



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2019 - Año de la Exportación

Disposición

Número:

Referencia: 1-47-3110-2078/18-1

VISTO el expediente N° 1-47-3110-2078/18-1 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma BIOARS S.A. solicita autorización de modificación del registro del Producto para diagnóstico de uso “in vitro” denominado: **Idylla™ NRAS-BRAF Mutation Test**.

Que lo solicitado se encuadra dentro de los alcances de la Disposición ANMAT N° 2674/99 y la documentación aportada ha satisfecho los requisitos de la normativa aplicable.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que se autoriza la modificación solicitada.

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

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

**EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA**

DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la modificación del Certificado N° 1127-291 del producto para diagnóstico de uso in vitro denominado: **Idylla™ NRAS-BRAF Mutation Test**, autorizado según Disposición N° 1629/18.

ARTICULO 2°.- Acéptese la incorporación al certificado de la referencia del producto **2) Idylla™ NRAS Mutation Test**, con los datos característicos que figuran al pie de la presente; además de los ya autorizados.

ARTICULO 3°.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2019-75110705-APN-DNPM#ANMAT.

ARTICULO 4°.- Practíquese la atestación correspondiente en el Certificado de Inscripción N° 1127-291 cuando el mismo se presente acompañado de la presente Disposición.

ARTÍCULO 5°.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERISTICOS

NUEVO NOMBRE COMERCIAL: 1) **Idylla™ NRAS-BRAF Mutation Test**; 2) **Idylla™ NRAS Mutation Test**.

INDICACIÓN DE USO: 1) No modifica; 2) Test diagnóstico para la detección cualitativa de mutaciones de los codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146 del oncogen NRAS utilizando un ensayo de PCR a tiempo real en tejido fijado con formol e incluido en parafina.

FORMA DE PRESENTACIÓN: 1) No modifica; 2) Envases por 6 determinaciones, conteniendo: 6 cartuchos individuales.

PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN: 1) No modifica; 2) 9 (NUEVE) meses desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 30°C.

NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE: 1) y 2) Biocartis NV. Generaal De Wittelaan 11 B3. B – 2800 Mechelen. (BELGICA)

Digitally signed by BELLOSO Waldo Horacio
Date: 2019.10.10 10:23:54 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2019.10.10 10:23:57 -03:00



PROYECTO DE RÓTULOS EXTERNOS

Idylla NRAS Mutation Test

Etiqueta de la caja

idylla
by BIO CARTIS

BIO CARTIS

BIOCARTIS NV
Generaal De Wittelaan 11 B3
2800 Mechelen - Belgium

www.biocartis.com/fiu
BCT006934

Idylla™ NRAS Mutation Test

REF A0040/6 LOT 12345678 YYYYY-MM-DD

Σ_6 +2°C to +30°C

IVD **CE**

(01)15415219000338

(10)12345678(17)140210

8123-507-4308-1A
4304-050-1204-0A

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. PM-1127-291

Idylla NRAS Mutation Test, Biocartis

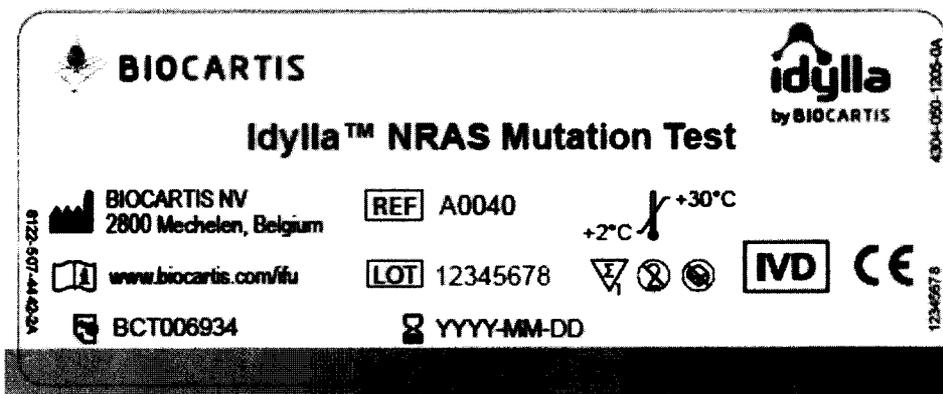
Claudia E. Etchevés
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TECNICO



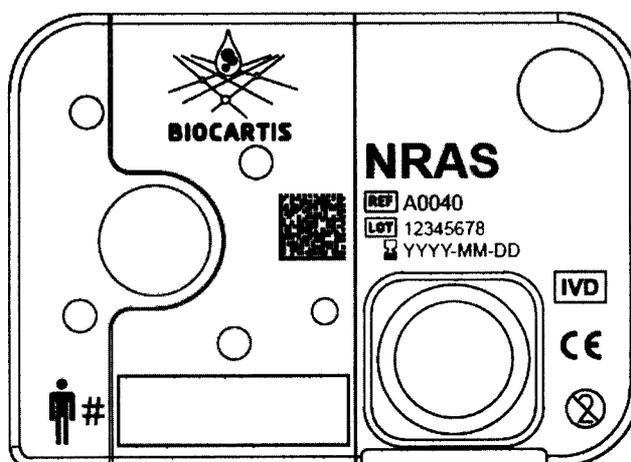
PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS



Rótulo del envase del cartucho



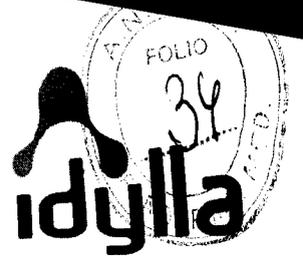
Rótulo del cartucho



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. PM-1127-291

Idylla NRAS Mutation Test, Biocartis

Claudia E. Etchevés
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVÉS
DIRECTOR TECNICO



Instrucciones de uso

idylla™ NRAS Mutation Test

es



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



BCT006934

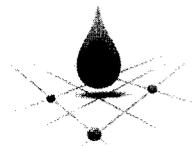


A0040/6



Para uso en diagnóstico *in vitro*

05/2017



BIOCARTIS

Claudia

BIOAKS
BIOQ. CLAUDIA
DIRECTOR

S.A.
ETCHEVEZ
TECNICO

Contenidos

1 Nombre	4
2 Uso previsto / Indicaciones de uso	4
2.1 Uso previsto	4
2.2 Indicaciones de uso	4
3 Antecedentes	5
4 Resumen y explicación del Test	6
4.1 Principios del procedimiento	6
4.2 Principios del software específico del Test	7
5 Contenido del producto	8
5.1 Materiales suministrados	8
5.2 Materiales requeridos pero no suministrados	9
6 Advertencias y precauciones	10
7 Almacenamiento y manipulación de los Cartuchos	11
8 Tipo de muestra, almacenamiento y preparación	12
8.1 Requisitos relacionados con las muestras	12
8.2 Almacenamiento	13
8.3 Preparación de la muestra	13
8.3.1 Cortes de tejido FFPE	13
8.3.2 Láminas con tejido FFPE montadas sobre vidrio	13
9 Realizar un Test	15
9.1 Procedimiento del Test	15
9.2 Control de calidad	16
10 Interpretación de los resultados	18
10.1 Resultados válidos	18
10.1.1 Mutación detectada en NRAS	19
10.1.2 Sin mutación en NRAS	19
10.1.3 Cq del control de NRAS	19
10.2 Resultado no válido	20
11 Limitaciones	21
12 Rendimiento	22
12.1 Sensibilidad analítica	22
12.2 Especificidad analítica	24



12.3 Reproducibilidad25

 12.3.1 Reproducibilidad entre laboratorios25

 12.3.2 Reproducibilidad entre lotes25

12.4 Precisión: Rendimiento del Idylla™ NRAS Mutation Test en comparación con un método de referencia26

12.5 Sustancias de interferencia27

12.6 Conmutabilidad28

13 Referencias29

14 Símbolos de uso habitual30

15 Datos de contacto31


Claudia Etcheve
BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA ETCHEVEZ
DIRECTOR TECNICO

1 Nombre

Nombre	Idylla™ NRAS Mutation Test
Nombre corto	NRAS

2 Uso previsto / Indicaciones de uso

2.1 Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Para ser usado en el Sistema Idylla™ de Biocartis.

El Idylla™ NRAS Mutation Test (IVD), 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 NRAS. El Idylla™ NRAS Mutation Test, ofrece todo lo necesario desde la muestra hasta el resultado. Comienza con la liberación de ADN del tejido de cáncer colorrectal (CCR) humano fijado con formalina e incluido en parafina (FFPE), seguido de la amplificación y detección mediante PCR en tiempo real.

2.2 Indicaciones de uso

El Idylla™ NRAS Mutation Test tiene como objetivo determinar el estado de la mutación en el gen NRAS del tumor en pacientes con cáncer colorrectal metastásico en el diagnóstico y facilitar decisiones sobre el tratamiento en un equipo multidisciplinar.

El Idylla™ NRAS Mutation Test no está diseñado para diagnosticar el cáncer colorrectal.



3 Antecedentes

La vía MAPK (RAS-RAF-MEK-ERK) es una de las vías más cruciales en la regulación de la proliferación y supervivencia de las células de cáncer. Se ha observado la activación constitutiva de la vía MAPK en los cánceres frecuentemente en varias neoplasias, a menudo debido a las mutaciones activadoras en los factores corriente arriba (*upstream*) como RAS y RAF (1, 2).

Las proteínas RAS son mediadores centrales corriente abajo (*downstream*) de la señalización del receptor del factor de crecimiento y, por lo tanto, son críticas para la proliferación celular, la supervivencia y la diferenciación.

Las mutaciones activadoras en el gen RAS pueden dar lugar a la activación constitutiva de la proteína RAS GTPasa, incluso en ausencia de la señalización del factor de crecimiento EGFR. El resultado es una señal de proliferación sostenida en la célula (1).

RAS ha participado en la patogenia de varios cánceres. Cerca del 50 % de los cánceres colorrectales (CCR) metastásicos contiene mutaciones en los exones 2, 3 y 4 del gen RAS (3) con la siguiente distribución de frecuencia: exón 2 del KRAS al 40 %; exón 3 del KRAS al 2 %; exón 4 del KRAS al 3 %; exón 2 del NRAS al 2 %; exón 3 del NRAS al 2 %; exón 4 del NRAS inferior al 1 %.

Según NCCN (4), ESMO (5), ASCO (6) y las directrices CAP/AMP/ASCO (7), el genotipado de mutaciones clínicamente viables con una sensibilidad del 5 % en el exón 2 (codones 12 y 13), el exón 3 (codones 59 y 61) y el exón 4 (codones 117 y 146) de los genes RAS es obligatorio para tejidos tumorales (tanto para tumores primarios como con metástasis) en todos los cánceres colorrectales metastásicos, dado que la presencia de estas mutaciones se corresponden con la falta de respuesta a las terapias de cáncer inhibitoras anti-EGFR (8).



4 Resumen y explicación del Test

4.1 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 mediante 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™, diseñados para aplicaciones específicas, se pueden procesar en el Sistema Idylla™ con paquetes de tipo de Test (TTP) específicos de la aplicación. El software específico para NRAS Idylla™ (NRAS TTP) analiza automáticamente los datos de PCR obtenidos. Se han validado el procedimiento del Test y los análisis de datos para las secciones de tejido FFPE.

i INFORMACIÓN

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

El Idylla™ NRAS Mutation Test consta de cinco reacciones PCR multiplexadas específicas para un alelo, diseñadas para amplificar de forma específica secuencias del gen *NRAS* con una mutación. Se amplifican simultáneamente dos controles de procesamiento de la muestra (SPC), es decir, (1) una región conservada del gen *NRAS* (llamada Total NRAS) y (2) una región conservada del gen *BRAF*. Estas reacciones PCR comprueban la ejecución adecuada del proceso completo desde la muestra hasta el resultado. Además, la Total NRAS 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. El SPC del gen *BRAF* se incluye para garantizar la validez de todas las reacciones PCR para la longitud del amplicón, que es de crucial importancia para las muestras muy fragmentadas. Si un SPC falla (por ejemplo, no hay ADN amplificable suficiente, la muestra está demasiado fragmentada), se obtendrá un resultado no válido. Los Cartuchos del NRAS están listos para usar y contienen los reactivos necesarios para llevar a cabo la preparación de la muestra, la amplificación y la detección mediante PCR 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 que usa los cebadores específicos para un alelo:**

Se amplifica el ADN, y las secuencias de destino se detectan mediante fluorescencia. Todos los reactivos PCR necesarios están presentes en una formulación estable, y se utilizan para detectar 18 mutaciones en codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146 del gen *NRAS*.

La detección de estos objetivos específicos se realiza con sondas de etiquetado fluorescente. Durante la amplificación y detección específicas se generan señales fluorescentes que se analizan mediante el NRAS TTP. Estas señales fluorescentes 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 *NRAS* en la muestra analizada.

En la siguiente tabla se recogen las mutaciones detectadas por el Idylla™ NRAS Mutation Test.

Tabla 1. Nomenclatura de las mutaciones en el NRAS detectadas por el Idylla™ NRAS Mutation Test.

GEN	EXÓN	CODÓN	MUTACIÓN	PROTEÍNA	CAMBIO DE NUCLEÓTIDO	LLAMADA GENÉTICA	
NRAS	2	12	G12D	p.Gly12Asp	c.35G>A	G12D	
			G12C	p.Gly12Cys	c.34G>T	G12C	
			G12S	p.Gly12Ser	c.34G>A	G12S	
			G12A	p.Gly12Ala	c.35G>C	G12A/V	
			G12V	p.Gly12Val	c.35G>T		
		13	G13D	p.Gly13Asp	c.38G>A	G13D	
			G13R	p.Gly13Arg	c.37G>C	G13R/V	
			G13V	p.Gly13Val	c.38G>T		
		3	59	A59T	p.Ala59Thr	c.175G>A	A59T
				61	Q61K	p.Gln61Lys	c.181C>A
	Q61R		p.Gln61Arg		c.182A>G	Q61R	
	Q61L		p.Gln61Leu		c.182A>T	Q61L	
	Q61H		p.Gln61His	c.183A>C c.183A>T	Q61H		
	4	117	K117N	p.Lys117Asn	c.351G>C	K117N	
					c.351G>T		
		146	A146T	p.Ala146Thr	c.436G>A	A146T/V	
	A146V		p.Ala146Val	c.437C>T			

4.2 Principios del software específico del Test

El software o TTP específico para el NRAS analiza automáticamente las señales fluorescentes recopiladas y utiliza los parámetros característicos derivados de los datos de las curvas PCR para clasificar la muestra como Mutación detectada / Sin mutación / No válido.

En un primer paso, las señales fluorescentes obtenidas de los controles de procesamiento de la muestra (SPC) se evalúan con respecto a la validez de las curvas PCR para determinar la validez del resultado y, por tanto, si se ha completado adecuadamente el proceso desde la muestra hasta el resultado. Se calcula un valor de ciclo de cuantificación (Cq) para cada curva válida y el valor ΔCq se define como la diferencia entre el Cq de los SPC del NRAS y el Cq obtenido para las señales mutantes del NRAS. El TTP determina la presencia de un genotipo mutante usando una serie de características de las curvas PCR con el valor ΔCq como parámetro principal. La señal mutante del NRAS se considera detectada si las características de las curvas PCR se encuentran dentro de un intervalo predefinido, con lo que la muestra se notificará como positiva para la mutación en el NRAS (Mutación detectada). Se llama a la primera señal mutante (es decir, el valor ΔCq más bajo). Se notificará la llamada genética específica como se indica en la tabla anterior. Las muestras con SPC válidos pero con características de las curvas PCR fuera del intervalo predefinido se notificarán como negativas para la mutación en el NRAS (Sin mutación). Los resultados se presentan en la pantalla de la Consola.



5 Contenido del producto

5.1 Materiales suministrados

Se proporcionan los siguientes materiales al comprar el Idylla™ NRAS Mutation Test:

- Cartuchos del Idylla™ NRAS Mutation Test (caja de seis, n° de cat.: A0040/6).
Los Cartuchos vienen envasados de forma individual en una bolsa sellada. Cada Cartucho contiene los reactivos necesarios para realizar un solo Idylla™ NRAS Mutation Test. El Cartucho está sellado, lo que impide el contacto entre el usuario que manipula el Test y los reactivos que están en el interior del Cartucho.
- Cada Cartucho contiene:
 - Tampón de licuación: 1,8 ml por Cartucho
 - Enzimas, cebadores y sondas (deshidratados)
- Las características físicas de los materiales proporcionados se mencionan en la siguiente tabla:

Tabla 2. Especificaciones de los materiales proporcionados en el Idylla™ NRAS Mutation Test.

ELEMENTO	ESPECIFICACIÓN
Peso medio del Cartucho dentro de la bolsa	117 g
Dimensiones del Cartucho	96,2 x 72,3 x 42,2 mm (longitud x ancho x profundidad)
Dimensiones de la caja de transporte (6 Cartuchos)	305 x 140 x 92 mm (longitud x ancho x profundidad)
Peso de la caja de transporte (6 Cartuchos)	1 kg
Material del Cartucho	Caja exterior de plástico ABS

5.2 Materiales requeridos pero no suministrados

Los siguientes materiales son necesarios para realizar un Idylla™ NRAS Mutation Test, pero no se suministran:

Tabla 3. Materiales necesarios para realizar un Idylla™ NRAS Mutation Test.

ELEMENTO	ESPECIFICACIÓN
Instrumento Idylla™	Nº de cat.: P0010
Consola Idylla™	Nº de cat.: P1010
NRAS Paquete de Tipo Test (TTP)	Disponible en el sitio web seguro de Biocartis https://secure.biocartis.com/#/  CONSEJO Necesitará crear una cuenta de usuario. Consulte el capítulo 15 Datos de contacto en la página 31.
NRAS Instrucciones de uso	Disponible en www.biocartis.com/ifu con el código BCT006934 (consulte también la etiqueta)
Filtros de papel Whatman	P. ej.: GE Healthcare: grado 1: 500 círculos de 10 mm. Nº de cat.: 1001-6508
Portaobjetos de vidrio	P. ej.: VWR International, portaobjetos de vidrio, nº de cat.:631-9434
Agua sin nucleasas	P. ej., Sigma-Aldrich, reactivo de biología molecular, nº de cat.: W4502
Pinzas	Preferiblemente pinzas no estriadas
Agente limpiador	P. ej., etanol al 70 %
Navajas	P. ej.: cuchilla sencilla (navajas científicas GEM), distribuidor SPI, nº de cat.: 05025-AB/05025-MB

INFORMACIÓN

Para obtener más información sobre el TTP o la descarga del Manual del Operador de Idylla™, Consulte el capítulo 15 Datos de contacto en la página 31. Las instrucciones de instalación de un TTP se incluyen en el Manual del Operador.



6 Advertencias y precauciones

Las siguientes advertencias y precauciones se aplican al Idylla™ NRAS Mutation Test:

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar el Test.
- Los derrames se deben manejar de acuerdo con las instrucciones que se describen en el Manual del Operador de Idylla™.
- No reutilice los Cartuchos procesados. Los Cartuchos son de un solo uso.
- No utilice muestras teñidas.
- El Sistema está diseñado de tal manera que las sustancias solo entrarán en contacto con el Cartucho y estarán seguras dentro de él. En el caso poco probable de un Cartucho con fugas, manéjelo con guantes y use gafas de protección que cierren herméticamente. Evite inhalar los vapores mediante una ventilación adecuada. (No ingiera la sustancia derramada).
- No utilice un Cartucho después de su fecha de caducidad.
- 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 (6, 7, 8).
- Deshágase de los Cartuchos sin usar o caducados como desechos peligrosos.
- Siga los procedimientos de seguridad de su institución para la manipulación de muestras biológicas. Use un equipo de protección personal apropiado.
- Todos los resultados debe interpretarlos un profesional formado junto con la revisión de los signos, sintomatología e historia clínicos del paciente.
- Deseche el Cartucho usado según los procedimientos del laboratorio.
- La exposición de un Cartucho sin empaquetar a una humedad o temperatura altas puede afectar de forma adversa a los resultados.
- Para obtener más información sobre las advertencias y precauciones de los aparatos Idylla™, consulte el Manual del Operador de Idylla™ o la Hoja de Seguridad de Idylla™.



7 Almacenamiento y manipulación de los Cartuchos

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

Los Cartuchos no utilizados estarán estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se almacenen conforme a las condiciones de almacenamiento recomendadas y se mantengan en su embalaje tal y como se han suministrado (es decir, en la bolsa sellada).

! PRECAUCIÓN

- Si se almacena en un refrigerador, el Cartucho tarda aproximadamente una hora a temperatura ambiente en alcanzar la temperatura de funcionamiento adecuada.
- Compruebe la fecha de caducidad del Cartucho o de la bolsa del Cartucho antes de usarlo. La fecha de caducidad reflejada en el Cartucho es la última fecha en la que se puede usar el Cartucho.
- Utilice el Cartucho en un rango de 5 días tras la apertura de la bolsa.
- Utilice el Cartucho en un intervalo de 8 horas tras la apertura de la bolsa y de la carga de la muestra.
- 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 o agitado. Agitar o dejar caer el Cartucho puede producir resultados no válidos.
- Es necesario tratar los Cartuchos y las muestras en una superficie limpia y descontaminada.
- No abra la tapa del Cartucho hasta que esté listo para realizar un Test.
- Una vez que se inserte la muestra en el Cartucho, manténgalo nivelado.
- No intente volver a abrir la tapa del Cartucho después de insertar una muestra y haber cerrado la tapa, ni tampoco después de ejecutar el 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 (6, 7, 8).
- Deshágase de los Cartuchos sin usar o caducados 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 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 al usar secciones de tejido FFPE: 600 mm² para secciones de tejido de 5 µm y 300 mm² para secciones de tejido de 10 µm.

8 Tipo de muestra, almacenamiento y preparación

i INFORMACIÓN

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 (8).

! PRECAUCIÓN

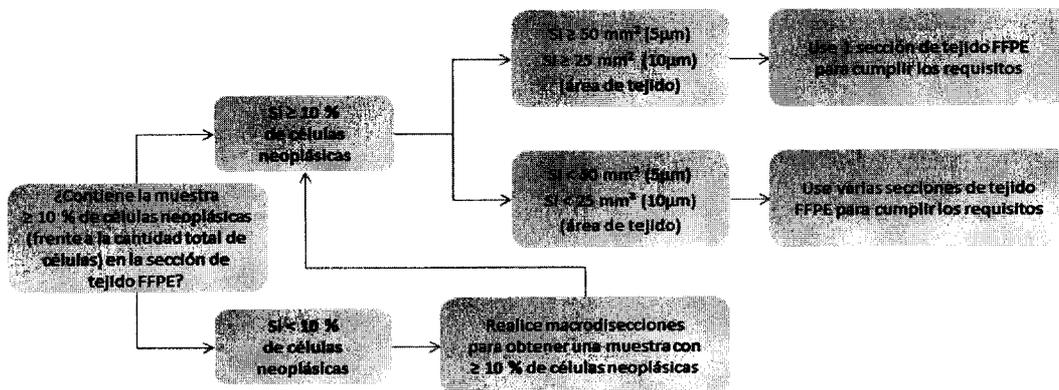
- Manipule las secciones de tejido fijado con formalina e incluido en parafina (FFPE) con cuidado para obtener resultados precisos.
- Evite la contaminación entre muestras limpiando concienzudamente después de cada uso las herramientas que se utilizan repetidamente para manipular las muestras, como las pinzas.

8.1 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 para reducir el riesgo de fragmentación extrema del ADN.

Se pueden usar secciones de tejido FFPE de 5 µm - 10 µm como muestra en el Idylla™ NRAS Mutation Test. Basándose en una evaluación histopatológica de secciones de tejidos FFPE teñidos con hematoxilina y eosina (HE), se recomendaron los siguientes criterios para la selección de la muestra:

Figura 1. Criterios recomendados para la selección de la muestra en el Idylla™ NRAS Mutation Test.



- Si una muestra contiene un 10 % de células neoplásicas o más, no se tiene que realizar una macrodissección.
- Si una muestra contiene menos del 10 % de células neoplásicas, se tiene que realizar una macrodissección para poder llegar a un contenido de al menos el 10 % de células neoplásicas.

- El área del tejido de la muestra FFPE debería ser como **mínimo**:
 - De 50 mm², si se usan secciones de tejido FFPE de 5 µm
 - De 25 mm², si se usan secciones de tejido FFPE de 10 µm
- Se pueden usar varias secciones de tejido FFPE para cumplir con este requisito.
- El área del tejido de la muestra FFPE debería ser como **máximo**:
 - De 600 mm², si se usan secciones de tejido FFPE de 5 µm
 - De 300 mm², si se usan secciones de tejido FFPE de 10 µm

! PRECAUCIÓN

- Para realizar la macrodissección, utilice un escalpelo exclusivo por muestra u otra herramienta adecuada para evitar la contaminación cruzada entre muestras.
- El uso de muestras teñidas puede generar resultados no válidos o incorrectos.

8.2 Almacenamiento

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

8.3 Preparación de la muestra

8.3.1 Cortes de tejido FFPE

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

PASO	ACCIÓN
1	Humedezca dos filtros de papel con agua sin nucleasas. Utilice pinzas para colocarlos en un portaobjetos de vidrio.
2	Utilice pinzas para colocar uno o más cortes de tejido FFPE en uno de los filtros de papel humedecidos (hasta que se hayan alcanzado los requisitos mínimos de tejido tumoral).
3	Utilice pinzas para colocar el segundo filtro de papel humedecido sobre el corte de tejido FFPE.
4	Continúe con el capítulo 9 Realizar un Test en la página 15.

8.3.2 Láminas con tejido FFPE montadas sobre vidrio

Para preparar una muestra de una lámina con tejido FFPE montada sobre vidrio, siga estas instrucciones:

PASO	ACCIÓN
1	Humedezca dos filtros de papel con agua sin 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 forma opcional, cuando use 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).
5	Utilice pinzas para colocar el segundo filtro de papel humedecido sobre el corte de tejido FFPE

8.3.2 Láminas con tejido FFPE montadas sobre vidrio



	material.
6	Deseche la navaja.
7	Continúe con el capítulo 9 Realizar un Test en la página 15.



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



9 Realizar un Test

i INFORMACIÓN

Consulte el Manual del Operador de Idylla™ para obtener más información sobre cómo realizar los Tests.

9.1 Procedimiento del 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.

PASO	ACCION
1	<p>Abra la bolsa del Cartucho y sáquelo.</p> <p>! PRECAUCIÓN No utilice objetos puntiagudos para abrir la bolsa del Cartucho. Utilice el Cartucho en un intervalo de 8 horas tras la apertura de la bolsa sellada y de la carga de la muestra.</p>
2	Presione Nuevo Test en la Consola.
3	<p>Escanee el código de barras del contenedor de la muestra con el lector de códigos de barras de la Consola.</p> <p>- O BIEN - 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 para incluirlo en la solicitud de Test y en el informe de resultados del Test.
6	Presione Confirmar para terminar la solicitud del Test.
7	Prepare la muestra como se describe en el capítulo 8.3 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 transfírala a la apertura del Cartucho.</p> <p>Colóquela con cuidado en la almohadilla para la lisis en la parte inferior.</p> <p>! PRECAUCIÓN Asegúrese de situar la muestra en el medio de la almohadilla de la lisis para garantizar un correcto funcionamiento del Test. Asegúrese de no tocar la almohadilla de la lisis con las pinzas o con los dedos.</p>
10	Quite el clip y cierre el Cartucho empujando la tapa de manera firme para asegurarse de que se cierre de manera correcta. Tire suavemente de la tapa para confirmar que está fijada.
11	Escoja un Instrumento que esté disponible para el procesamiento.

PASO	ACCIÓN
	 CONSEJO Una luz blanca que parpadea alrededor de la bandeja señala el instrumento propuesto para la ejecución del Test.
12	Presione el botón de abrir y cerrar de la bandeja para abrir la bandeja de Instrumentos.
13	Coloque el Cartucho en la bandeja.
14	Presione el botón de abrir y cerrar de la bandeja para cerrar la bandeja de Instrumentos. El Test empieza de forma automática. El anillo de luz blanca en el Instrumento está constantemente encendido.
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	 INFORMACIÓN En la Consola, se muestra el tiempo de procesamiento. El tiempo de procesamiento de un Idylla™ NRAS Mutation Test es de aproximadamente 110-115 minutos.
17	Cuando el Test ha finalizado, vea los resultados del Test en la pantalla de la Consola. También puede imprimir el informe.
18	 INFORMACIÓN Deseche el Cartucho usado según los procedimientos del laboratorio. Las directrices para la eliminación de desechos están disponibles en los documentos del Clinical and Laboratory Standards Institute (6, 7, 8).

9.2 Control de calidad

Cada Idylla™ NRAS Mutation Test incluye controles de procesamiento de la muestra integrados para verificar que se ha completado adecuadamente el proceso desde la muestra hasta el resultado. Además, estas reacciones de control son una medida de la cantidad de ADN amplificable en la muestra y se utilizan en el análisis del estado de mutación de la muestra.

Se pueden utilizar materiales de control externos para fines de control de calidad, pruebas de verificación, formación y otros fines. Los materiales de control derivados de FFPE de NRAS están disponibles comercialmente y se pueden comprar en Horizon Diagnostics (<http://www.horizondiscovery.com>), por ejemplo. Los siguientes productos están disponibles en Horizon Diagnostics en varias frecuencias alélicas:

- NRAS G12D
- NRAS G12V
- NRAS G13D
- NRAS A59T
- NRAS Q61H
- NRAS Q61K
- NRAS Q61L
- NRAS Q61R
- NRAS A146T
- Tipo salvaje de NRAS

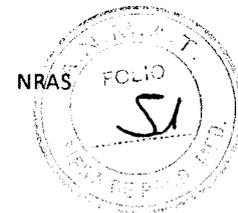
9.2 Control de calidad

NRAS



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

Estas muestras FFPE artificiales se envían como cortes de tejido FFPE en tubos separados y se deben manipular y procesar exactamente de la forma descrita en el capítulo 8.3.1 Cortes de tejido FFPE.



10 Interpretación de los 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™ NRAS Mutation Test puede informar de tres tipos de resultados posibles:

- Sin mutación en NRAS codón 12, 13, 59, 61, 117, o 146
- Mutación detectada en NRAS codón 12, 13, 59, 61, 117, o 146
- No válido

Cuando se detecta una mutación, se proporciona más información sobre el tipo de mutación y se muestran los siguientes detalles en la pantalla de la Consola:

- 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 *NRAS*.

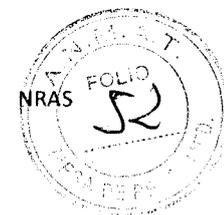
10.1 Resultados válidos

En caso de que el Test sea válido, el resultado para el gen *NRAS* se muestra en la Consola.

Los resultados se muestran en la Consola en la siguiente distribución:

Figura 2. Ejemplo de resultado de Mutación detectada que se muestra en la Consola.

GENOTIPO NRAS	MUTACIÓN DETECTADA EN EL CODÓN 12 DE NRAS
Mutation	G12D
Proteína	p.Gly12Asp
Cambio de nucleótido	c.35G>A
Cq del control de NRAS	32,7



10.1.1 Mutación detectada en NRAS

Tabla 4. Posibles resultados de NRAS detectados por el Idylla™ NRAS Mutation Test.

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

10.1.2 Sin mutación en NRAS

Figura 3. Ejemplo de resultado Sin mutación que se muestra en la Consola.

GENOTIPO NRAS	SIN MUTACIÓN EN NRAS CODÓN 12, 13, 59, 61, 117 O 146
---------------	--

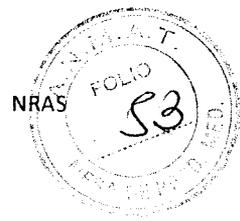
Cuando la Consola muestra un resultado de **Sin mutación en**, la presencia de una mutación en NRAS codones 12, 13, 59, 61, 117, y 146 no se puede excluir, ya que los resultados dependen de:

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

10.1.3 Cq del control de NRAS

El Cq del control de NRAS es el Cq medio de todas las señales en el Cartucho y se mostrará con fines informativos.

Este valor de Cq indica la cantidad de datos de ADN amplificable y puede correlacionarse con el rendimiento del LOD del Test (consulte el capítulo Sensibilidad analítica on page 22).



10.2 Resultado no válido

Por los motivos que se mencionan a continuación, se notificará un resultado no válido.

Muestra:

- Presencia de inhibidores en la muestra
- Grave fragmentación de ADN que podría estar provocada por un período de fijación demasiado prolongado
- Colocación incorrecta de la muestra en el Cartucho
- Volumen de la muestra fuera de rango
- Muestra no añadida

Cartucho:

- Cartuchos almacenados incorrectamente
- Uso de Cartuchos que superaban el período de uso después de extraerlos de la bolsa
- Mal funcionamiento del Cartucho

Figura 4. Ejemplo de resultado No válido que se muestra en la Consola.

GENOTIPO NRAS	NO VÁLIDO
Observación	Repetir Test con un nuevo Cartucho.



11 Limitaciones

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

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Solo para uso profesional. El producto solo debe ser utilizado por personal debidamente formado.
- Para garantizar unos resultados fiables, el Sistema Idylla™ se debe mantener según las condiciones descritas por el fabricante.
- El Idylla™ NRAS Mutation Test está optimizado solo para su uso con el Sistema Idylla™.
- El Idylla™ NRAS Mutation Test utiliza secciones de tejido FFPE procedentes de lesiones tumorales colorrectales.
- El Idylla™ NRAS Mutation Test se debe utilizar de acuerdo con estas instrucciones de uso. Cualquier desviación con respecto a las instrucciones deberá ser verificada para determinar la idoneidad por el usuario.
- El Idylla™ NRAS Mutation Test no debe utilizarse ni para el diagnóstico del cáncer colorrectal ni para fines de seguimiento.
- El Idylla™ NRAS Mutation Test es un Test cualitativo. El Test no está diseñado para mediciones cuantitativas de frecuencias alélicas.
- El área de tejido recomendada para el Idylla™ NRAS 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 muestras teñidas puede generar resultados no válidos o incorrectos.

12 Rendimiento

Durante los estudios de rendimiento se han obtenido los siguientes datos:

- Sensibilidad analítica (límite de detección)
- Especificidad analítica
- Reproducibilidad
- Precisión: Rendimiento del Idylla™ NRAS Mutation Test en comparación con un método de referencia
- Sustancias de interferencia
- Conmutabilidad

12.1 Sensibilidad analítica

El límite de detección (LOD, por sus siglas en inglés) viene definido por la menor frecuencia alélica en la que los alelos mutantes pueden detectarse de forma sistemática en $\geq 95\%$ de los tests. Los datos de 16 000 copias de antecedentes silvestres (WT, por sus siglas en inglés) FFPE en cada una de las cinco reacciones PCR multiplexadas de un Cartucho son representativos para una muestra estándar de referencia de FFPE.

Para calcular el LOD de cada una de las 18 mutaciones detectadas por el Idylla™ NRAS Mutation Test, se probaron diluciones en serie que contienen una gama de frecuencias alélicas de cada mutante, con tres niveles de datos de antecedentes WT FFPE en la reacción PCR. Los niveles de datos iban del 25 % al 1 % en 1 000 copias (4 diluciones); del 20 % al 1 % en 4 000 copias (4 diluciones), y del 10 % al 1 % en 16 000 copias (3 diluciones). Las diluciones en serie se prepararon a partir del estándar de referencia FFPE mutante licuado (para las mutaciones comercialmente disponibles) u oligonucleótidos de ADN objetivo sintéticos que albergan la mutación y se añadieron al estándar de referencia de WT FFPE de NRAS. Los tests se llevaron a cabo mediante un enfoque de dos pasos: (1) un estudio de rangos de dosis con seis repeticiones por cada dilución y (2) un estudio refinado con doce repeticiones para un rango de diluciones más concreto cerca del LOD estimado. Se usaron Cartuchos de tres lotes de validación diferentes. Se ha utilizado la tasa de positividad de mutaciones de las diluciones en serie para calcular el LOD mediante regresión logística. En la tabla 5 se proporciona el LOD de cada mutante en los tres niveles de datos, con el valor Cq correspondiente del control de NRAS (valor Cq medio del control de NRAS de todos los tests LOD realizados en este nivel de datos).



Tabla 5. Los niveles de LOD estimados para cada mutante en los tres niveles de datos se miden en tres lotes.

ONCOGÉN	EXÓN	CODÓN	MUTACIÓN	CAMBIO DE NUCLEÓTIDO	MENOR FRECUENCIA ALÉLICA CON UNA TASA DE POSITIVIDAD ≥ 95 % (LOD)			
					EN 1 000 COPIAS DE WT FFPE	EN 4 000 COPIAS DE WT FFPE	EN 16 000 COPIAS DE WT FFPE	
					CQ DE CONTROL DE NRAS = 35,0	CQ DE CONTROL DE NRAS = 32,7	CQ DE CONTROL DE NRAS = 30,9	
NRAS	2	12	G12D	c.35G>A	5,5 %	1,4 %	1,0 %	
			G12C	c.34G>T*	1,0 %	1,0 %	1,0 %	
			G12S	c.34G>A*	>30 %	21,0 %	5,5 %	
			G12V	c.35G>C	5,0 %	2,2 %	1,0 %	
			G12A	c.35G>T*	1,3 %	1,0 %	1,0 %	
		13	G13D	c.38G>A	23,9 %	6,0 %	1,5 %	
			G13R	c.37G>C*	4,6 %	1,0 %	1,0 %	
			G13V	c.38G>T*	1,0 %	1,0 %	1,0 %	
		3	59	A59T	c.175G>A	25,0 %	5,0 %	3,0 %
				61	Q61K	c.181C>A	20,4 %	5,0 %
	Q61R		c.182A>G		15,0 %	5,0 %	1,6 %	
	Q61L		c.182A>T		19,9 %	5,0 %	1,3 %	
	Q61H		c.183A>C*		1,4 %	1,0 %	1,0 %	
	Q61H		c.183A>T	14,5 %	4,0 %	1,0 %		
	4	117	K117N	c.351G>C	5,0 %	3,3 %	1,0 %	
			K117N	c.351G>T*	1,0 %	1,0 %	1,0 %	
		146	A146T	c.436G>A°	>30 %	>30 %	8,5 %	
			A146V	c.437C>T*	6,0 %	1,5 %	1,0 %	

*Las diluciones en serie se prepararon a partir de ADN objetivo sintético que alberga la mutación, ya que el estándar de referencia FFPE mutante no estaba comercialmente disponible.

°Respecto a NRAS A146T, el estudio de rangos de dosis se llevó a cabo mediante ADN objetivo sintético, mientras que para el estudio de refinamiento estaba disponible el estándar de referencia FFPE.

Se incluyeron las mutaciones más prevalentes (es decir, ≥ 3 % entre pacientes con cáncer colorrectal (CCR) con mutación en el NRAS) para confirmar el nivel de LOD estimado. Se ha evaluado como mínimo una mutación para cada codón. Se ha realizado mediante pruebas en 25 réplicas cerca del correspondiente límite superior del intervalo de confianza del 95 %, con un nivel de datos representativo para una muestra del estándar de referencia FFPE (es decir, 16 000 copias de antecedentes WT FFPE en la reacción PCR) en un lote de validación. En la tabla 6 se proporciona la mínima frecuencia alélica (LOD) con una tasa de positividad de al menos el 95 % con una confianza del 95 %.



Tabla 6. Niveles de LOD confirmados para 9 mutaciones del NRAS con una tasa de positividad de al menos el 95 % con una confianza del 95 % en un nivel de datos representativo de un estándar de referencia FFPE.

ONCOGÉN	EXÓN	CODON	MUTACIÓN	CAMBIO DE NUCLEÓTIDO	MENOR FRECUENCIA ALÉLICA CON UNA TASA DE POSITIVIDAD \geq 95 % (LOD)	
					EN 16 000 COPIAS DE WT FFPE	TASA DE POSITIVIDAD
NRAS	2	12	G12D	c.35G>A	1,7 %	25/25
			G12C	c.34G>T	1,0 %	25/25
			G12V	c.35G>C	5,0 %	25/25
		13	G13R	c.37G>C*	10,0 %	25/25
	3	59	A59T	c.175G>A	9,0 %	25/25
			Q61K	c.181C>A	2,0 %	25/25
		Q61R	c.182A>G	3,3 %	25/25	
	4	117	K117N	c.351G>C	1,0 %	25/25
		146	A146T	c.436G>A	15,0 %	25/25

*Las diluciones en serie se prepararon a partir de ADN objetivo sintético que alberga la mutación, ya que el estándar de referencia FFPE mutante no estaba comercialmente disponible.

El Idylla™ NRAS Mutation Test puede detectar frecuencias alélicas al:

- \leq 5 % en el gen NRAS en los codones 12 y 61 (las mutaciones más prevalentes, es decir, \geq 3 % entre pacientes con CCR con mutación en el NRAS);
- \leq 10 % para mutaciones en el gen NRAS en los codones 13, 59 y 117; y
- \leq 15 % en el gen NRAS en el codón 146 (mutaciones poco frecuentes, es decir, $<$ 3 % entre pacientes con CCR con mutación en el NRAS).

12.2 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 NRAS que pudiera resultar en una detección no específica. Esto excluye la reactividad cruzada de los cebadores del Idylla™ NRAS Mutation Test con homólogos de la secuencia en el gen KRAS. Así mismo, la evaluación de 45 muestras positivas de KRAS de pacientes con CCR metastásico no detectó ninguna mutación.

Las mutaciones de los genes NRAS objetivo del Idylla™ NRAS Mutation Test que debe detectar el Test se identificaron en el análisis *in silico*. El examen de las mutaciones notificadas para los genes NRAS humanos revelaron que no había otras variantes aparte de las mutaciones objetivo notificadas en las muestras de tejido colorrectal.



12.3 Reproducibilidad

La reproducibilidad del Idylla™ NRAS Mutation Test se ha evaluado mediante un panel que representa cuatro mutaciones de NRAS o prevalentes en el cáncer colorrectal. El panel se compone de estándares de referencia de FFPE artificiales con una frecuencia alélica que se corresponde de dos a cinco veces con el nivel validado de LOD. Los estándares de referencia de FFPE con las frecuencias alélicas objetivo se derivaron y personalizaron a partir de estándares comercialmente disponibles, con una frecuencia alélica del 50 %:

- Estándar de referencia NRAS G12D FFPE con una frecuencia alélica del 10 %
- Estándar de referencia NRAS G12V FFPE con una frecuencia alélica del 10 %
- Estándar de referencia NRAS Q61K FFPE con una frecuencia alélica del 10 %
- Estándar de referencia NRAS Q61R FFPE con una frecuencia alélica del 10 %

12.3.1 Reproducibilidad entre laboratorios

Se realizó un estudio de reproducibilidad entre laboratorios para evaluar la reproducibilidad entre laboratorios, entre ejecuciones, entre instrumentos, entre días y entre operadores. El panel de estándares de referencia se probó 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. Los resultados del análisis cualitativo, basado en las llamadas de mutación en el NRAS obtenidas, en las tres instalaciones, se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Resultados de reproducibilidad entre laboratorios.

MUESTRA	CONCORDANCIA (PORCENTAJE)	INTERVALO DE CONFIANZA DEL 95 % (PORCENTAJE) POR LAS DOS CARAS
10 % de NRAS G12D	120/120 (100 %)	[96,9 - 100]
10 % de NRAS G12V	120/120 (100 %)	[96,9 - 100]
10 % de NRAS Q61K	120/120 (100 %)	[96,9 - 100]
10 % de NRAS Q61R	120/120 (100 %)	[96,9 - 100]

12.3.2 Reproducibilidad entre lotes

Se realizó un estudio de reproducibilidad entre lotes para evaluar la reproducibilidad entre lotes, entre ejecuciones, entre instrumentos y entre días. El panel de estándares de referencia se probó en 3 lotes diferentes y en cada uno de ellos por duplicado en 2 Instrumentos Idylla™ distintos durante 5 días, por 1 operador, para un total de 60 resultados del Test por muestra. Los resultados del análisis cualitativo en los tres lotes, basado en las llamadas de mutación en el NRAS obtenidas, se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Resultados de reproducibilidad entre lotes.

MUESTRA	CONCORDANCIA (PORCENTAJE)	INTERVALO DE CONFIANZA DEL 95 % (PORCENTAJE) POR LAS DOS CARAS
10 % de NRAS G12D	60/60 (100 %)	[94,0 - 100]
10 % de NRAS G12V	60/60 (100 %)	[94,0 - 100]
10 % de NRAS Q61K	60/60 (100 %)	[94,0 - 100]
10 % de NRAS Q61R	60/60 (100 %)	[94,0 - 100]

12.4 Precisión: Rendimiento del Idylla™ NRAS Mutation

Test en comparación con un método de referencia



El análisis de discrepancia con modelado lineal mixto no muestra ningún efecto o muestra efectos desdéniables en las diferentes fuentes de variación utilizadas en los estudios de reproducibilidad entre laboratorios y entre lotes.

En conclusión, la reproducibilidad entre laboratorios y entre lotes para cuatro mutaciones prevalentes de NRAS del Idylla™ NRAS Mutation Test es, con una confianza del 95 %, superior al 96,9 % (entre laboratorios) y al 94,0% (entre lotes).

12.4 Precisión: Rendimiento del Idylla™ NRAS Mutation Test en comparación con un método de referencia

El rendimiento del diagnóstico del Idylla™ NRAS Mutation Test se evaluó sobre 242 muestras procedentes de pacientes con cáncer colorrectal (CCR) metastásico. Las muestras se incluyeron conforme a los requisitos, tal como se describe en el capítulo 8 Tipo de muestra, almacenamiento y preparación. Los resultados se compararon con un método de referencia basado en secuenciación que detecta mutaciones en los codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146 del gen NRAS.

Después de una ejecución inicial, se informó de cuatro errores del sistema y tres ejecuciones no válidas, lo que provocó 235 resultados de tests válidos. La comparación detallada de los resultados válidos entre el Idylla™ NRAS Mutation Test y el método de referencia se muestra en la tabla 9.

Tabla 9. Resultados del Idylla™ NRAS Mutation Test frente al método de referencia.

MUESTRAS DE CCR (N = 235)	MÉTODO DE REFERENCIA											Totales	
	NRAS	G12A	G12V	G12C	G12D	G12S	G13D	Q61H	Q61K	Q61L	Q61R		Sin mutación
G12A/V	1	4											5
G12C			2										2
G12D				1							1		9
G12S					0								0
G13D						1							1
Q61H							1						1
Q61K								7					7
Q61L									3				3
Q61R										6			6
Sin mutación en el NRAS											201		201
Totales	1	4	2	8	0	1	1	7	3	6	202		235

En 1 de 235 muestras, el Idylla™ NRAS Mutation Test detectó una mutación en el codón 12, aunque el método de secuenciación de referencia clasificara esta muestra como Sin mutación.

idylla
 BIOARS S.A.
 BIOQ. CLAUDIA ETCHEVES
 DIRECTOR TÉCNICO

El análisis de concordancia de los resultados de los tests se muestra en la tabla 10. Las concordancias porcentuales y los intervalos de confianza del 95 % (puntuación de Wilson por una cara) se muestran en la tabla 11. Esto se traduce en una concordancia porcentual global del 99,6 % [98,1 % - 100 %] entre el Idylla™ NRAS Mutation Test y el test de referencia.

Tabla 10. Concordancia del Idylla™ NRAS Mutation Test en comparación con el método de referencia.

MUESTRAS DE CCR (N = 235) IDYLLA™ NRAS MUTATION TEST	MÉTODO DE REFERENCIA			Totales
	NRAS	Mutación detectada en el NRAS	Sin mutación en el NRAS	
Mutación detectada en el NRAS	33	1*	34	
Sin mutación en el NRAS	0	202	202	
Totales	33	202	235	

*Se ha confirmado como positiva una muestra que solo dio positivo en Idylla (G12D), mediante una PCR digital en gotas (frecuencia alélica <5%)

Tabla 11. Concordancia del Idylla™ NRAS Mutation Test frente al método de referencia.

	NRAS		
	Estimación puntual	Límite inferior del 95 %	Límite superior del 95 %
Concordancia diagnóstica general	99,6 %	98,1 %	100 %
Concordancia diagnóstica positiva	100 %	NA	NA
Concordancia diagnóstica negativa	99,5 %	97,8 %	100 %

NA: No aplicable; No se han determinado intervalos de confianza respecto a la concordancia diagnóstica positiva, puesto que se ha incluido un número limitado de muestras positivas.

12.5 Sustancias de interferencia

El posible efecto del tejido necrótico (tabla 12) y la presencia de mucina (tabla 13) en el rendimiento del Idylla™ NRAS Mutation Test se ha investigado en 242 muestras de pacientes con CCR metastásico.

En el caso de muestras con necrosis por encima del 10 % del área de tejido FFPE, los resultados fueron concordantes y válidos en un 100 %. Los casos poco frecuentes de observaciones discordantes o no válidas se produjeron en muestras con necrosis por debajo del 10 %. Esto indica que el tejido necrótico no interfiere en el Idylla™ NRAS Mutation Test. En el caso de muestras con mucina, no se observó correlación alguna entre la presencia de mucina y resultados discordantes o no válidos, lo que indica que la presencia de mucina no interfiere en el Idylla™ NRAS Mutation Test.

Tabla 12. Rendimiento del Idylla™ NRAS Mutation Test para muestras FFPE con distintos niveles de necrosis.

PORCENTAJE DE TEJIDO NECROTICO EN EL ÁREA DE TEJIDO FFPE	VÁLIDO (%)	CONCORDANTE (%)*
<10 %	184/187 (98,4 %)	183/184 (99,5 %)
10 % - 25 %	40/40 (100 %)	40/40 (100 %)
25 % - 50 %	15/15 (100 %)	15/15 (100 %)

*El porcentaje de resultados de tests concordantes se calcula únicamente según los resultados de tests válidos

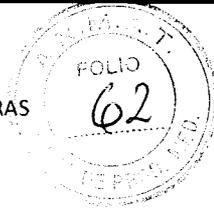
Tabla 13. Rendimiento del Idylla™ NRAS Mutation Test para muestras FFPE con distintos niveles de mucina.

PORCENTAJE DE MUCINA EN EL ÁREA DE TEJIDO FFPE	VÁLIDO (%)	CONCORDANTE (%)*
<10 %	210/212 (99,1 %)	209/210 (99,5 %)
10 % - 25 %	19/20 (95 %)	19/19 (100 %)
25 % - 50 %	9/9 (100 %)	9/9 (100 %)
Desconocido	1/1 (100 %)	1/1 (100 %)

*El porcentaje de resultados de tests concordantes se calcula únicamente según los resultados de tests válidos

12.6 Conmutabilidad

El Idylla™ NRAS Mutation Test puede rastrear el gen NRAS. El método de secuenciación de referencia y el Idylla™ NRAS Mutation Test detectan las mutaciones silvestres de NRAS en los codones 12, 13, 59, 61, 117 y 146. La incertidumbre del Test es muy baja, como han demostrado los estudios de reproducibilidad y los estudios comparativos en muestras clínicas.



13 Referencias

REF. N°	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	Van Cutsem et al, ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer, <i>Annals of Oncology</i> 2016, 8:1386-1422.
4	National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Updates Guidelines for Colorectal Cancer. Disponible en: http://www.nccn.org .
5	Allegra et al, Extended RAS Gene Mutation Testing in Metastatic Colorectal Carcinoma to Predict Response to Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody Therapy: American Society of Clinical Oncology Provisional Clinical Opinion Update 2015, <i>J Clin Oncol</i> 2016, 34:179-185.
6	Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Clinical Laboratory Waste Management; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document GP05-A3 [ISBN 1-56238-744-8]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2011.
7	Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of lab workers from occupational acquired infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29- A4 [ISBN 1-56238-961-0]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
8	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).

14 Símbolos de uso habitual

SÍMBOLO	REFERENCIA	DESCRIPCIÓN
	ISO 15223-1:2012* Nº de ref. de símbolo 5.1.6	Número de catálogo Indica el número de catálogo del fabricante para poder identificar el dispositivo médico.
	ISO 15223-1:2012* Nº de ref. de símbolo 5.1.5	Código de lote Indica el código de lote del fabricante para poder identificar el lote.
	ISO 15223-1:2012* Nº de ref. de símbolo 5.1.1	Fabricante Indica el nombre del fabricante del dispositivo médico, conforme establecen las Directivas de la UE 90/385/CEE, 93/42/CEE y 98/79/CE.
	ISO 15223-1:2012* Nº de ref. de símbolo 5.1.7	Límite de temperatura Indica los límites de temperatura a los cuales se puede exponer el dispositivo médico de manera segura.
	ISO 15223-1:2012* Nº de ref. de símbolo 5.1.4	Fecha de caducidad Indica la fecha después de la cual no se debe usar el dispositivo médico.
	ISO 15223-1:2012* Nº de ref. de símbolo 5.4.3	Consulte las instrucciones de uso Indica la necesidad de que el usuario consulte las instrucciones de uso.
	ISO 15223-1:2012* Nº de ref. de símbolo 5.5.5	Contiene suficiente para <n> Indica el número total de tests de diagnóstico <i>in vitro</i> que se pueden realizar con los reactivos del kit de diagnóstico <i>in vitro</i> .
	ISO 15223-1:2012* Nº de ref. de símbolo 5.4.2	No reutilizar Indica que se trata de un dispositivo médico destinado para un único uso o para usar en un solo paciente durante un único procedimiento.
	ISO 15223-1:2012* Nº de ref. de símbolo 5.2.8	No usar si el envase está dañado Indica que se trata de un dispositivo médico que no se debe usar si el envase está dañado o abierto.
	ISO 15223-1:2012* Nº de ref. de símbolo 5.7.1	Número de paciente Indica un número único asociado a un paciente individual.
	ISO 15223-1:2012* Nº de ref. de símbolo 5.5.1	Dispositivo de diagnóstico <i>in vitro</i> Indica que se trata de un dispositivo médico destinado a ser utilizado como un dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> .
	ISO 7010:2010** Nº de ref. de símbolo W001	Señal general de advertencia Indica una advertencia de carácter general.



	Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>	Conformité Européenne Marca CE de conformidad con las directivas europeas.
	N/d	Icono del código clave (código clave). El código impreso junto a este icono se utiliza para obtener documentación de usuario.
(código de barras)	N/d	Funciona como un identificador único del dispositivo.

*15223-1. Segunda edición 01-07-2012. Dispositivos médicos. Símbolos que se utilizarán en las etiquetas, el etiquetado y la información que cabe suministrar. Parte 1: Requisitos generales

Nº de identificación de la FDA: 5-90

**ISO 7010:2011 Símbolos gráficos. Colores y señales de seguridad. Señales de seguridad registradas

15 Datos de contacto

ASISTENCIA	DETALLES
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 el sitio 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"> • Suscríbese 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"> • Repositorio de todas las IDU y Manual del Operador de Idylla™ • Utilice el código clave que figura en el etiquetado del producto y en el capítulo Materiales requeridos pero no suministrados en la página 9

Información de copyright

© Biocartis NV, 2017. 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 N.V.. 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 N.V.
 Generaal De Wittelaan 11 B3, 2800 Mechelen, Bélgica
 +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 se han preparado para garantizar su precisión, Biocartis no asume ninguna responsabilidad por los errores, inexactitudes u omisiones que pudiera encontrar en estas instrucciones de uso, por usar el Idylla™ NRAS Mutation Test sin haber leído estas instrucciones de uso, ni por usar el 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.

Este producto está protegido por una o más patentes de EE. UU.: D686'335; US 8'563'324; US 8'703'476; US0'097'626; US8'563'324; US 9'492'823; US8'992'865; y patentes equivalentes y solicitudes de patentes en otros países.

Este producto contiene tecnología PlexZyme™ y PlexPrime™ protegida por las patentes concedidas y en trámite en determinadas jurisdicciones, suministradas bajo licencia de SpeedX Pty Ltd.

PlexZyme™ y PlexPrime™ son marcas comerciales de SpeedX Pty Ltd.

Este producto contiene sondas Hilyte™ y QXL®. Hilyte™ y QXL® tienen licencia conforme a un contrato con Eurogentec S.A., y estas Sondas con Licencia se venden en exclusiva con fines de diagnóstico.

Hilyte™ es una marca comercial de Anaspec, Inc.

QXL® es una marca comercial registrada de Anaspec, Inc.

VERSIÓN	PUBLICACIÓN	LISTA DE ACTUALIZACIONES
1	05/2017	Primera versión

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 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. PM-1127-291

Claudia E. Etchevés
 BIOARS S.A.
 DR. CLAUDIA ETCHÉVÉS
 DIRECTOR TÉCNICO



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2019 - Año de la Exportación

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: 3110-2078-18-1

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 35 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR, o=SECRETARIA DE GOBIERNO DE MODERNIZACION,
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2019.08.21 14:42:02 -03'00'

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR, o=SECRETARIA DE GOBIERNO DE MODERNIZACION,
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2019.08.21 14:42:03 -03'00'