el 1% de la mutación de V600 estándar en el LoD determinado y se probaron veinte réplicas. Para ambos mutantes, todas las réplicas dieron positivo. Los LoD se utilizaron para deducir las correspondientes áreas de tejido del 1% de los mutantes de V600E y V600K.

MUESTRA	NÚMERO DE COPIAS MUTANTES/PCR	ÁREA DE TEJIDO POR CARTUCHO PARA UNA SECCIÓN DE TEJIDO DE 5 μ M	MUTACIÓN POSITIVA/PROBADA
1 % de V600E	4 copias/PCR	10.4 mm ²	20/20
1 % V600K	10 copias/PCR	24.9 mm ²	20/20

Tabla 1. Límite de detección para V600E y V600K



8.3 Reproducibilidad

8.3.1 Reproducibilidad entre laboratorios

Para evaluar la reproducibilidad del Test BRAF, se prueba un panel de dos muestras positivas bajas de FFPE artificiales en duplicado en dos Instrumentos Idylla™ durante 5 días en tres sitios diferentes, por parte de 2 operadores diferentes por sitio, con un total de 120 resultados de BRAF Test por muestra. El objetivo del estudio era evaluar la reproducibilidad entre laboratorios, entre días, entre operadores y entre Instrumentos.

El panel de reproducibilidad consistió en dos muestras:

- 3,5 % de V600E BRAF
- 5 % de V600K BRAF

El análisis de discrepancia con modelado lineal mixto no muestra ningún efecto o muestra efectos despreciables para las diferentes fuentes de variación.

Los resultados del análisis cualitativo, basado en las correctas llamadas de genotipos, se describen en la Tabla 2.

MUESTRA	ACUERDO (%)	95 % IC PARA ACUERDO
3,5 % V600E	100,0 (120/120)	[96,9,100,0]
5 % V600K	100,0 (120/120)	[96,9,100,0]

Tabla 2. Resultados de reproducibilidad entre laboratorios

8.3.2 Reproducibilidad entre lotes

Un operador realizó un estudio de reproducibilidad entre lotes en el mismo panel de reproducibilidad; por cada muestra se ejecutaron 20 Cartucho: 3 lotes x 4 veces/día x 5 días divididos en 3 Instrumentos.

MUESTRA	ACUERDO (%)	95 % IC PARA ACUERDO
3,5 % V600E	98,3 (59/60)*	[91,1,99,7]
5 % V600K	100,0 (60/60)	[94,0,100,0]

Tabla 3. Resultados de precisión entre lotes de 3 lotes diferentes

* Una muestra obtuvo un resultado con **datos insuficientes de ADN**.

8.4 Sustancias de interferencia

El efecto de la melanina, un inhibidor potencial, y el tejido necrótico en el resultado de la muestra se probó durante el estudio de precisión para evaluar si la presencia de estas sustancias importunas suponen un número mayor de llamadas de **datos insuficientes de ADN**. De las 12 muestras que tenían un alto contenido de melanina (>50 % (8 muestras), >25 % (4 muestras)), ninguna dio lugar a una llamada de **datos insuficientes de ADN**. Del mismo modo, de 13 muestras con alto contenido de tejido necrótico (> 30 %), ninguno ha dado lugar a una llamada de **datos de ADN insuficientes**.

Esto indica que tanto la melanina como el tejido necrosado no suponen un mayor porcentaje de resultados inválidos. Lo que es además admitido por 2 muestras con un alto contenido de melanina (>50 %) y un alto contenido de tejido necrosado (>50 %) sin desencadenar un marcador de **datos insuficientes de ADN**.

8.5 Precisión: Rendimiento del BRAF Mutation Test en comparación con un método de referencia

Durante un estudio retrospectivo sobre muestras de melanoma maligno, se evaluó el rendimiento del BRAF Mutation Test Idylla™ en comparación con la pirosecuenciación.

El acuerdo de porcentaje general observado (231/236 x 100 %) entre ambos métodos fue del 97,9 % con un intervalo de confianza inferior unilateral (IC) de 95 % de 95,7 %. Los resultados se calcularon con datos válidos para ambos métodos y se muestran en la Tabla 4 (los resultados del Test concordantes están marcados en azul). Se observa un porcentaje de acuerdo general del 95 % entre ambos métodos.

De los 236 resultados de Test válidos, 5 muestras se identificaron como **Sin mutación** por el método de referencia mientras que el BRAF Mutation Test Idylla™ identificó una mutación (4 x V600E/E2/D y 1 x V600K/R/M) en cada una de estas muestras. Como el BRAF Mutation Test Idylla™ tiene un límite de detección validado del 1 % para ambos grupos de mutación, los datos de BRAF Idylla™ obtenidos indican que el BRAF Mutation Test Idylla™ es más sensible que el método de referencia. El método de referencia identificó una mutación extra (V600G) que no fue detectada por el BRAF Mutation Test Idylla™. Debido a que el BRAF Mutation Test Idylla™ no está diseñado para la detección de la mutación V600G, este resultado no se incluye como un resultado discordante en el acuerdo de porcentaje general.

BRAF Mutation Test Idylla™	Método de referencia				
	Mutación detectada E/E2/D	Mutación detectada K/R/M	Otra mutación detectada	Sin mutación	Total
Mutación detectada V600E/E2/D	89	0	0	4	93
V600K/R/M detectada	0	17	0	1	18
Sin mutación	0	0	1*	124	125
Total	89	17	1	129	236

Tabla 4. Rendimiento del BRAF Mutation Test Idylla™ en comparación con el método de referencia

*V600G

8.6 Conmutabilidad

El BRAF Mutation Test Idylla™ puede rastrear el gen *BRAF*. Tanto el método de referencia de pirosecuenciación de orden superior como el Test detectaron las mutaciones de tipo salvaje y V600E, V600K. La incertidumbre del Test es muy baja, como se muestra en el estudio clínico comparativo, ya que 231/236 muestras fueron completamente concordantes.



6808

9 Referencias

REF. N.º	DETALLE
1	Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. Ferlay et al. European Journal of Cancer (2013)
2	Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation. Chapman et al. New England Journal of Medicine (2011)
3	Molecular targeted therapies in metastatic melanoma. Chakraborty et al. Pharmacogenomics and Personalized Medicine (2013)
4	Routine Multiplex Mutational Profiling of Melanomas Enables Enrollment in Genotype-Driven Therapeutic Trials. Lovely et al. PLoS ONE (2012)
5	Mutations of the BRAF gene in human cancer. Davies et al. Nature (2002)
6	Overwhelming response to Dabrafenib in a patient with double BRAF mutation (V600E; V600M) metastatic malignant melanoma. Ponti et al. Journal of Hematology & Oncology (2012)
7	The somatic affairs of BRAF: tailored therapies for advanced malignant melanoma and orphan non-V600E (V600R-M) mutations. Ponti et al. Journal of Clinical Pathology (2013)
8	Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Clinical Laboratory Waste Management; Approved Guideline – Tercera edición. CLSI document GP05-A3 [ISBN 1-56238-744-8]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2011)
9	Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of lab workers from occupational acquired infections; Approved Guideline – Cuarta edición. Documento CLSI M29- A4 [ISBN 1-56238-961-0]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2005)
10	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 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2005)

9.1 Símbolos utilizados

SÍMBOLO	SE USA PARA
	Número de catálogo
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro.
	Fabricante
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
	Código de lote
	Consulte las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> Tests
	No reutilizar
	No usar si el envase está dañado
	Número de paciente
	Marca CE
GTIN	Identificador único de dispositivo (número de identificación de comercio global)
	Icono del código clave (keycode). El código impreso junto a este icono se utiliza para obtener documentación de usuario.






10 Datos de contacto

6606

ASISTENCIA	TELÉFONO	CORREO ELECTRÓNICO
Atención al cliente y Asistencia técnica	+32 15 632 888 Fax: +32 15 632 692	customerservice@biocartis.com

INDICACIÓN AL CONSUMIDOR

1. Por cualquier información puede consultar al siguiente teléfono: (011) 4555-4601 en el horario de 9.00 a 18.00 de Lunes a Viernes. Personal de BIOARS S.A. estará a vuestra disposición.
2. La mercadería viaja por cuenta y riesgo del destinatario. Todo reclamo será atendido según lo prevee el "Manual de procedimiento para reclamos técnicos y devolución de mercadería" que BIOARS S. A. pone a disposición del Cliente.

Establecimiento Elaborador Biocartis NV Generaal de Wittelaan 11 B3 2800 Mechelen, Bélgica.
 Establecimiento Importador BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
 Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica-
 Matrícula Nacional N° 7028
 Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T.
 N° de Certificado:

[Handwritten signature]
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAS. ...
 DIR. ...



ORIGINAL



idylla

Instrucciones de uso

Idylla™

KRAS Mutation Test

es



Biocartis NV
Generaal de Wittelaan 11 B3
2800 Mechelen, Belgium
www.biocartis.com



BCT006183

REF

A0020



IVD

Para uso diagnóstico *in vitro*.

06/2016



BIOCARTIS

Handwritten signature

BIOARS S.A.
BIOO. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO

Handwritten mark

Información de copyright

© Biocartis NV, 2015. Todos los derechos reservados. Ninguna parte de la presente publicación se puede reproducir, transmitir, transcribir ni traducir a ningún idioma o lenguaje informático, de ningún modo ni por ningún medio sin el previo consentimiento por escrito de Biocartis NV. El producto solo se puede utilizar de acuerdo con los Términos y Condiciones de venta de Biocartis (los que se le han proporcionado al adquirir el producto), lo que incluye los términos de derechos otorgados bajo licencia (lo que puede y lo que no puede hacer), de garantía y de uso del software. Lea atentamente los presentes Términos y Condiciones de Biocartis antes de hacer cualquier uso del producto.



Biocartis NV
Generaal De Wittelaan 11 B3
2800 Mechelen
Bélgica
Teléfono: +32 15 632 888
www.biocartis.com

Este Idylla™ KRAS Mutation Test contiene tecnología PlexZyme y PlexPrime protegida por las patentes concedidas y en trámite en determinadas jurisdicciones, suministradas bajo licencia de SpeeDx Pty Ltd.

Biocartis se reserva el derecho de modificar sus productos y servicios en cualquier momento. Si bien los productos han sido preparados para garantizar su precisión, Biocartis no asume ninguna responsabilidad por los errores, inexactitudes u omisiones que pudieran surgir en estas instrucciones de uso (IDU), por el uso del Idylla™ KRAS Mutation Test sin haber leído estas instrucciones de uso, ni por el uso del Sistema Idylla™ sin haber leído la documentación del Sistema.

La marca comercial y el logotipo de Biocartis son marcas comerciales de Biocartis que se utilizan y están registradas en Europa.

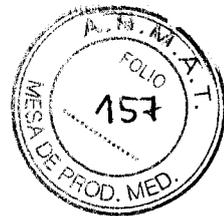
Idylla es una marca comercial registrada en los Estados Unidos y otros países. La marca comercial y el logotipo de Idylla son marcas comerciales en uso que pertenecen a Biocartis.

PlexZyme y PlexPrime son marcas comerciales de SpeeDx Pty Ltd.

VERSIÓN	PUBLICACIÓN	LISTA DE ACTUALIZACIONES
1	06/2015	Primera versión para CE-IVD
2	09/2015	Actualización a sección Rendimiento
3	06/2016	<ul style="list-style-type: none">Actualización a sección Requisitos relacionados con las muestras.Actualización a sección Rendimiento.Correcciones menores en todas las IDU.

CG

4



Contenidos

1 Idylla™ KRAS Mutation Test	5
1.1 Nombre	5
1.2 Uso previsto	5
1.3 Resumen y explicación del Test	6
1.3.1 Antecedentes	6
1.3.2 Principios del procedimiento	6
1.3.3 Principios del TTP	8
2 Contenido del producto	9
2.1 Materiales suministrados	9
2.2 Materiales requeridos pero no suministrados	9
2.3 Almacenamiento y manipulación de los Cartuchos	10
3 Tipo de muestra, almacenamiento y preparación	11
3.1 Requisitos relacionados con las muestras	11
3.2 Almacenamiento	12
3.3 Preparación de la muestra	13
3.3.1 Portaobjetos de vidrio montados con tejido FFPE	13
3.3.2 Cortes de tejido parafinado (FFPE)	13
4 Realizar un Test	14
5 Resultados	17
5.1 Mutación detectada en los codones 12, 13, 59, 61, 117 o 146 de KRAS	17
5.1.1 Mutación en el CODÓN 12	17
5.1.2 Mutación en el CODÓN 13	18
5.1.3 Mutación en el CODÓN 59	18
5.1.4 Mutación en el CODÓN 61	18
5.1.5 Mutación en el CODÓN 117	19
5.1.6 Mutación en el CODÓN 146	19
5.2 No se detectó mutación en los codones 12,13,59,61,117,146 de KRAS	19
5.3 No válido	20
6 Control de calidad	21
7 Limitaciones	22
8 Rendimiento	23
8.1 Sensibilidad analítica	23

CS

E

Claudia Etcheves
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TÉCNICO

BIOCARTIS

8.2 Especificidad analítica 24

8.3 Reproducibilidad 25

 8.3.1 Reproducibilidad entre laboratorios 25

 8.3.2 Reproducibilidad entre lotes 25

8.4 Precisión: rendimiento del KRAS en comparación con un método de referencia 26

8.5 Sustancias de interferencia 30

8.6 Conmutabilidad 31

9 Referencias 32

 9.1 Símbolos de uso habitual 33

10 Datos de contacto 34

66016



1 Idylla™ KRAS Mutation Test

1.1 Nombre

Idylla™ KRAS Mutation Test
Nombre corto: KRAS

1.2 Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*.
Para ser usado en el Sistema Idylla™ de Biocartis.

El Idylla™ KRAS Mutation Test, realizado en el Sistema Idylla™ de Biocartis, es un test de diagnóstico *in vitro* para la detección cualitativa de mutaciones en los codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146 del oncogén *KRAS*. El Idylla™ KRAS Mutation Test, desde la muestra hasta el resultado, comienza con tejido de cáncer colorrectal (CCR) humano fijado con formol e incluido en parafina (FFPE), que libera ADN para la posterior amplificación mediante PCR y detección en tiempo real.

Σ

CS

Claudia Etchever
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHÉVEZ
DIRECTOR TÉCNICO

1.3 Resumen y explicación del Test

1.3.1 Antecedentes

Cerca del 45 % de los tumores colorrectales metastásicos contienen mutaciones en los exones 2, 3 y 4 del oncogén *KRAS* (1). Según ESMO (1), NCCN (2), y las recientes directrices CAP/AMP/ASCO (3), el genotipado de mutaciones clínicamente relevantes con una sensibilidad del 5 % (3) en el exón 2 (codones 12 y 13), el exón 3 (codones 59 y 61) y el exón 4 (codones 117 y 146) es ahora obligatorio para tejidos tumorales (tanto primarios como con metástasis) en todos los cánceres colorrectales metastásicos.

1.3.2 Principios del procedimiento

El Sistema Idylla™ de Biocartis cubre el proceso completo desde la muestra hasta el resultado con una preparación de la muestra completamente integrada seguida de una amplificación de la PCR en tiempo real y detección de las secuencias objetivo. El Sistema Idylla™ consta de la Consola Idylla™ conectada a uno o más Instrumentos Idylla™. Los Cartuchos Idylla™, se pueden procesar en el Sistema Idylla™ utilizando software específico para (Paquete de Tip Test, KRAS TTP). El software específico para KRAS Idylla™ analiza automáticamente los datos de PCR obtenidos.

i INFORMACIÓN

Para obtener una descripción completa del Sistema Idylla™, consulte el Manual del Operario de Idylla™.

El Idylla™ KRAS Mutation Test detecta mutaciones en los exones 2, 3 y 4 del oncogén *KRAS*. El Test consta de cinco reacciones PCR multiplexadas específicas para un alelo, diseñadas para amplificar de forma específica secuencias del gen *KRAS* con una mutación en los codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146.

Simultáneamente, se amplifica un fragmento conservado en la región de unión intrón 4/exón 5 del gen *KRAS*. Esta reacción PCR sirve como control de procesamiento de la muestra (SPC, Sample Processing Control), que comprueba la ejecución adecuada del proceso completo desde la muestra hasta el resultado, y está presente en cada una de las cinco reacciones multiplexadas. Además, esta reacción de control es una medida de la cantidad de ADN amplificable en la muestra y se utiliza en el análisis del estado de mutación de la muestra.

Los Cartuchos del KRAS Mutation Test están listos para usar y contienen los reactivos necesarios para llevar a cabo la preparación de la muestra, la amplificación mediante PCR y la detección en tiempo real, comenzando a partir de la inserción de secciones de tejido FFPE.

Los pasos del proceso del Test son los siguientes:

- **Licucción y lisis celular de FFPE:**

Tras la inserción de la sección de tejido FFPE en el Cartucho, una combinación de reactivos químicos, enzimas, calor y ultrasonido focalizado de alta intensidad (HIFU) induce la desparafinación, el trastorno del tejido y la lisis de células. Se liberan los ácidos nucleicos para la posterior amplificación mediante PCR.

- **PCR en tiempo real con cebadores específicos de alelo:**

Amplificación del ADN y detección fluorescente de secuencias objetivo *KRAS*. Los reactivos PCR necesarios para detectar mutaciones en los codones 12 y 13 en el exón 2, codones 59 y 61 en el exón 3, y codones 117 y 146 en el exón 4 del oncogén *KRAS* están presentes en una formulación estable.

La detección de estos objetivos específicos se realiza con sondas de etiquetado fluorescente. Durante la amplificación y detección específicas se genera unas señales fluorescentes que se analizan por el software específico para KRAS (TTP) y se traducen a llamadas genéticas.

Al final de la ejecución, se muestra en la pantalla de la Consola un resultado que indica la presencia o ausencia de una mutación específica en el gen KRAS en la muestra analizada.

La siguiente tabla recoge las mutaciones detectadas por el Idylla™ KRAS Mutation Test.

GEN	EXÓN	CODÓN	MUTACIÓN	AMINOÁCIDO CAMBIO	ADN CODIFICANTE CAMBIO	LLAMADA GENÉTICA KRAS IDYLLA™
KRAS	2	12	G12C	p. Gly12Cys	c.34G>T	G12C
			G12R	p.Gly12Arg	c.34G>C	G12R
			G12S	p.Gly12Ser	c.34G>A	G12S
			G12A	p.Gly12Ala	c.35G>C	G12A
			G12D	p.Gly12Asp	c.35G>A	G12D
			G12V	p. Gly12Val	c.35G>T	G12V
		13	G13D	p.Gly13Asp	c.38G>A	G13D
	3	59	A59E	p.Ala59Glu	c.176C>A	A59T/E/G
			A59G	p.Ala59Gly	c.176C>G	
			A59T	p.Ala59Thr	c.175G>A	
		61	Q61K	p.Gln61Lys	c.181C>A	Q61K
			Q61K	p.Gln61Lys	c.180_181delinsAA	
			Q61L	p.Gln61Leu	c.182A>T	Q61R/L
			Q61R	p.Gln61Arg	c.182A>G	
			Q61H	p.Gln61His	c.183A>C	Q61H
		Q61H	p.Gln61His	c.183A>T		
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		

i INFORMACIÓN

Prevalencia en la tabla anterior: las mutaciones individuales se muestran como un porcentaje del número total de mutaciones (Ref. 4 y 5)

BIOARS S.A.
BIOO. CLAUDIA ETCHEVERS
DIRECTOR TÉCNICO

idylla

1.3.3 Principios del TTP

El TTP específico para KRAS analiza automáticamente las señales fluorescentes recopiladas. El resultado se presenta en la pantalla de la Consola.

Las señales fluorescentes obtenidas se evalúan con respecto a la validez de las curvas PCR. Se calcula un valor de ciclo de cuantificación (Cq) para cada curva válida.

Las señales del control de procesamiento de la muestra se utilizan para verificar que se ha completado adecuadamente el proceso desde la muestra hasta el resultado. La presencia de un genotipo mutante se determina calculando la diferencia entre el Cq del control de procesamiento de la muestra de KRAS y el Cq obtenido para las señales mutantes de KRAS. Esta diferencia entre la señal de control KRAS y la señal mutante se define como ΔCq .

La señal mutante en KRAS se considera válida si el valor ΔCq se encuentra dentro de un intervalo predefinido, con lo que la muestra se notificará como positiva para la mutación en KRAS (Mutación detectada). Se notificará la mutación específica.

Todas las muestras con una señal de control KRAS válida pero con un valor ΔCq fuera del intervalo predefinido se notificarán como negativas para la mutación en KRAS (No se detectó mutación).

INFORMACIÓN

Consulte el capítulo Resultados



2 Contenido del producto

2.1 Materiales suministrados

Se proporcionan los siguientes materiales al comprar KRAS Tests:

- Idylla™ KRAS Mutation Test. El embalaje del producto (n.º de Cat.: A0020/6) contiene 6 Tests. Los Cartuchos vienen envasados de forma individual en una bolsa sellada. Cada Cartucho contiene los reactivos necesarios para realizar un solo KRAS Test. El Cartucho es estanco para los líquidos, lo que impide el contacto entre el usuario que realiza el Test y los reactivos que están en el interior del Cartucho.

Los siguientes materiales se pueden obtener a través del sitio web del fabricante, como se indica en la etiqueta, o contando con la organización local del fabricante:

- Paquete de Tipo Test (TTP) KRAS.
- Instrucciones de uso del Idylla™ KRAS Mutation Test.

2.2 Materiales requeridos pero no suministrados

Los siguientes materiales son necesarios para realizar el KRAS Test, pero no se proporcionan con el Test:

- Instrumento Idylla™ (N.º de Cat. P0010) y Consola (N.º de Cat. P1010)
- Filtros de papel Whatman (GE Healthcare: grado 1: 500 círculos de 10 mm. N.º de Cat.: 1001-6508)
- Portaobjetos de vidrio
- Agua libre de nucleasas (por ej., Sigma-Aldrich, Reactivo de biología molecular, N.º de Cat.: W4502)
- Pinzas de punta roma (preferiblemente pinzas no estriadas)
- Agente limpiador (ej.: etanol 70 %)
- Cuchillas (ej.: cuchilla sencilla [cuchillas científicas GEM], distribuidor SPI, N.º de Cat.: 05025-AB/05025-MB)

ⓘ PRECAUCIÓN

Evite la contaminación entre muestras limpiando concienzudamente después de cada uso las herramientas que se utilizan repetidamente para manipular las muestras, como las pinzas.

Claudia Etocheves
BIOARS S.A.
BIOO. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO

2.3 Almacenamiento y manipulación de los Cartuchos

Tras su recepción, almacene los Cartuchos del Idylla™ KRAS Mutation Test dentro del intervalo de temperaturas que se indica en las etiquetas del producto. Asegúrese de que los Cartuchos se hayan atemperado a 18-25 °C antes de usarlos.

Los Cartuchos no utilizados permanecerán estables hasta la fecha caducidad indicada en la etiqueta si se guardan bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas y se mantienen en el envase en el que se entregan, es decir, en la bolsa sellada.

PRECAUCIÓN

- Cuando se almacene en un refrigerador, saque un Cartucho una hora antes para que atempere a la temperatura de funcionamiento adecuada.
- Compruebe la fecha de caducidad impresa en el Cartucho antes de usarlo.
- La fecha de caducidad reflejada es la última fecha en la que se puede usar el Cartucho.
- Utilice el Cartucho en un rango de 8 horas tras la apertura de la bolsa.
- No utilice un Cartucho si la bolsa está perforada o presenta otras señales de daños.
- No utilice un Cartucho que evidencie cualquier daño visible. No utilice un Cartucho que se haya caído.
- Es necesario manipular los Cartuchos y las muestras en una superficie limpia y descontaminada.
- Una vez que se inserte una muestra en el Cartucho, manténgalo nivelado.
- No abra la tapa del Cartucho hasta que esté listo para realizar un Test.
- No intente volver a abrir la tapa del Cartucho después de insertar una muestra y haber cerrado la tapa, ni tampoco después de una ejecución del Test.
- Los derrames se deben manejar de acuerdo con las instrucciones que se describen en el Manual del Operador de Idylla™.
- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los Cartuchos utilizados, como posibles agentes infecciosos. Las directrices para la manipulación, el almacenamiento y la eliminación de muestras están disponibles en los documentos del Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Trate los Cartuchos sin usar o expirados como desechos peligrosos.
- No reutilice los Cartuchos procesados. Los Cartuchos son de un solo uso.
- No someta los Cartuchos sin empaquetar a temperaturas que superen los 25 °C ni a una humedad relativa superior al 65 %.
- Siga los procedimientos de seguridad de su institución para la manipulación de muestras biológicas. Use un equipo de protección personal apropiado.
- No exceda la cantidad de muestra permitida: 600 mm² para secciones de tejido FFPE de 5 µm y 300 mm² para secciones de tejido FFPE de 10 µm.

ADVERTENCIA

El Sistema está diseñado de tal manera que las sustancias solo entrarán en contacto con y estarán seguras dentro del Cartucho.

En el caso poco probable de un Cartucho con fugas, maneje con guantes y use gafas de protección que cierren herméticamente. Evite inhalar los vapores mediante una ventilación adecuada.

306



3 Tipo de muestra, almacenamiento y preparación

Recoja las muestras de acuerdo con los procedimientos estándares del laboratorio. Las directrices para la recolección, el transporte, la preparación y el almacenamiento de las muestras para los métodos moleculares están disponibles en los documentos del Clinical and Laboratory Standards Institute.

1 PRECAUCIÓN

Manipule las secciones de tejido parafinado (FFPE) con cuidado para obtener resultados precisos. Es crucial evitar la contaminación cruzada entre muestras.

3.1 Requisitos relacionados con las muestras

Se deben seguir los procedimientos estándares de fijación en formalina e inclusión en parafina. Fije las muestras de tejido tan pronto como sea posible y limite los tiempos de fijación preferiblemente a menos de 24 horas y a un máximo de 48 horas para reducir el riesgo de fragmentación y desaminación extrema del ADN.

Se pueden usar secciones de tejido FFPE de 5 μ m a 10 μ m como muestra en el Idylla™ KRAS Mutation Test.

E

CB

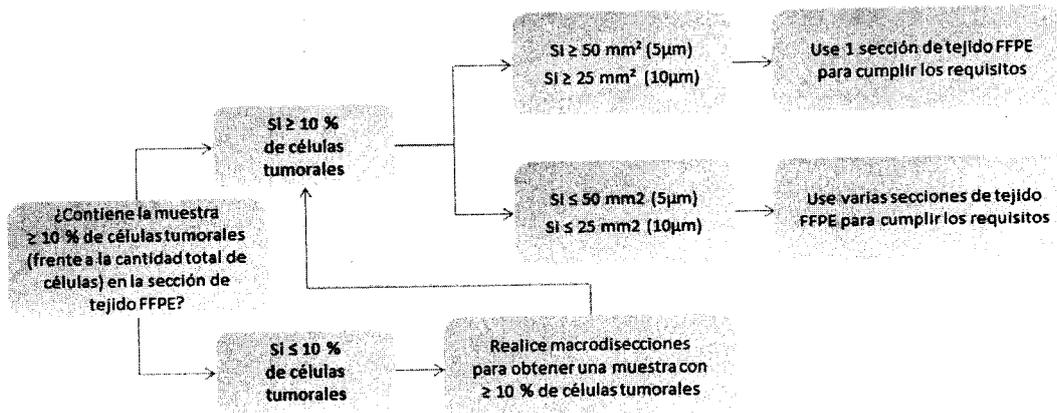

BIOARS S.A.
BIOO. CLAUDIA ETCHEVER
DIRECTOR TECNICO

Según la evaluación histopatológica con hematoxilina y eosina (HE), se aplican los siguientes criterios para la selección de muestras:

- La muestra debe contener $\geq 10\%$ de células tumorales, según indique un anatomopatólogo. Esta cantidad puede alcanzarse realizando una macrodissección.
- El área de tejido de la muestra de parafina FFPE debe tener **como mínimo**:
 - 50 mm^2 cuando se usen secciones de tejido FFPE de $5\text{ }\mu\text{m}$
 - 25 mm^2 cuando se usen secciones de tejido FFPE de $10\text{ }\mu\text{m}$.

Se pueden usar varias secciones de tejido FFPE para cumplir con este requisito.

- El área de tejido de la muestra de parafina FFPE debe tener **como máximo**:
 - 600 mm^2 cuando se usen secciones de tejido FFPE de $5\text{ }\mu\text{m}$
 - 300 mm^2 cuando se usen secciones de tejido FFPE de $10\text{ }\mu\text{m}$.



PRECAUCIÓN

Para realizar la macrodissección, utilice un escalpelo exclusivo por muestra u otra herramienta adecuada para evitar la contaminación cruzada entre muestras.

3.2 Almacenamiento

Las secciones de tejido FFPE de entre $5\text{ }\mu\text{m}$ y $10\text{ }\mu\text{m}$ pueden almacenarse a $15\text{-}30\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta un máximo de 60 días antes de utilizarlas en el Idylla™ KRAS Mutation Test.

3.3 Preparación de la muestra

1 PRECAUCIÓN

Tenga en cuenta que el Cartucho debe usarse en las ocho horas siguientes a la apertura de la bolsa, tanto si ha añadido una muestra como si no.

3.3.1 Portaobjetos de vidrio montados con tejido FFPE

Para preparar una muestra de un portaobjetos con tejido FFPE montado sobre vidrio, siga estas instrucciones:

PASO	ACCIÓN
1	Humedezca dos filtros de papel con agua libre de nucleasas. Utilice pinzas para colocarlos en un portaobjetos de vidrio.
2	Con una navaja nueva, raspe la sección de tejido FFPE (macrodissección) del vidrio.
3	Transfiera el material FFPE raspado a uno de los filtros de papel humedecidos.
4	De manera opcional, si usa más de una sección de tejido, repita los pasos 2 y 3, utilizando la misma navaja (hasta que se hayan alcanzado los requisitos mínimos de tejido tumoral). i INFORMACIÓN Consulte el capítulo Requisitos relacionados con las muestras
5	Utilice pinzas para colocar el segundo filtro de papel humedecido sobre el material FFPE.
6	Deseche la navaja.
7	Continúe con el capítulo Realizar un Test

3.3.2 Cortes de tejido parafinado (FFPE)

Para preparar una muestra de un corte de tejido parafinado (FFPE), siga estas instrucciones:

PASO	ACCIÓN
1	Humedezca dos filtros de papel con agua libre de nucleasas. Use pinzas para colocar los filtros de papel humedecidos sobre un portaobjetos de vidrio.
2	Utilice pinzas para colocar un o más cortes de tejido parafinado (FFPE) en uno de los filtros de papel humedecidos (hasta que se hayan alcanzado los requisitos mínimos de tejido tumoral). i INFORMACIÓN Consulte el capítulo Realizar un Test
3	Utilice pinzas para colocar el segundo filtro de papel humedecido sobre el corte de tejido parafinado (FFPE)
4	Continúe con el capítulo Realizar un Test

CS

Claudia Echeverri

BIOARS S.A.
BIOQ CLAUDIA ECHEVERRI
DIRECTOR TÉCNICO

4 Realizar un Test

i INFORMACIÓN

Consulte el Manual del Operador de Idylla™ para ver una explicación más detallada sobre cómo preparar el Cartucho y ejecutar un Test.

Las instrucciones siguientes asumen que el Instrumento y la Consola Idylla™ están encendidos, que hay al menos un Instrumento disponible para el procesamiento y que el usuario ha iniciado la sesión en la Consola.

C

CS

6606



PASO	ACCIÓN
1	<p>Abra la bolsa del Cartucho con cuidado y sáquelo.</p> <p>! PRECAUCIÓN</p> <p>No utilice objetos puntiagudos para abrir la bolsa.</p> <p>Manipule el Cartucho en un intervalo de 8 horas después de la apertura de la bolsa sellada.</p>
2	Presione Nuevo Test en la Consola.
3	<p>Escanee el código de barras asociado a la muestra (tubo) con el lector de códigos de barras de la Consola.</p> <p>- O BIEN -</p> <p>Complete manualmente la identificación de la muestra en el campo correspondiente.</p>
4	Escanee el código de barras 2D ubicado en la parte superior del Cartucho con el lector de códigos de barras de la Consola.
5	De manera opcional, puede escribir un comentario sobre la muestra o el Test y que aparecerá en el informe de los resultados del Test.
6	Presione Confirmar para terminar la solicitud del Test.
7	Prepare la muestra cómo se describe en el capítulo Tipo de muestra, almacenamiento y preparación.
8	Sostenga el Cartucho por el cuerpo y tire de la tapa para abrirla.
9	<p>Use pinzas para recoger la muestra preparada, incluidos los filtros de papel, y transfírala a la apertura del Cartucho.</p> <p>Coloque la muestra con cuidado en la almohadilla para la lisis que está situada en la parte inferior del Cartucho, bajo la apertura del Cartucho.</p> <p>! PRECAUCIÓN</p> <p>Asegúrese de colocar la muestra en el medio de la almohadilla para la lisis con el fin de garantizar un correcto funcionamiento del Test.</p> <p>Asegúrese de no tocar la almohadilla para la lisis con las pinzas o con los dedos.</p>
10	Saque el clip y cierre el Cartucho empujando la tapa de manera firme para asegurar que se cierre de manera correcta. Tire suavemente de la tapa que está fijada.
11	<p>Escoja un Instrumento que esté disponible para el procesamiento.</p> <p>! CONSEJO</p> <p>La luz blanca alrededor de la bandeja del Instrumento que sugiere el Sistema parpadea.</p>
12	Presione el botón de abrir y cerrar de la bandeja para abrir el Instrumento.
13	Coloque el Cartucho en la bandeja.
14	<p>Presione el botón de abrir y cerrar de la bandeja para cerrar el Instrumento.</p> <p>El Test se inicia automáticamente. El anillo de luz blanca en el Instrumento está constantemente encendido.</p>
15	Limpie todos los materiales usados que entraron en contacto con la muestra, por ejemplo, las pinzas, con un paño humedecido con etanol al 70 % para evitar la transferencia entre una muestra y otra.
16	En la Consola, se muestra el tiempo de procesamiento.

Claudia Etcheverri
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVERRI
 DIRECTOR TÉCNICA

	<p>i INFORMACIÓN</p> <p>El tiempo de procesamiento de un Idylla™ KRAS Mutation Test es de aproximadamente 124-135 minutos.</p>
17	Una vez procesado el Cartucho, vea los resultados del Test en la Consola.
18	Deseche el Cartucho usado según los procedimientos del laboratorio.
	<p>i Información</p> <p>Las directrices para la eliminación de desechos están disponibles en los documentos del Clinical and Laboratory Standards Institute.</p>

U

CB



5 Resultados

El Sistema Idylla™ interpreta automáticamente los resultados del Test y los pone a disposición del usuario para poder visualizarlos en la Consola.

El Idylla™ KRAS Mutation Test puede informar de tres resultados posibles:

- No se detectó mutación en los codones 12, 13, 59, 61, 117 o 146 de KRAS
- Mutación detectada en los codones 12, 13, 59, 61, 117 o 146 de KRAS
- No válido

Cuando se detecta una mutación, se proporciona más información sobre el tipo de mutación.

5.1 Mutación detectada en los codones 12, 13, 59, 61, 117 o 146 de KRAS

Cuando se detecta una mutación, los resultados se muestran en la Consola como se indica a continuación:

- Proteína: indica la mutación según la nomenclatura de la Human Genome Variation Society (HGVS).
- Cambio de nucleótido: indica los cambios de nucleótidos y su posición en el gen KRAS.

5.1.1 Mutación en el CODÓN 12

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 12 DE KRAS
Mutación	G12A
Proteína	p.Gly12Ala
Cambio nucleotídico	c.35G>C

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 12 DE KRAS
Mutación	G12C
Proteína	p.Gly12Cys
Cambio nucleotídico	c.34G>T

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 12 DE KRAS
Mutación	G12D
Proteína	p.Gly12Asp
Cambio nucleotídico	c.35G>A

Handwritten signature/initials

Handwritten signature
 BIOARS S.A.
 BIOG. CLAUDIA ETCHEVERE
 DIRECTOR TÉCNICO

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 12 DE KRAS
Mutación	G12R
Proteína	p.Gly12Arg
Cambio nucleotídico	c.34G>C

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 12 DE KRAS
Mutación	G12S
Proteína	p.Gly12Ser
Cambio nucleotídico	c.34G>A

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 12 DE KRAS
Mutación	G12V
Proteína	p.Gly12Val
Cambio nucleotídico	c.35G>T

5.1.2 Mutación en el CODÓN 13

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 13 DE KRAS
Mutación	G13D
Proteína	p.Gly13Asp
Cambio nucleotídico	c.38G>A

5.1.3 Mutación en el CODÓN 59

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 59 DE KRAS
Mutación	A59T/E/G
Proteína	p.Ala59Thr / p.Ala59Glu / p.Ala59Gly
Cambio nucleotídico	c.175G>A / c.176C>A / c.176C>G

5.1.4 Mutación en el CODÓN 61

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 61 DE KRAS
Mutación	Q61H
Proteína	p.Gln61His
Cambio nucleotídico	c.183A>C ; c.183A>T



GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 61 DE KRAS
Mutación	Q61K
Proteína	p.Gln61Lys
Cambio nucleotídico	c.181C>A ; c.180_181delinsAA

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 61 DE KRAS
Mutación	Q61R/L
Proteína	p.Gln61Arg / p.Gln61Leu
Cambio nucleotídico	c.182A>G / c.182A>T

5.1.5 Mutación en el CODÓN 117

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 117 DE KRAS
Mutación	K117N
Proteína	p.Lys117Asn
Cambio nucleotídico	c.351A>C ; c.351A>T

5.1.6 Mutación en el CODÓN 146

GENOTIPO KRAS	SE DETECTÓ MUTACIÓN EN EL CODÓN 146 DE KRAS
Mutación	A146P/T/V
Proteína	p.Ala146Pro / p.Ala146Thr / p.Ala146Val
Cambio nucleotídico	c.436G>C / c.436G>A / c.437C>T

5.2 No se detectó mutación en los codones 12,13,59,61,117,146 de KRAS

Cuando no se detecta mutación, los resultados se muestran en la Consola de la siguiente manera:

GENOTIPO KRAS	NO SE DETECTÓ MUTACIÓN EN LOS CODONES 12,13,59,61,117,146 DE KRAS
---------------	---

La presencia de una mutación en los codones 12, 13, 59, 61, 117 o 146 de KRAS no se excluye cuando la Consola muestra un resultado **No se detectó mutación en los codones 12,13,59,61,117,146 de KRAS**. Esto se debe a que el resultado depende de

- la integridad del ADN de la muestra,
- el porcentaje de secuencias mutantes presentes en la muestra,
- la ausencia de sustancias inhibitoras y
- la presencia de suficiente ADN amplificable.

Claudia Etchevego
 BIOARKS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHAVEGO
 DIRECTOR TÉCNICO

5.3 No válido

Esto indica que el resultado obtenido para la muestra se desvía de lo esperado. Esto puede deberse a diversos motivos:

MOTIVO	POSIBLES CAUSAS
Muestra	Presencia de inhibidores en la muestra, insuficiente ADN amplificable presente en la muestra, posición incorrecta de una muestra en un Cartucho o volumen de la muestra fuera de rango.
Cartucho	Los Cartuchos almacenados de manera incorrecta, Cartuchos utilizados que superaban el período de uso después de extraerlos de la bolsa o mal funcionamiento del Cartucho.

Por los motivos anteriormente mencionados, no puede notificarse un resultado.

GENOTIPO KRAS	NO VÁLIDO
Observación	Repetir Test con un nuevo Cartucho

E

CS

6606



6 Control de calidad

Los materiales de control externo se pueden usar para el control de calidad, las pruebas de competencia, la formación y otros fines. Los controles de KRAS basados en muestras parafinadas (FFPE) están disponibles comercialmente en Horizon Discovery Ltd. (<http://www.horizondx.com>). Los siguientes productos están disponibles en Horizon Discovery Ltd. en varias frecuencias alélicas:

- KRAS G12A
- KRAS G12C
- KRAS G12D
- KRAS G12R
- KRAS G12S
- KRAS G12V
- KRAS G13D
- KRAS Q61H
- KRAS Q61L
- KRAS A146T
- KRAS de tipo salvaje

Hay nuevas mutaciones disponibles de manera frecuente. Visite la página web de Horizon Discovery para obtener más información.

Estas muestras artificiales de FFPE se envían como cortes de tejido parafinado (FFPE) en tubos separados y se deben manipular y procesar exactamente de la misma forma descrita en Cortes de tejido parafinado (FFPE).

BIOARÍS S.A.
BIOG. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO

7 Limitaciones

Las siguientes limitaciones se aplican al Idylla™ KRAS Mutation Test:

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Solo para uso profesional. El producto solo debe ser utilizado por personal debidamente formado.
- El Idylla™ KRAS Mutation Test se ha validado para que pueda usarse con el Sistema Idylla™.
- Para garantizar resultados fiables, el Sistema Idylla™ se debe mantener según lo descrito en el Manual del Operador de Idylla™.
- El Idylla™ KRAS Test se debe utilizar de acuerdo con estas instrucciones. El usuario deberá validar cualquier desviación con respecto a las instrucciones.
- El Idylla™ KRAS Mutation Test no debe utilizarse para el diagnóstico ni para fines de seguimiento.
- El tipo de muestra validado para el Idylla™ KRAS Mutation Test consiste en secciones de tejido FFPE procedentes de lesiones tumorales colorrectales.
- El área de tejido recomendada para el Idylla™ KRAS Mutation Test es de $\geq 50 \text{ mm}^2$ para secciones de tejido FFPE de $5 \mu\text{m}$ y de $\geq 25 \text{ mm}^2$ para secciones de tejido FFPE de $10 \mu\text{m}$, con un porcentaje de células tumorales preferiblemente del 10 % o mayor. Cuando se utilicen muestras que no cumplan estos criterios, es posible que los resultados no sean fiables ni válidos.
- En caso de heterogeneidad de muestras o de múltiples mutaciones, solo se informa de la mutación detectada de manera dominante. Se debería tener en cuenta la heterogeneidad de la interlesión.
- Una recolección y manipulación incorrectas de la muestra pueden dar lugar a un ADN degradado y desaminado, lo que puede afectar a los resultados obtenidos con el Test.
- El uso de material teñido con eosina puede generar resultados no válidos.



8 Rendimiento

Las siguientes características de rendimiento se encuentran dentro del alcance:

- Sensibilidad analítica (Límite de detección)
- Especificidad analítica
- Reproducibilidad
- Sustancias de interferencia
- Precisión: rendimiento del Idylla™ KRAS Mutation Test en comparación con un test de referencia

8.1 Sensibilidad analítica

El límite de detección (LOD, por sus siglas en inglés) viene definido por el menor número de copia de la mutación en KRAS que, con un 95 % de confianza, puede ser detectado consistentemente en ≥ 95 % de los tests. Este LOD depende de la frecuencia alélica y de la cantidad de tejido analizado. Los valores del LOD de las mutaciones en KRAS detectadas por el Idylla™ KRAS Mutation Test se establecieron mediante la realización de pruebas de series de dilución de las mutaciones en KRAS individuales con una determinada frecuencia alélica y los datos del número de copia conocido. Las series de dilución se prepararon con los siguientes materiales:

- Muestras licuadas de FFPE con mutaciones artificiales en KRAS con un número de copia de gen *KRAS* conocido.
- Muestras licuadas de FFPE de mutaciones artificiales de tipo salvaje en KRAS con un número de copia de gen *KRAS* conocido.
- Oligonucleótidos de ADN objetivo sintéticos con mutaciones en KRAS.

Se produjeron muestras con mutaciones licuadas de FFPE de mutaciones artificiales de tipo salvaje en KRAS a partir de muestras de FFPE que se corresponden a las secciones de 5 μm con un área de 58 mm^2 . Para las mutaciones en KRAS G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D, Q61H, Q61L y A146T, las muestras con una frecuencia alélica del 5 % (o del 1 % para G12R) se prepararon con la mezcla de material licuado de FFPE con mutación en KRAS y material licuado de FFPE con mutación de tipo salvaje en KRAS con la frecuencia alélica deseada. Por consiguiente, estas muestras se utilizan para generar series de dilución dobles.

Para las mutaciones Q61K (variantes c.180_181delinsAA), K117N (variante c.351A>T), y A59E, el ADN objetivo sintético se añadió al material licuado de FFPE con mutación de tipo salvaje en KRAS con la frecuencia alélica deseada.

Se prepararon series de dilución dobles en 12 partes y se probaron en Cartuchos de Idylla™ KRAS Mutation Test diferentes. Las cantidades analizadas fueron equivalentes a 58 mm^2 bajando hasta 3,6 mm^2 , es decir el equivalente de la sección FFPE de 1,0 a 0,063 con un grosor de 5 μm y un área total de 58 mm^2 . Los números de copia de las mutaciones en KRAS en estas series de dilución de frecuencia alélica oscilan de 900 a 56 por reacción PCR. Se utilizaron tasas de llamada de mutación para estas series de dilución para determinar el LOD mediante regresión logística.

Los valores LOD determinados se confirmaron mediante pruebas sobre 27 réplicas al límite superior correspondiente de 98 % de intervalo de confianza con los cartuchos de tres lotes de Idylla™ KRAS Mutation Test (9 réplicas por lote).

Esta situación resultó en una tasa de positividad de al menos el 95 % para los números de copia de mutaciones en KRAS pretendidos, como se muestra en la Tabla 1.

CBS

E

Claudia Etchever
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVERE
 DIRECTOR TÉCNICO

MUTACIÓN EN KRAS	MATERIAL MUTANTE EN KRAS	FRECUENCIA ALÉLICA	NÚMERO DE COPIA CON MUTACIÓN EN KRAS CON UN 95 % DE TASA DE POSITIVIDAD		
			N.º DE COPIA	EQUIVALENTE A UN ÁREA DE TEJIDO (MM ² DE UNA SECCIÓN DE TEJIDO DE 5µM TISSUE)	TASA DE POSITIVIDAD
G12A	Muestra de FFPE	5%	450	29,0	27/27
G12C	Muestra de FFPE	5%	56	3,6	27/27
G12D	Muestra de FFPE	5%	113	7,3	27/27
G12R	Muestra de FFPE	1%	90	5,8	27/27
G12S	Muestra de FFPE	5%	225	14,5	27/27
G12V	Muestra de FFPE	5%	225	14,5	27/27
G13D	Muestra de FFPE	5%	900	58,0	27/27
A59E	Objetivo sintético	5%	56	3,6	26/27
Q61H	Muestra de FFPE	5%	113	7,3	27/27
Q61K	Objetivo sintético	5%	225	14,5	27/27
Q61L	Muestra de FFPE	5%	113	7,3	27/27
K117N	Objetivo sintético	5%	56	3,6	27/27
A146T	Muestra de FFPE	5%	900	58,0	27/27

1. Tabla: Valores del LOD confirmados y equivalentes del área del tejido correspondiente.

8.2 Especificidad analítica

El análisis *in silico* de la secuencia del genoma humano no identificó reactividad para ninguno de los cebadores de oligonucleótidos fuera del gen *KRAS* que pudiera resultar en una formación o detección no específicas del amplicón. Esto excluye la reactividad cruzada de los cebadores del *KRAS* Mutation Test con homólogos de la secuencia en el gen *NRAS* o el pseudogén *KRAS P1*.

El examen de las mutaciones observadas en el gen humano *KRAS* mediante análisis *in silico*, identificaron tres mutaciones fuera de los codones objetivo del Idylla™ *KRAS* Mutation Test que pudieran conllevar falsos positivos para Idylla™ *KRAS* Mutation Test, es decir p.G10_A11insG (c.30_31insGGA), p.C118S (c.353G>C) y p.G60D (c.179G>A), respectivamente. Sin embargo, su prevalencia es baja y la probabilidad de un resultado falso positivo es pequeña, por no decir insignificante.

Se identificaron variantes conocidas de mutaciones de *KRAS* objetivo del Idylla™ *KRAS* Mutation Test en el análisis SNP *in silico* para que el Idylla™ *KRAS* Mutation Test las detectara e informara de ellas correctamente. Las únicas excepciones que no detectarán son tres variantes poco frecuentes para G12D (c.35_36delinsAC), G12V (c.35_36delinsTC) y Q61R (c.182_183delinsGT), respectivamente.

De las mutaciones conocidas en los codones cubiertos por el Idylla™ *KRAS* Mutation Test pero para los que no se diseñaron principalmente los cebadores, el test detectará e informará de la mutación G12W (c.34_36delinsTGG) como G12C y las mutaciones G13N (c.37_38delinsAA) y G13E (c.38_39delinsAA o c.38_39delinsAG) conllevarán una llamada G13D. El resto de variantes darán como resultado **No se detectó mutación**.

8.3 Reproducibilidad

8.3.1 Reproducibilidad entre laboratorios

La reproducibilidad del Idylla™ KRAS Mutation Test se evaluó mediante un panel compuesto por las siguientes cuatro muestras de FFPE artificiales:

- Muestras de FFPE KRAS G12D con una frecuencia alélica del 5%*.
- Muestras de FFPE KRAS G12S con una frecuencia alélica del 5%*.
- Muestras de FFPE KRAS G12V con una frecuencia alélica del 5%*.
- Muestras de FFPE KRAS G13D con una frecuencia alélica del 50%*.

* Frecuencias alélicas superiores al LOD y basadas en la disponibilidad comercial de los estándares de referencia de FFPE.

Para evaluar la reproducibilidad entre laboratorios, entre días, entre operadores y entre instrumentos, las muestras se probaron en 3 instalaciones distintas y en cada una de ellas por duplicado en 2 Instrumentos Idylla™ distintos durante 5 días, por 2 operadores distintos, para un total de 120 resultados del Test por muestra. El análisis de discrepancia con modelado lineal mixto no muestra ningún efecto o muestra efectos desdeñables para las diferentes fuentes de variación. Los resultados del análisis cualitativo, basado en las llamadas de mutación en KRAS obtenidas, se muestran en la Tabla 2.

MUESTRA	ACUERDO (PORCENTAJE)	INTERVALO DE CONFIANZA DEL 95 % (PORCENTAJE)
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]

2. Tabla: Resultados de reproducibilidad entre laboratorios.

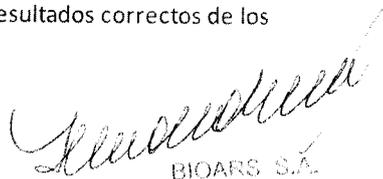
8.3.2 Reproducibilidad entre lotes

Se realizó un estudio sobre la reproducibilidad entre lotes para el Idylla™ KRAS Mutation Test. Se analizó el panel de especímenes con tres lotes distintos. Los Tests los realizaron dos operadores en 25 Instrumentos durante 3 días y para cada muestra se probaron 25 réplicas por lote. Los resultados acumulados para los tres lotes se resumen en la Tabla 3.

MUESTRA	ACUERDO (PORCENTAJE)	INTERVALO DE CONFIANZA DEL 95 % (PORCENTAJE)
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]

3. Tabla: Resultados de la reproducibilidad entre lotes basados en tres lotes.

Sobre todas las muestras en KRAS con mutaciones y los lotes Idylla™ KRAS Mutation Test, la reproducibilidad de llamada del genotipo del Idylla™ KRAS Mutation Test fue del 100 % (375/375 resultados correctos de los test).


 BIOARS S.A.
 BIOD. CLAUDIA ETCHEVEZ
 DIRECTORA TÉCNICA
 idylla

8.4 Precisión: rendimiento del KRAS en comparación con un método de referencia

Durante un estudio retrospectivo, se evaluó el rendimiento del Idylla™ KRAS Mutation Test sobre muestras procedentes de pacientes con cáncer colorrectal (CCR) metastásico. Para la comparación, se analizó el mismo conjunto de muestras de pacientes con un test de referencia.

En el primer estudio, 252 muestras de pacientes se analizaron con el Idylla™ KRAS Mutation Test y un ensayo PCR de referencia para la detección de mutaciones en los codones 12 y 13 del gen KRAS. Con el test de referencia se obtuvieron 57 resultados no válidos, mientras que el Idylla™ KRAS Mutation Test obtuvo 9 resultados no válidos, 8 de los cuales también resultaron no válidos con el método de referencia. Un total de 194 muestras dieron resultados válidos con ambos métodos (consulte la Tabla 4).

MUESTRAS DE CCR (N = 194)	TEST DE REFERENCIA								TOTAL	
	IDYLLA™ KRAS MUTATION TEST	G12A	G12C	G12D	G12R	G12S	G12V	G13D		NO SE DETECTÓ MUTACIÓN
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
No se detectó mutación	1							97		98
A59E/P/V								1		1
Q61H/H2								3		3
Q61K/K2										0
Q61L/R										0
K117N1/N2								2		3
A146T/V/P								4		5
Total	7	7	25	3	8	16	16	112		194

4. Tabla: Idylla™ KRAS Mutation Test frente al test de referencia de PCR.

La zona gris abarca las mutaciones en KRAS detectadas por el Idylla™ KRAS Mutation Test a las que no se dirigió el test de referencia de PCR. Se aplicó la macrodissección en las muestras con un porcentaje de células tumorales menor al 25 %.

En 10 de las 194 muestras, el Idylla™ KRAS Mutation Test detectó una mutación en los codones 59, 61, 117 o 146, mientras que el método de referencia (que no fue diseñado para detectar mutaciones humanas en estos codones) las clasificó como **No se detectó mutación**.

El test de referencia clasificó 5 de las muestras como **No se detectó mutación**, mientras que el Idylla™ KRAS Mutation Test detectó mutaciones en los codones 12 y 13.

8.4 Precisión: rendimiento del KRAS en comparación con un método de referencia

0608



El Idylla™ KRAS Mutation Test clasificó una de las muestras como negativa para mutaciones en los codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146, clasificados como positivos para la mutación G12A por el test de referencia. El Idylla™ KRAS Mutation Test identificó una mutación en los codones 117 y 146 para 2 de las muestras, mientras que el método de referencia informó de una mutación en el codón 12.

El análisis de concordancia de los resultados de los tests se muestra en la Tabla 5.

Dado que el test de referencia no detecta mutaciones en KRAS en los codones 59, 61, 117 y 146, los resultados discordantes para esos codones (n = 12) se han excluido.

Con 6 resultados discordantes en la colección de muestras restantes, 176 de 182 resultados de los Idylla™ KRAS Mutation Test coincidieron totalmente con los obtenidos con el método de referencia. El porcentaje de coincidencia total entre los dos métodos es del 96,7 % (intervalo de confianza del 95 %: 93,0 %-98,5 %) para la mutaciones en KRAS en los codones 12 y 13.

El porcentaje negativo de concordancia en este estudio de la precisión fue del 95,1 % (intervalo de confianza del 95 %: 89,0 %-97,9 %), el porcentaje positivo de concordancia fue del 98,8 % (intervalo de confianza del 95 %: 93,2 %-99,8 %).

MUESTRAS DE CCR (N = 182)	TEST DE REFERENCIA		
	Idylla™ KRAS Mutation Test	Mutación en KRAS	No se detectó mutación
Mutación en KRAS	79	5*	84
No se detectó mutación	1	97	98
Total	80	102	182

5. Tabla: Rendimiento del Idylla™ KRAS Mutation Test en comparación con el test de referencia.

*1 muestra positiva mediante el análisis de discordancia NGS.

Dadas las limitaciones del material disponible (n = 2) o la calidad insuficiente del ADN (n = 3), solo uno de los 6 resultados discordantes de pueden resolver. La presencia de la mutación G12V detectada mediante Idylla™ KRAS Mutation Test en una muestra reportada como **No se detectó mutación** por el método PCR de referencia, se confirmó mediante la secuenciación de última generación dirigida (NGS) como G12V, lo que dio como resultado 117 resultados correctos de Idylla™ KRAS Mutation Test. Una vez resuelto este resultado discordante, el porcentaje de coincidencia total mejoró hasta el 97,3 % (intervalo de confianza del 95 %: 93,7% - 98,8%). El porcentaje negativo de concordancia aumentó al 96,0 % (intervalo de confianza del 95 %: 90,3%-98,4 %), el porcentaje positivo de concordancia permaneció en el 98,8 % (intervalo de confianza del 95 %: 93,2 %-99,8 %). En un segundo estudio, se analizaron 204 muestras de pacientes con el Idylla™ KRAS Mutation Test y la NGS dirigida como método de referencia, detectando porcentajes relativos bajando hasta el 1 % de alelo mutante en comparación con el alelo de tipo salvaje. Para este método de referencia se obtuvo un resultado no válido, el Idylla™ KRAS Mutation Test reportó 5 resultados no válidos, incluyendo el que también dio como resultado no válido en el método de referencia. Un total de 199 muestras dieron resultados válidos para ambos métodos (Tabla 6).

Handwritten initials/signature.

Claudia Echeverre
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ECHEVERRE
 DIRECTOR TÉCNICO

MUESTRAS DE CCR (N = 199)	MÉTODO DE REFERENCIA DE NGS													
	Idylla™ KRAS Mutation Test	G12A	G12C	G12D	G12R	G12S	G12V	G13D	Q61H/H2	A146T/V/P	NO SE DETECTÓ MUTACIÓN	G13R	A59V	TOTALES
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
A59E/P/V														0
Q61H/H2								5						5
Q61K/K2														0
Q61L/R														0
K117N1/N2														0
A146T/V/P									8		1			9
No se detectó mutación	1		2		1	3					105	1	1	114
Total	5	4	16	2	5	31	12	5	8		109	1	1	199

6. Tabla: Idylla™ KRAS Mutation Test frente al método de referencia de NGS.

La zona gris abarca las mutaciones en KRAS detectadas mediante secuenciación a las que no se dirigió el Idylla™ KRAS Mutation Test. Se aplicó la macrodissección en las muestras con un porcentaje de células tumorales menor al 10 %.

En dos muestras de 199, se detectó una mutación en los codones 13 y 59 respectivamente, pero el método de referencia considerando que el Idylla™ KRAS Mutation Test (que no fue diseñado para reportar estas mutaciones) clasificó a estas muestras como **No se detectó mutación**

El método de referencia clasificó cuatro muestras como **No se detectó mutación**, mientras que el Idylla™ KRAS Mutation Test detectó mutaciones en los codones 12, 13 y 146.

El Idylla™ KRAS Mutation Test reportó 7 muestras como **No se detectó mutación** mientras que el método de referencia los clasificó como positivos para la mutación G12A, G12D (n = 2), G12S, o G12V (n = 3).

El análisis de concordancia de los resultados de los tests se muestra en la Tabla 7. Dado que el Idylla™ KRAS Mutation Test no detecta mutaciones en KRAS G13R y A59V, se excluyeron los resultados discordantes para esas muestras (n = 2). Con 11 resultados discordantes en la colección de muestras restantes, 186 de 197 resultados de los Idylla™ KRAS Mutation Test coincidieron totalmente con los obtenidos con el método de referencia.

El porcentaje de coincidencia total entre los dos métodos es del 94,4 % (intervalo de confianza del 95 %: 90,3%-96,9 %) para la mutaciones en KRAS en los codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146.

8.4 Precisión: rendimiento del KRAS en comparación con un método de referencia

6606



El porcentaje negativo de concordancia en este estudio de la precisión fue del 93,6,3 % (intervalo de confianza del 95 %: 90,9 %-98,6 %), el porcentaje positivo de concordancia fue del 92,0 % (intervalo de confianza del 95 %: 84,5 %-96,1 %).

MUESTRAS DE CCR (N = 197)	MÉTODO DE REFERENCIA DE NGS			
	Idylla™ KRAS Mutation Test	Mutación en KRAS	No se detectó mutación	Total
Mutación en KRAS	81	4*		85
No se detectó mutación	7**		105	112
Total	88		109	197

7. Tabla: Rendimiento del Idylla™ KRAS Mutation Test en comparación con el método de referencia de NGS.

*3 muestras positivas mediante el análisis de discordancia ddPCR.

**5 muestras positivas mediante el análisis de discordancia ddPCR.

Las muestras que revelaron un resultado discordante (Tabla 7) se volvieron a analizar mediante una PCR digital en gotas (ddPCR, por sus siglas en inglés). Para tres de cuatro muestras para las que se encontraron mutación mediante el Idylla™ KRAS Mutation Test y el NGS reportó un genotipo de tipo salvaje en KRAS, se confirmaron las mutaciones mediante ddPCR. Para 5 de las 7 muestras para las que la NGS reportó una mutación y no se encontraron mutaciones con el Idylla™ KRAS Mutation Test, se confirmaron las mutaciones mediante ddPCR. Una vez resuelto el resultado discordante, 191 resultados de Idylla™ KRAS Mutation Test resultaron correctos y el porcentaje de coincidencia total mejoró hasta el 97,0 % (intervalo de confianza del 95 %: 93,5 % - 98,6 %). El porcentaje negativo de concordancia aumento al 99,1 % (intervalo de confianza del 95 %: 94,9% - 99,8%), el porcentaje positivo de concordancia aumento al 94,4 % (intervalo de confianza del 95 %: 87,5 % - 97,6 %).

[Handwritten mark]

[Handwritten mark]

[Handwritten signature]
 BIOARS S.A.
 BIOG. CLAUDIA ETCHEVEG
 DIRECCIÓN TÉCNICA

8.5 Sustancias de interferencia

Se investigó el efecto potencial del tejido necrótico en el rendimiento del Idylla™ KRAS Mutation Test en dos estudios retrospectivos mediante el análisis de 252 y 204 secciones de tejido FFPE de pacientes con cáncer colorrectal metastásico (CCR), respectivamente. En las muestras con necrosis en hasta un 10 % (n = 403) o un 11-25 % (n = 39) o 26-50 % o superior (n = 14) del área del tejido FFPE analizado, se obtuvo un resultado del test válido para la mayoría de las muestras de cada categoría (Tabla 8), lo que indica que el tejido necrótico no interfiere con el Idylla™ KRAS Mutation Test.

PORCENTAJE DE TEJIDO NECRÓTICO EN EL ÁREA DEL TEJIDO DE LA MUESTRA FFPE	RESULTADOS			PORCENTAJE DE RESULTADOS VÁLIDOS
	MUESTRAS FFPE ANALIZADAS	VÁLIDO	NO VÁLIDO	
0-10 %	218	211	7	96,8%
11-25%	27	26	1	96,3%
26-50%	7	6	1	85,7%
TOTAL	252	243	9	96,4%

PORCENTAJE DE TEJIDO NECRÓTICO EN EL ÁREA DEL TEJIDO DE LA MUESTRA FFPE	RESULTADOS			PORCENTAJE DE RESULTADOS VÁLIDOS
	MUESTRAS FFPE ANALIZADAS	VÁLIDO	NO VÁLIDO	
0-10 %	185	180	5	97,3%
11-25%	12	12	0	100%
26-50%	5	5	0	100%
>50 %	2	2	0	100%
TOTAL	204	199	5	97,5%

8. Tabla: Validez de resultados del Idylla™ KRAS Mutation Test para muestras de FFPE con distintos niveles de necrosis. Se muestran los resultados a partir de dos estudios individuales.

Las llamadas del genotipo de KRAS a partir de los mismos estudios se compararon al estado de KRAS determinado con test de referencia con un ensayo PCR para KRAS o NGS dirigida. Los resultados concordaron en 362 de 379 muestras de FFPE analizadas en este estudio. La mayoría de los resultados discordantes se obtuvieron en muestras con bajo porcentaje de tejido necrótico, lo que demuestra que no existe correlación entre la presencia de tejido necrótico y resultados discordantes de la prueba. Los resultados discordantes se recogen en las Tablas 5 y 7.



PORCENTAJE DE TEJIDO NECRÓTICO EN EL ÁREA DEL TEJIDO DE LA MUESTRA FFPE	RESULTADOS			PORCENTAJE DE RESULTADOS CONCORDANTES
	MUESTRAS FFPE ANALIZADAS	CONCORDANTE	DISCORDANTE	
0-10 %	165	160	5	97,0%
11-25%	12	12	0	100,0%
26-50%	5	4	1	80,0%
TOTAL	182	176	6	96,7%

PORCENTAJE DE TEJIDO NECRÓTICO EN EL ÁREA DEL TEJIDO DE LA MUESTRA FFPE	RESULTADOS			PORCENTAJE DE RESULTADOS CONCORDANTES
	MUESTRAS FFPE ANALIZADAS	CONCORDANTE	DISCORDANTE	
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%
TOTAL	197	186	11	94,4%

9. Tabla: Concordancia del Idylla™ KRAS Mutation Test para muestras de FFPE con distintos niveles de necrosis. Se muestran los resultados a partir de dos estudios individuales.

8.6 Conmutabilidad

El Idylla™ KRAS Mutation Test puede rastrear el gen KRAS. Tanto el test de referencia de PCR como el Idylla™ KRAS Mutation Test detectan las mutaciones de tipo salvaje de los codones 12 y 13. Tanto la secuenciación de última generación dirigida como el Idylla™ KRAS Mutation Test detectan las mutaciones de tipo salvaje de los codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146. La incertidumbre del Test es muy baja, como muestran los estudios de reproducibilidad y los estudios comparativos de las muestras clínicas, ya que los resultados de 176 de las 182 y 186 de las 197 muestras analizadas fueron completamente concordantes.

Handwritten initials/signature

Handwritten signature

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVESE
DIRECTOR TÉCNICO

9 Referencias

REF. N.º	DETALLE
1	Beadling, C., Heinrich, M. C., Warrick, A., Forbes, E. M., Nelson, D., Justusson, E., et al. (2011). Multiplex Mutation Screening by Mass Spectrometry. <i>J Mol Diag</i> 13(5), 504–513. doi:10.1016/j.jmoldx.2011.04.003.
2	Lovly, C. M., Dahlman, K. B., Fohn, L. E., Su, Z., Dias-Santagata, D., Hicks, D. J., et al. (2012). Routine Multiplex Mutational Profiling of Melanomas Enables Enrollment in Genotype-Driven Therapeutic Trials. (K. Smalley, Ed.) <i>PLoS ONE</i> 7(4), e35309. doi:10.1371/journal.pone.0035309.t004.
3	Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). <i>Clinical Laboratory Waste Management; Approved Guideline – Third Edition</i> . CLSI document GP05-A3 [ISBN 1-56238-744-8]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2011)
4	Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). <i>Protection of lab workers from occupational acquired infections; Approved Guideline – Fourth Edition</i> . CLSI document M29- A4 [ISBN 1-56238-961-0]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2005)
5	Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). <i>MM13-A -- Collection Transport Preparation and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline</i> . CLSI document MM13-A [ISBN 1-56238-591-7]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2005)



9.1 Símbolos de uso habitual

SÍMBOLO	SE USA PARA
	Número de catálogo
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro.
	Fabricante
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
	Código de lote
	Consulte las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> Tests
	No reutilizar
	No usar si el envase está dañado
	Número de paciente/Id. de muestra
	Marca CE
	Identificador único de dispositivo (número de identificación de comercio global)
	Icono de código. El código impreso junto a este icono debe utilizarse cuando desee obtener documentación de usuario.

Handwritten marks and scribbles.

Handwritten signature
 BIOARE S.A.
 BIOQ. CLAUDIA STONEVEG
 DIRECTOR TÉCNICO

10 Datos de contacto

ASISTENCIA	DETALLES
Servicio de atención al cliente y Asistencia técnica al cliente	+32 15 632 888 Fax: +32 15 632 692 customerservice@biocartis.com
Documentación	Toda la documentación de usuario disponible se puede obtener en la página web de Biocartis o en los números de teléfono gratuitos incluidos en la Hoja de seguridad. www.biocartis.com (sección Order & Support) <ul style="list-style-type: none"> Suscríbase como cliente para tener acceso al área protegida de Biocartis e inicie sesión Encuentre toda la documentación y ayuda en el sitio del área protegida (TTP, otra información) www.biocartis.com/ifu <ul style="list-style-type: none"> Depósito de todas las IDU y Manual del Operador de Idylla™ Utilice el código clave que figura en el etiquetado del producto

INDICACIÓN AL CONSUMIDOR

- Por cualquier información puede consultar al siguiente teléfono: (011) 4555-4601 en el horario de 9.00 a 18.00 de Lunes a Viernes. Personal de BIOARS S.A. estará a vuestra disposición.
- La mercadería viaja por cuenta y riesgo del destinatario. Todo reclamo será atendido según lo prevee el "Manual de procedimiento para reclamos técnicos y devolución de mercadería" que BIOARS S.A. pone a disposición del Cliente.

Establecimiento Elaborador Biocartis NV Generaal de Wittelaan 11 B3 2800 Mechelen, Bélgica.
Establecimiento Importador BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica-
Matrícula Nacional N° 7028
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T.
N° de Certificado:

RESUMEN DE MANUAL DE INSTRUCCIONES Idylla System**1. Nombre comercial del producto**

Idylla System

Para uso diagnóstico "in vitro".

Conforme al anexo II de la disposición ANMAT N. 2674 los presentes productos pertenecen al **Grupo A** (productos para diagnóstico destinados a la detección de enfermedades no infectocontagiosas o no trasmisibles).

2. Uso del producto médico

El Sistema Idylla ha sido concebido para la detección de objetivos de ácido nucleico en diversos tipos de muestras humanas, mediante el uso de Cartridges desechables Idylla™ específicos para cada Test. Idylla™ abarca todo el proceso desde la muestra hasta el resultado, incluyendo, por ejemplo, licuación, lisis celular, extracción de ADN/ARN, amplificación/detección en tiempo real, análisis de datos y generación de informes.

Para uso diagnóstico "in vitro".**3. Descripción Del Producto Médico****3.1 Características generales del equipo**

El Sistema Idylla consta de una Console, que es la interfaz de usuario para el Instrument, para una aplicación de servicio remoto (cuando está conectada a internet) y, de manera opcional, a un Sistema de información del laboratorio (LIS); uno o más Instruments o el sistema que procesa los Tests y un Cartridge Idylla™ que es al contenedor desechable que contiene los reactivos necesarios para realizar un Test con el Sistema.

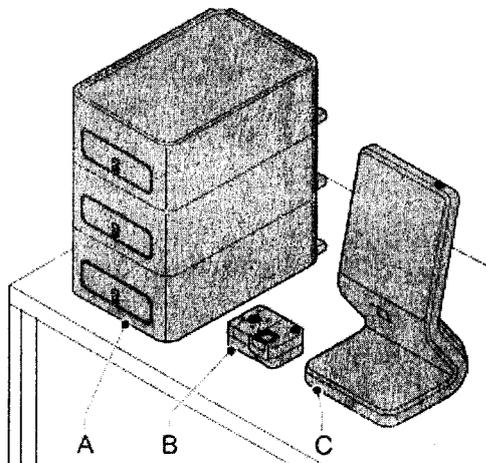


Figure 1. Vista frontal de un Sistema Idylla™ configurado con una pila de tres Instruments (A), un Cartridge (B) y una Console (C)

2.1 Console

La Console es la parte del Sistema que se utiliza para programar y administrar los Tests en el Instrument. La Console también actúa como una interfaz con el Sistema de información del laboratorio (LIS).

La Console incluye una pantalla táctil y un lector de códigos de barras.

CE

Claudia Etcheves

BIOARS S.A.
BIOO. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO

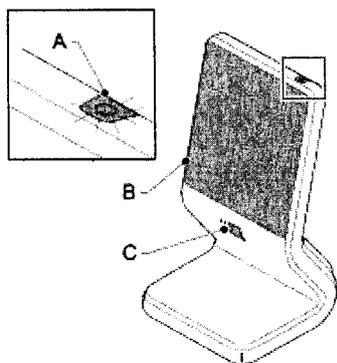


Figure 2. Vista frontal de la Console, con interruptor de encendido (A), pantalla (B) y lector de códigos de barras (C).

La Console permite al usuario administrar ejecuciones de Tests, un flujo de trabajo para crear sus solicitudes, supervisar su progreso y ver, publicar y exportar los resultados. Asimismo, debe usar la Console para configurar el Sistema (p. ej., cuentas de usuario, configuración del Sistema) y para llevar a cabo las tareas básicas de servicio y mantenimiento (p. ej., actualizaciones de software, Tests de autodiagnóstico).

La Console se puede conectar físicamente a:

- la red del laboratorio mediante el conector de interfaz LAN, marcado LAN,
- hasta a cuatro Instruments mediante los conectores de la interfaz, marcados INS,
- una impresora.

2.2 Instrument

El Instrument procesa los Cartridges específicos por Test de acuerdo con el Paquete de tipo de Test (o TTP) correspondiente. Un TTP es un paquete de software de Test específico. Cada Test tiene su propio Cartridge específico. Después del procesamiento, el resultado del Test se muestra en la Console. Cada Instrument contiene una bandeja para cargar un solo Cartridge.

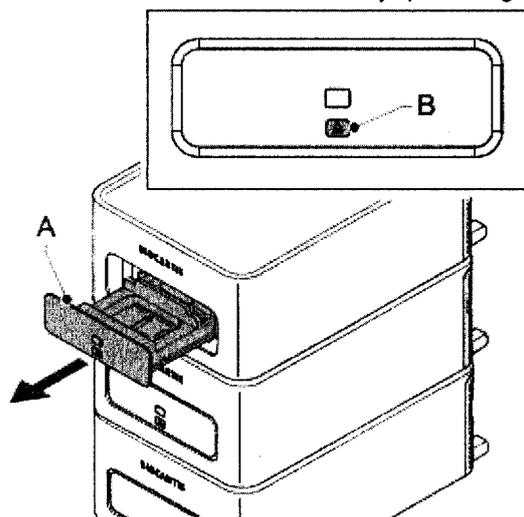


Figure 6. El Instrument con la bandeja del Instrument (A) y el botón de abrir y cerrar (B).

Se puede apilar un máximo de cuatro Instruments. Se puede conectar un máximo de ocho a una Console. Para conectar más de cuatro Instruments, es obligatorio usar un conmutador Ethernet® externo.

El panel frontal del Instrument actúa como la interfaz de usuario. En el panel frontal del Instrument, las luces brindan información sobre el estado del Instrument.

Handwritten marks:
CB
E

Handwritten signature:
Claudia Etcheves

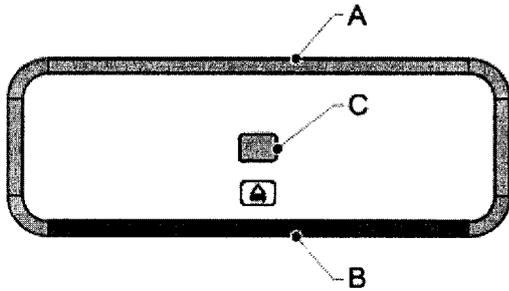


Figure 9. Indicadores LED del Instrument:

- A: anillo de luz blanca alrededor de la bandeja
- B: luces blancas y rojas debajo de la bandeja
- C: luz del Cartridge blanca en el medio de la bandeja

2.3 Cartridge

Los Cartridges son recipientes de un solo uso que incluyen los reactivos necesarios para realizar Tests específicos. Los pasos del proceso del Test de Idylla™ pueden incluir licuación de muestras, lisis celular, extracción de ADN/ARN, amplificación, detección, análisis de datos y generación de informes.

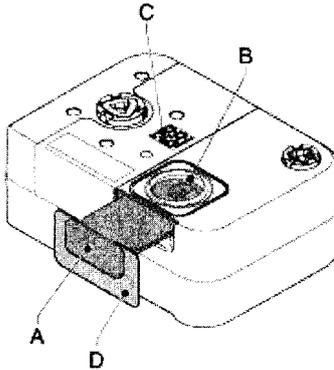


Figure 10. Vista superior de un Cartridge, con la tapa del Cartridge (A), abertura del Cartridge (B), código de barras 2D (C) y clip del Cartridge (D).

La muestra se transfiere al Cartridge tras abrir la tapa respectiva. Después de quitar el clip y cerrar la tapa, el Cartridge se carga en el Instrument para el procesamiento. Una vez que se ha insertado la muestra en el Cartridge y ha comenzado el Test, todas las tareas de preparación de la muestra y otros pasos del procesamiento se llevan a cabo dentro del Cartridge sellado y cerrado.

Después del uso, se considera que el Cartridge es un recipiente de desechos. Este recipiente se debe manipular de acuerdo con las normativas locales para la eliminación de desechos peligrosos.

El diseño de los Cartridges desechables puede ser ligeramente diferente, en función del método de transferencia de la muestra y del Test. Todos los Cartridges vienen envasados de forma individual en una bolsa sellada.

3.2 Principio del funcionamiento

Los pasos siguientes identifican un ciclo de funcionamiento típico:

- Cree una solicitud del Test en la Console.
- Una muestra se puede identificar al escanearla o introducirla manualmente mediante la pantalla táctil de la Console.
- Escanee el Test y complete la Solicitud del test.
- Inserte la muestra biológica en el Cartridge.
- Cargue el Cartridge en un Instrument disponible para su procesamiento.
- El Instrument acepta el Test y ejecuta el protocolo de Test designado previamente programado de acuerdo con el paquete de Tip Test (TTP) asociado.
- Al final de la ejecución del protocolo, el Instrument se procesa y envía los resultados a la Console para visualizarlos.

LS

E.

Handwritten signature

Para conocer los detalles de cada uno de los pasos, se debe recurrir al **Idylla™ System Manual del Operador**

4. Materiales Suministrados

Cada instrumento está equipado con:

- Console
- Instrument

Ambos componentes se adquieren por separado.

La cantidad de Instrument que se puede conectar a la Console son ocho (Ver Materiales necesarios no suministrados)

5. Materiales necesarios no suministrados

- Los Cartridges son adquiridos según el ensayo que se desee realizar.
- El conmutador Ethernet® necesario para conectar más de cuatro Instrument a la Console

6- Condiciones de almacenamiento

6.1 Requerimientos del ambiente para la operación

Para el correcto funcionamiento del equipo deben asegurarse las siguientes condiciones ambientales

- Temperaturas durante el funcionamiento: +15 °C a +30 °C
- Temperaturas durante el transporte y el almacenamiento: Alcance máximo de -40 °C a 70 °C.
- Humedad relativa durante el funcionamiento: HR máxima de 10 % a 80 % (sin condensación).}
- Humedad relativa durante el transporte y el almacenamiento: HR máxima de 5 % a 95 % (sin condensación).
- Presión atmosférica durante el funcionamiento: 80 a 106 kPa (altitud máxima: 2000 m).
- Presión atmosférica durante el transporte y el almacenamiento: 70 a 106 kPa.
- Nivel de contaminación: 2

7- Requisitos para la Instalación

Para asegurar el funcionamiento de los componentes deben asegurarse los siguientes requisitos:

- Instrument:
 - Fuente de alimentación: 100-240 V; 50/60 Hz
 - Consumo de energía: 200 W máx.
 - Sobretensión: Categoría II
- Console
 - Fuente de alimentación 100-240 V; 50/60 Hz
 - Consumo de energía Máx. 100 W
 - Sobretensión Categoría II
 - Conexión: Máx. 8 Instruments a 1 Console

8- Precauciones

Para uso diagnóstico in vitro.

A continuación se enumeran las precauciones de seguridad que se deben respetar al instalar, mantener y operar el Sistema.

8.1 Seguridad general

- Es obligatorio que el personal que utilice el Sistema reciba la formación apropiada.
- No utilice este dispositivo muy cerca de fuentes de radiación electromagnética fuerte (p. ej., fuentes de radiofrecuencia intencionales sin protección), ya que podrían interferir con el correcto funcionamiento del Sistema.
- Evite colocar el Sistema o los Cartridges empaquetados o sin empaquetar cerca de calefactores, conductos de refrigeración o bajo la luz directa del sol.
- No mire directamente las luces LED del lector de códigos de barras de la Console para evitar molestias.

8.2 Seguridad eléctrica

- Para evitar el riesgo de sufrir descargas eléctricas, no quite las cubiertas blancas del Instrument o de la Console. No utilice el Sistema cuando se haya dañado la cubierta exterior.
- Para evitar una descarga eléctrica, no exponga el Instrument o la Console a líquidos o humedad cerca de los conectores eléctricos.

Claudia Etcheves
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TÉCNICO

806

- Asegúrese de contar con un suministro eléctrico apropiado. Para garantizar un funcionamiento seguro, conecte el dispositivo solo a tomas con conexión a tierra de protección y capacidad de corriente adecuada. Asegúrese de que el suministro eléctrico tenga la tensión apropiada.
- Compruebe que puede acceder a las tomas de corrientes en todo momento. El Instrument y la Console se deben usar con los cables de alimentación provistos.
- Para evitar el peligro de incendio, mantenga grandes cantidades de líquidos inflamables lejos de las piezas eléctricas.
- Para poder desconectar la alimentación por completo en todo momento, no obstruya el acceso al interruptor de encendido que se encuentra en la parte posterior del Instrument.
- Un fallo de corriente podría ocasionar la pérdida de los datos y las muestras que se están procesando. Para evitar esta situación, asegúrese de que su laboratorio cuente con un suministro de alimentación suficiente en caso de que se produzcan cortes de energía.

8.3 Seguridad mecánica

- La parte delantera del Instrument debe estar libre de obstrucciones para que la bandeja pueda abrir y cerrar correctamente.

8.4 Seguridad frente a riesgos biológicos

- Al manipular muestras de pacientes, es posible que el Sistema y los Cartridges entren en contacto con materiales biológicamente peligrosos. Trate todas las muestras biológicas y los Cartridges utilizados como posibles transmisores de agentes infecciosos. La manipulación, el uso y el almacenamiento de las muestras, así como la eliminación de desechos líquidos y sólidos, se debe realizar de acuerdo con los procedimientos que cumplen con las directrices generales de seguridad en laboratorios para uso, almacenamiento y eliminación de desechos de productos químicos y conforme a las normativas o directrices nacionales pertinentes (por ejemplo, Protection of laboratory workers from occupational acquired infections; Approved Guideline – Third Edition (Protección de los trabajadores de laboratorios frente a infecciones adquiridas en el lugar de trabajo, Directriz aprobada - Tercera edición). Documento de CLSI M29-A3. Clinical laboratory waste management; Approved Guideline – Third Edition (Gestión de desechos en laboratorios clínicos, Directriz aprobada - Tercera edición). Documento de CLSI GP05-A3. Wayne, PA, EE. UU.: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)).
- Use gafas de seguridad, guantes e indumentaria de protección al manipular piezas y accesorios que pudieran entrar en contacto con muestras potencialmente infecciosas.

8.5 Simbología habitual

5

6

[Handwritten signature]

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO

1608



SÍMBOLO	SE USA PARA
	Marca CE
	Número de catálogo
	Código de lote
	Número de serie
	Corriente continua
	Corriente alterna
	Indica el nombre del fabricante del dispositivo médico, seguido de la fecha de fabricación y la dirección del fabricante
	<p>Residuos de equipos eléctricos y electrónicos</p> <p>! No deseche los aparatos como residuos urbanos sin clasificar. Recójalos por separado.</p> <p>Comuníquese con el departamento de Atención al cliente de Biocartis para la recolección de aparatos que considera residuos.</p> <p>Al seguir este procedimiento, contribuirá a la protección del medio ambiente y de la salud humana. El reciclado de materiales ayuda a preservar los recursos naturales.</p>
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Consultar las instrucciones de uso
	Advertencia
	Solo para la evaluación del rendimiento de IVD
	Fecha de caducidad
	No reutilizar

CS

E

Handwritten signature

	Contiene lo suficiente para un Test
	No usar cuando el envase esté dañado
	Limite de temperatura
	Número de paciente
	Botón de abrir y cerrar en la bandeja del Instrument
(Código de barras)	Funciona como un identificador único del dispositivo
	Solo para uso en investigación. No para uso en procedimientos de diagnóstico.
	I indica la posición ON (encendido) del interruptor de encendido del Instrument. O indica la posición OFF (apagado) del interruptor de encendido del Instrument.
	Indica el botón de encendido que se encuentra en la parte superior derecha de la Console.
	Frágil, manipular con cuidado
GTIN	Número de identificación de comercio global (Identificador único de dispositivo)
	Manténgase fuera de la luz del sol
	Manténgase seco
	Este lado hacia arriba.
	Icono de código (keycode). El código impreso junto a este icono debe utilizarse cuando desee obtener documentación de usuario.

CP

E

Yanet...

8606



9. Especificaciones Técnicas

9.1 Especificaciones técnicas del Instrument

- Dimensiones: 305 x 190 x 505 mm (ancho x alto x profundidad)
- Peso Máx.: 20 kg
- Capacidad de apilamiento: Máx. cuatro Instruments en pila vertical
- Fuente de alimentación: 100-240 V; 50/60 Hz
- Consumo de energía: 200 W máx.
- Sobretensión: Categoría II
- Nivel de ruido durante el funcionamiento: Máx. 54 dB(A)
- Ángulo de inclinación permitido: 2°

9.2 Especificaciones técnicas de la Console

- Dimensiones: 506 x 254 x 254 mm (altura x ancho x profundidad)
- Peso: 5,2 kg
- Fuente de alimentación: 100-240 V; 50/60 Hz
- Consumo de energía: Máx. 100 W
- Nivel de ruido: Máx. 49 dB(A)
- Sobretensión: Categoría II
- Conexiones: Máx. 8 Instruments a 1 Console, 4 interfaces Ethernet® marcadas con INS (use un conmutador Ethernet® para instalar más de cuatro Instruments) 4 interfaces USB marcadas con USB 1 interfaz LAN marcada con LAN
- Especificaciones para el conmutador Ethernet Conmutador Ethernet® Fast o Gigabit no administrado (preferentemente de 8 puertos), compatible con dispositivos FCC Clase B (p. ej., Netgear GS608)

9.3 Especificaciones del lector de códigos de barras

Las especificaciones siguientes definen los requisitos para los códigos de barras de los contenedores de muestras u otros códigos de barras que no sean de Idylla™ que puede leer el lector de códigos de barras de la Console:

- Lector de códigos de barras: códigos de barras lineales
 - Código 128 (ISO/IEC 15417:2007, CLSI AUTO2-A2 y CLSI AUTO7-A)
 - GS1 DataBar (ISO/IEC 24724:2011)
 - EAN/UPC (ISO/IEC 15420:2009)
 - Matriz de datos (ISO/IEC 16022)
 - PDF417 (ISO/IEC 15438)
 - Código QR (ISO/IEC 18004)
- Longitud/anchura | Códigos de barras 2D:
 - longitud lateral ≤ 20 mm
 - tamaño del módulo $\geq 0,339$ mm
 - Códigos de barras lineales:
 - longitud ≤ 50 mm
 - anchura de la barra estrecha $\geq 0,127$ mm
- Superficie: Códigos de barras lineales en superficies con un radio de curvatura $\geq 6,5$ mm
- Categoría de calidad
 - código de barras 2D: ≥ 2 (ISO/IEC 15415)
 - código de barras lineal: ≥ 2 (ISO/IEC 15416)

INDICACION AL CONSUMIDOR

Por cualquier información puede consultar al siguiente teléfono: (011) 45554601 en el horario de 9:00 a 18:00 de Lunes a Viernes. Personal de BIOARS S.A. estará a su disposición.

La mercadería viaja por cuenta y riesgo del destinatario. Todo reclamo será atendido según lo prevee el "Manual de procedimiento para reclamos técnicos y devolución de mercadería" que BIOARS S.A. pone a disposición del Cliente.

Establecimiento Elaborador Biocartis NV Generaal de Wittelaan 11 B3 B-2800 Mechelen, Bélgica
Establecimiento Importador BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. N° de Certificado:

BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHÉVES
DIRECTOR TÉCNICO