



УТВЕРЖДАЮ
Руководитель отдела сертификации
ООО «ТестГен»
Л.М. Халилова
(по доверенности №95/01 от 30 декабря 2022)
«12» января 2023 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**Набор реагентов для определения статуса мутаций
гена *EGFR* методом мультиплексной ПЦР-РВ
в пробе геномной ДНК человека из образцов
фиксированной ткани
«Тест-*EGFR*-ткань-мульти»
по ТУ 21.20.23-033-97638376-2020**

Содержание

Список сокращений	3
Введение.....	4
1. Назначение.....	7
2. Принцип метода	8
3. Состав набора реагентов	11
4. Характеристики набора реагентов	15
5. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов.	25
6. Меры предосторожности при работе с набором.....	25
7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором реагентов	27
8. Анализируемые образцы	28
9. Подготовка компонентов набора для исследования.....	33
10. Проведение анализа	35
11. Регистрация и интерпретация результатов.....	37
12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора реагентов	44
13. Утилизация	46
14. Гарантийные обязательства, контакты	47
Приложение А	48

Список сокращений

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ПЦР	полимеразная цепная реакция
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
<i>EGFR</i>	Epidermal Growth Factor Receptor (рецептор эпидермального фактора роста)
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПКО	положительный контрольный образец
КВМ	контроль взятия материала
ID	идентификационный номер
COSMIC	Catalog of Somatic Mutations in Cancer (международная база соматических мутаций при раковых заболеваниях)
FFPE-блок	парафиновый блок, содержащий фиксированные формалином и залитые парафином фрагменты ткани
ТК	тирозинкиназа
НМРЛ	немелкоклеточный рак лёгкого

Введение

Рак лёгкого – один из наиболее распространённых видов злокачественных онкологических заболеваний. Ежегодно в России от рака лёгкого погибают около 60 тыс. человек, что составляет 20% умерших от злокачественных опухолей. Гистопатологически рак легкого делится на два типа – мелкоклеточный (МКРЛ) и немелкоклеточный (НМРЛ). Патология у большинства пациентов диагностируется на поздних стадиях и имеет плохой прогноз с 5-летней общей выживаемостью 10–15%. НМРЛ составляет 85–90% всех случаев рака легких.¹

Идентификация и расшифровка механизма действия рецептора эпидермального фактора роста опухоли (EGFR – Epidermal Growth Factor Receptor) стала одним из многообещающих открытий в онкологии.

Установлено, что высокая частота гиперэкспрессии *EGFR* характерна для немелкоклеточного рака лёгкого (40 - 70%), рака яичников (35 - 70%), толстой кишки (25 - 77%) и др. Известно, что выявление повышенной экспрессии гена *EGFR* является фактором неблагоприятного прогноза течения болезни. Активация механизмов с участием *EGFR* приводит к усилению пролиферативной активности опухолевых клеток, неоангиогенезу, замедлению апоптоза, более раннему появлению метастаз.

Целевым анализом, выявляемым при помощи набора реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти», являются мутации в гене *EGFR* - G719S, G719C, G719D, G719A в 18 экзоне (определяет мутации G719S, G719C, G719D, G719A, но не различает их), делеции в 19 экзоне (определяет 35 мутаций, но не различает их), S768I, T790M и инсерции (определяет 4 мутации, но не различает их) в 20 экзоне, L858R (определяет 2 мутации, но не различает их) и L861Q в 21 экзоне.

¹ Шнейдер О.В., Камилова Т.А., Голота А.С., Сарана А.М., Щербак С.Г. Биомаркеры и таргетная терапия при раке легких // Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. – 2021. – Том 3. – № 1. – 2020. – С. 74-94

Научная обоснованность целевого анализа заключается в его специфичности (уникальности последовательности ДНК) в отношении соматических мутаций гена *EGFR*, обнаруживаемых у больных немелкоклеточным раком лёгкого (НМРЛ), локализованных в экзонах 18-21, кодирующих тирозинкиназный домен.

В соответствии с Клиническими рекомендациями «Злокачественное новообразование бронхов и легкого» (утв. Минздравом России, год утверждения 2021 г.):

«При проведении молекулярно-генетического исследования рекомендуется проводить анализ мутаций гена *EGFR* как в отношении распространенных генетических нарушений (делеции в 19-м экзоне; точечная замена p.L858R в 21-м экзоне), так и в отношении менее распространенных генетических нарушений в 18–21-х экзонах (в частности, вставки в 19-м экзоне, а также точечные замены p.L861Q, p.G719X, p.S768I)».

Наличие мутаций в гене *EGFR* делают активацию сигнального пути независимой от присутствия лиганда и провоцируют клеточное деление, выживаемость и антиапоптотические сигналы. Ингибирование *EGFR* вызывает усиление регуляции проапоптотических молекул, что в конечном итоге способствует активации внутреннего митохондриального апоптотического сигнального пути.²

Наиболее частыми и изученными являются мутации – L858R – замена лейцина аргинином в 858 кодоне 21 экзоне (41%) и делеции в 19 экзоне (45% от всех мутаций).

G719X является точковой мутацией, при которой происходит в позиции 719 замена глицина другим остатком – аланином, цистеином и серином (встречаемость около 3%).³

Мутация L861Q также является точечной мутацией гена *EGFR*, встречаемость составляет примерно 2%. Встречаемость инсерций в

² Насретдинов А.Ф., Султанбаев А.В., Меньшиков К.В. и др. Ландшафт мутаций генов эпидермального фактора роста у больных раком легкого в Республике Башкортостан // Эффективная фармакотерапия. – 2020. – Т. 16. – № 33. – С. 18-23.

³ Li K., Yang M., Liang N., Li S. Determining EGFR-TKI sensitivity of G719X and other uncommon EGFR mutations in non-small cell lung cancer: perplexity and solution (review) // Oncol. Rep. – 2017. – Vol. 37. – № 3. – P. 1347-1358.

20 экзоне гена *EGFR* достигает до 12%, данные мутации способны вызвать активацию лиганд-независимого пути и запустить канцерогенез.

Наиболее редкая точечная мутация – S768I, встречается в 0,59-1,9% случаев.⁴

Назначение ингибиторов тирозинкиназы (ТК) больным НМРЛ с наличием мутаций в 18-21 экзонах гена *EGFR*, связанных с чувствительностью к ингибиторам тирозинкиназы (ТК), является методом лечения, приводящим в большинстве случаев к существенному сокращению размеров опухолевых очагов и контролю проявлений заболевания на достаточно продолжительный срок.

Мутация T790M связана с устойчивостью к ингибиторам тирозинкиназы (ТК) и ответственна за резистентность к терапии ингибиторами ТК. Выявление мутации T790M позволяет оптимизировать тактику лечения, выявить опухоли, не чувствительные к проводимой терапии, и своевременно назначить пациенту другой режим химиотерапии, что является клинически и экономически выгодным, учитывая необходимость длительного применения и высокую стоимость терапии.⁵

Область применения набора реагентов – клиническая лабораторная диагностика, онкология.

Показания и противопоказания к применению

Показания к применению: Набор реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» рекомендуется при обследовании пациентов с диагнозом немелкоклеточный рак лёгкого IB–IIIA и IV стадией заболевания для качественного определения статуса мутаций G719S, G719C, G719D, G719A в 18 экзоне (определяет мутации G719S, G719C, G719D, G719A, но не различает их), делеции в 19 экзоне (определяет 35 мутаций, но не различает их), S768I, T790M и инсерции (определяет 4 мутации, но не различает их) в 20 экзоне, L858R (определяет 2 мутации, но не различает их) и L861Q в 21 экзоне гена *EGFR* методом

⁴ Leventakos K., Kipp B.R., Rumilla K.M. et al. S768I mutation in EGFR in patients with lung cancer // J. Thorac. Oncol. – 2016. – Vol. 11. – № 10. – P. 1798-1801.

⁵ Real-time PCR and digital PCR approach for detecting EGFR status in plasma of patients with NSCLC / M. Gordiev [et al.] // Journal of Thoracic Oncology. - 2016. - V 11. - N 4. - p. 124-125. doi:10.1016/S1556-0864(16)30263-5.

мультиплексной ПЦР-РВ в пробе геномной ДНК человека из образцов фиксированной в парафине ткани для определения показаний к таргетной терапии низкомолекулярными ингибиторами тирозинкиназы *EGFR*.

Противопоказания к применению: при использовании специально обученным персоналом и с учетом применения по назначению не выявлены.

Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия: популяционных, демографических аспектов применения набора реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» не выявлено.

Стерильность: изделие не стерильно.

1. Назначение

Назначение: набор реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» предназначен для качественного определения статуса мутаций в гене *EGFR* - G719S, G719C, G719D, G719A в 18 экзоне (определяет мутации G719S, G719C, G719D, G719A, но не различает их), делеции в 19 экзоне (определяет 35 мутаций, но не различает их), S768I, T790M и инсерции (определяет 4 мутации, но не различает их) в 20 экзоне, L858R (определяет 2 мутации, но не различает их) и L861Q в 21 экзоне методом мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в пробе геномной ДНК человека, выделенной из ткани, фиксированной в 10% растворе формалина и заключённой в парафиновый блок (FFPE-блок), при обследовании пациентов с диагнозом немелкоклеточный рак лёгкого IB–IIIA и IV стадией заболевания для определения показаний к таргетной терапии низкомолекулярными ингибиторами тирозинкиназы *EGFR* (Клинические рекомендации. Злокачественное новообразование бронхов и легкого. С 34. Взрослые. 2021. Разработчики: Общероссийский национальный союз «Ассоциация онкологов России», Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии». Одобрено на заседании научно-практического совета Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол от 25.12.2020 №17-4/4884).

Функциональное назначение. Полученные результаты могут использоваться при проведении обследования пациентов с диагнозом немелкоклеточный рак лёгкого IB–IIIA и IV стадией заболевания для определения показаний к таргетной терапии низкомолекулярными ингибиторами тирозинкиназы *EGFR*.

Потенциальные потребители медицинского изделия

Набор предназначен для профессионального применения в медицинских учреждениях и клиничко-диагностических лабораториях онкологического профиля. Профессиональный уровень потенциальных пользователей – врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

2. Принцип метода

Метод

Мультиплексная полимеразная цепная реакция в режиме реального времени с гибридационно-флуоресцентной детекцией.

Тип анализируемого образца

Материалом для проведения ПЦР служат пробы геномной ДНК человека, выделенные из ткани, фиксированной в 10% растворе формалина и заключённой в парафиновый блок (FFPE-блок).

Принцип определения

Выявление статуса мутаций в гене *EGFR* - G719S, G719C, G719D, G719A в 18 экзоне (определяет мутации G719S, G719C, G719D, G719A, но не различает их), делеции в 19 экзоне (определяет 35 мутаций, но не различает их), S768I, T790M и инсерции (определяет 4 мутации, но не различает их) в 20 экзоне, L858R (определяет 2 мутации, но не различает их) и L861Q в 21 экзоне методом мультиплексной ПЦР в реальном времени с гибридационно-флуоресцентной детекцией в пробе геномной ДНК, выделенной из биологического материала, включает в себя три этапа:

1. Подготовку ПЦР;
2. ПЦР-амплификацию ДНК и гибридационно-флуоресцентную детекцию продуктов амплификации в режиме реального времени;
3. Интерпретацию результатов.

С пробами ДНК проводятся реакции амплификации участков генов при помощи специфичных к этим участкам ДНК праймеров в реакционном буфере.

В состав ПЦР-буфера входят все основные реагенты, включая термостабильную ДНК-полимеразу с «горячим стартом», смесь dNTP, урацил-ДНК-гликозидазу и оптимизированный буфер. Наличие фермента урацил-ДНК-гликозидазы препятствует получению ложноположительных результатов при контаминации продуктами амплификации, при этом фермент полностью инактивируется в процессе первого цикла денатурации ДНК и не препятствует амплификации продуктов текущей реакции.

В составе праймер-микса присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени и разрушаются *Taq*-полимеразой, в результате чего разобщаются краситель и тушителем, и происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путём измерения интенсивности флуоресцентного сигнала в режиме реального времени.

Набор содержит реагенты для мультиплексного качественного определения статуса мутаций в гене *EGFR* - G719S, G719C, G719D, G719A в 18 экзоне (определяет мутации G719S, G719C, G719D, G719A, но не различает их), делеции в 19 экзоне (определяет 35 мутаций, но не различает их), S768I, T790M и инсерции (определяет 4 мутации, но не различает их) в 20 экзоне, L858R (определяет 2 мутации, но не различает их) и L861Q в 21 экзоне, а также нормальный вариант гена *EGFR*, используемого в качестве контроля взятия материала, далее KBM (табл. 1).

Таблица 1 – Состав мультиплексов, входящих в набор

Мультиплекс (праймер-микс)	Канал, соответствующий флуорофору	
	FAM	HEX
719	мутации G719S, G719C, G719D, G719A в 18 экзоне гена <i>EGFR</i> (определяет мутации, но не различает их)	KBM (ген <i>EGFR</i> человека)
768	мутация S768I в 20 экзоне гена <i>EGFR</i>	KBM (ген <i>EGFR</i> человека)
790	Мутация T790M в 20 экзоне гена <i>EGFR</i>	KBM (ген <i>EGFR</i> человека)
858	Мутации L858R в 21 экзоне гена <i>EGFR</i> (определяет 2 мутации, но не различает их)	KBM (ген <i>EGFR</i> человека)
861	Мутация L861Q в 21 экзоне гена <i>EGFR</i>	KBM (ген <i>EGFR</i> человека)

Del	Делеции в 19 экзоне гена <i>EGFR</i> (определяет 35 мутаций, но не различает их)	КВМ (ген <i>EGFR</i> человека)
Ins	Инсерции в 20 экзоне гена <i>EGFR</i> (определяет 4 мутации, но не различает их)	КВМ (ген <i>EGFR</i> человека)

КВМ позволяет подтвердить факт взятия материала от человека, оценить качество, эффективность выделения ДНК и возможного наличия ингибиторов в пробе, присутствие которых может привести к ложноотрицательным результатам.

Ограничения метода

Обнаружение мутаций зависит от целостности образца и количества амплифицируемой ДНК, присутствующей в образце. Чистота выделенной ДНК, выраженная в отношении оптических плотностей (A260/280нм), необходимая для проведения исследования, должна составлять не менее 1,4. Концентрация ДНК, достаточная для проведения исследования должна составлять 1-50 нг/мкл.

Ткань опухоли не является гомогенной, в связи с этим результаты анализа, полученные из образца ткани, могут не совпадать с результатами других секций той же самой опухоли. Кроме того, образцы опухоли могут содержать и нормальную (неопухолевую ткань). При использовании пробы геномной ДНК, выделенной из ткани, не содержащей опухоль, набор «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» не сможет выявить мутации гена *EGFR*.

Возможная причина получения ложноположительного результата - контаминация на этапе выделения ДНК либо проведения реакции мультиплексной ПЦР. Ложноположительный результат может быть выявлен с помощью отрицательного контрольного образца.

Набор реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» не может использоваться для диагностики какой-либо патологии. Набор реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» предназначен только для качественного определения статуса мутаций G719S, G719C, G719D, G719A в 18 экзоне (определяет мутации G719S, G719C, G719D, G719A, но не различает их), делеции в 19 экзоне (определяет 35 мутаций, но не различает их), S768I, T790M и инсерции (определяет

4 мутации, но не различает их) в 20 экзоне, L858R (определяет 2 мутации, но не различает их) и L861Q в 21 экзоне гена *EGFR*.

Нарушение целостности упаковки при транспортировании.

Использование набора с истёкшим сроком годности или нарушение условий хранения набора.

Нарушение условий хранения при транспортировании образцов.

Время проведения реакции мультиплексной ПЦР составляет 60 мин. (без учета пробоподготовки) в зависимости от типа амплификатора.

3. Состав набора реагентов

Форма комплектации

Набор реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» выпускается в 1 форме комплектации - «Тест-*EGFR*-ткань-мульти».

Количество анализируемых проб

Набор реагентов рассчитан на 30 реакций для каждого мультиплекса (719 – мутации G719S, G719C, G719D, G719A; 768 – S768I; 790 – T790M; 858 – L858R (2 мутации); 861 – L861Q; del – 35 делеций и ins – 4 инсерции), что соответствует определению 24 исследуемых образцов с отрицательным и положительным контролем в каждой постановке или 10 единичным постановкам с отрицательным и положительным контролями.

Состав набора реагентов

Таблица 2 – Состав набора реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти»

№ пп	Наименование реагента	Краткое наименование на крышке пробирки	Внешний вид	Количество, объём
1	ПЦР-буфер	ПЦР-б	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 840 мкл
2	Праймер-микс 719	719	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл
3	Праймер-микс 768	768	Прозрачная бесцветная жидкость,	1 пробирка, 300 мкл

			может иметь оттенок сиреневого цвета	
4	Праймер-микс 790	790	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл
5	Праймер-микс 858	858	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл
6	Праймер-микс 861	861	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл
7	Праймер-микс del	del	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл
8	Праймер-микс ins	ins	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл
9	ПКО	ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 420 мкл
10	ОКО	ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 420 мкл

Примечание: Эксплуатационная документация (инструкция по применению и паспорт качества) не входит в состав изделия, но входят в комплект поставки изделия. Набор реагентов, для обеспечения соблюдения условий транспортирования, помещается в термоконтейнер пенополиуретановый многоразового использования для временного хранения и транспортирования с подготовленными хладоэлементами. Термоконтейнер вкладывается в коробку из картона, туда же помещается инструкция по применению и паспорт качества на каждую поставляемую партию изделия.

ПЦР-буфер готов к использованию и представляет собой буфер, содержащий все основные компоненты, включая термостабильную ДНК-полимеразу с «горячим стартом», ДНТФ урацил-ДНК-гликозилазу (UDG), MgCl₂.

Праймер-микс 719 готов к использованию и содержит мультиплексную смесь праймеров и зондов - праймеры и флуоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды к мутациям G719A, G719S, G719C, G719D в 18 экзоне гена *EGFR* (детекция осуществляется по каналу FAM) и к нормальному варианту гена *EGFR*, используемому в качестве контроля взятия материала-КВМ (детекция осуществляется по каналу HEX).

Праймер-микс 768 готов к использованию и содержит мультиплексную смесь праймеров и зондов - праймеры и флуоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды к мутации S768I в 20 экзоне гена *EGFR* (детекция осуществляется по каналу FAM) и к нормальному варианту гена *EGFR*, используемому в качестве контроля взятия материала-КВМ (детекция осуществляется по каналу HEX).

Праймер-микс 790 готов к использованию и содержит мультиплексную смесь праймеров и зондов - праймеры и флуоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды к мутации T790M в 20 экзоне гена *EGFR* (детекция осуществляется по каналу FAM) и к нормальному варианту гена *EGFR*, используемому в качестве контроля взятия материала-КВМ (детекция осуществляется по каналу HEX).

Праймер-микс 858 готов к использованию и содержит мультиплексную смесь праймеров и зондов - праймеры и флуоресцентно-меченые зонды к мутации L858R в 21 экзоне *EGFR* (различает 2 мутации, но не определяет их) (детекция осуществляется по каналу FAM) и к нормальному варианту гена *EGFR*, используемому в качестве контроля взятия материала-КВМ (детекция осуществляется по каналу HEX).

Праймер-микс 861 готов к использованию и содержит мультиплексную смесь праймеров и зондов - праймеры и флуоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды к мутации L861Q в 21 экзоне гена *EGFR* (детекция осуществляется по каналу FAM) и к нормальному варианту гена *EGFR*, используемому в качестве контроля взятия материала-КВМ (детекция осуществляется по каналу HEX).

Праймер-микс del готов к использованию и содержит мультиплексную смесь праймеров и зондов - праймеры и

флуоресцентно-меченые зонды к 35 мутациям в 19 экзоне гена *EGFR* (детекция осуществляется по каналу FAM) и к нормальному варианту гена *EGFR*, используемому в качестве контроля взятия материала-КВМ (детекция осуществляется по каналу HEX).

Праймер-микс ins готов к использованию и содержит мультиплексную смесь праймеров и зондов – праймеры и флуоресцентно-меченые зонды к 4 мутациям в 20 экзоне гена *EGFR* (детекция осуществляется по каналу FAM) и к нормальному варианту гена *EGFR*, используемому в качестве контроля взятия материала-КВМ (детекция осуществляется по каналу HEX).

Положительный контрольный образец (ПКО) готов к использованию и представляет собой смесь плазмидных ДНК, содержит 12,5% мутантных и 87,5% нормальных копий ДНК.

Отрицательный контрольный образец (ОКО) готов к использованию и представляет собой деионизованную воду, свободную от ДНКаз.

В составе набора отсутствуют лекарственные средства для медицинского применения, вещества человеческого или животного происхождения.

4. Характеристики набора реагентов

4.1 Технические и функциональные характеристики

Таблица 3 – Набор реагентов «Тест-EGFR-ткань-мульти»

Наименование показателя		Характеристики и нормы		Пункт ТУ
1. 1 Технические характеристики				
Наименование реагента	Краткое наименование на крышке пробирки	Внешний вид	Количество, объем, мкл ($\pm 5\%$)	
ПЦР-буфер	ПЦР-б	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 840 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
Праймер-микс 719	719	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
Праймер-микс 768	768	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
Праймер-микс 790	790	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
Праймер-микс 858	858	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
Праймер-микс 861	861	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
Праймер-микс del	del	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
Праймер-микс ins	ins	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок сиреневого цвета	1 пробирка, 300 мкл	Раздел 7, пункт 7.6

Наименование показателя		Характеристики и нормы		Пункт ТУ
ПКО	ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 420 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
ОКО	ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка, 420 мкл	Раздел 7, пункт 7.6
1.2 Комплектность		Пункт 1.4		Раздел 7, пункт 7.10
1.3 Маркировка		Пункт 4		Раздел 7, пункт 7.10
1.4 Упаковка		Пункт 5		Раздел 7, пункт 7.10
2. Функциональные характеристики				
2.1. Положительный результат с ПКО		Регистрация роста сигнала флуоресценции в пробирках с ПКО по каналам FAM Ct \leq 35 и HEX Ct \leq 35		Раздел 7, пункт 7.8.2
2.2. Отрицательный результат с ОКО		В пробирках с ОКО по каналам FAM, HEX Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует).		Раздел 7, пункт 7.8.2
2.3. Прохождение реакции в пробирках с КОС		В пробирках с КОС по каналу FAM Ct не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует), либо в мультиплексе del Ct \geq 35, а по каналу HEX Ct \leq 35.		Раздел 7, пункт 7.8.2

Примечание: при проведении контрольной ПЦР в качестве контрольного образца специфичности (КОС), используют смесь геномной ДНК человека, выделенной из клеточной линии U-937 с концентрацией 1 000 копий на 1 мкл.

В случае неисправности медицинского изделия, отклонений в его функционировании, которые могут влиять на безопасность, изменений аналитических характеристик изделия незамедлительно прекратить применение медицинского изделия и сообщить производителю (см. раздел 14 Инструкции).

Метрологическая прослеживаемость контрольного образца – ПКО

Метрологическая прослеживаемость контрольного образца – ПКО подтверждена спектрофотометрическим методом, путем

проведения проверки концентрации стокового раствора U-937, составляющего нормальный вариант копии ДНК и концентрации плазмид мутаций в гене *EGFR*: G719S, G719C, G719D, G719A, S768I, T790M, L858R, L861Q, участок гена с Del и Ins, составляющих мутантные копии ДНК в ПКО.

4.2 Характеристики аналитической эффективности

4.2.1 Аналитическая специфичность

Специфичен по отношению к мутациям G719S, G719C, G719D, G719A в 18 экзоне (определяет мутации, но не различает их), делеции в 19 экзоне (определяют 35 мутаций, но не различает их), S768I, T790M и инсерции (определяет 4 мутации, но не различает их) в 20 экзоне, L858R (определяет 2 мутации, но не различает их) и L861Q в 21 экзоне гена *EGFR* и к нормальному фрагменту гена *EGFR* человека.

Аналитическая специфичность целевых фрагментов гена *EGFR* подтверждалась *in silico* с помощью ресурса BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Список определяемых мутаций, делеций и инсерций с указанием ID мутации представлен в таблице 5 (набор реагентов обнаруживает наличие любой из 35 делеций и 4 инсерций, но не различает их).

Таблица 5 – Список определяемых мутаций с указанием ID мутации

Набор мутаций, определяемых с помощью набора реагентов «Тест-EGFR-ткань-мульти»			COSMIC ID*
18 экзон	G719S	2155G>A	6252
	G719C	2155 G>T	6239
	G719D	2156 G>A	6252
	G719A	2156 G>C	6239
19 экзон	Del	2235_2249del15	6223
		2235_2252>AAT (complex)	13551
		2236_2253del18	12728
		2237_2251del15	12678
		2237_2254del18	12367
		2237_2255>T (complex)	12384
		2236_2250del15	6225
		2238_2255del18	6220
		2238_2248>GC (complex)	12422
		2238_2252>GCA (complex)	12419
		2239_2247del19	6218
		2239_2253del15	6254
2239_2256del18	6255		

		2239_2248TTAAGAGAAG>C	12382
		2239_2258>CA (complex)	12387
		2240_2251del12	6210
		2240_2257del18	12370
		2240_2254del15	12369
		2239_2251>C (complex)	12383
		2238_2252del15	23571
		2237_2252>T (complex)	12386
		2236_2252>AT (complex)	26680
		2236_2251>T (complex)	26513
		2235_2255>GGT (complex)	85797
		c.2235_2246del12	28517
		2235_2251>AG (complex)	13549
		2236_2253>CAA (complex)	22999
		2237_2257>TCT	18427
		2233_2247>del15	26038
		2235_2255>AAT	12385
		2239_2256>CAA	12403
		2237_2253>TTGCT	12416
		2235_2248>AATTC	13550
		2235_2251>AATTC	13552
		2253_2276>del24	13556
20 ЭКЗОН	S768I	2303 G>T	6241
	T790M	2369 C>T	6240
	ins	2307_2308ins9GCCAGCGTG	12376
		2319_2320insCAC	12377
		2310_2311insGGT	12378
2309_2310AC>CCAGCGTGGAT		13558	
21 ЭКЗОН	L858R	2573T>G	6224
		2573_2574TG>GT	12429
	L861Q	2582T>A	6213

*Идентификационный номер мутации согласно международной базе соматических мутаций при раковых заболеваниях COSMIC (Catalog of Somatic Mutations in Cancer).

4.2.2 Аналитическая чувствительность

10 копий гена *EGFR* в 1 мкл раствора ДНК.

4.2.3 Прецизионность в условиях повторяемости

Для оценки прецизионности в условиях повторяемости положительный контрольный образец, отрицательный контрольный образец, контрольный образец специфичности были исследованы по 10 повторов.

Данные по повторяемости получают внутри лаборатории для конкретного оборудования и внутри конкретной партии набора реагентов.

Для оценки прецизионности в условиях повторяемости рассчитывают среднее арифметическое выборки, дисперсию, среднеквадратическое отклонение и коэффициент вариации по полученным значениям в повторах контрольных образцов.

Результаты исследования показали, что коэффициент вариации в условиях повторяемости набора составляет не более 3%.

4.2.4. Прецизионность в условиях воспроизводимости

Оценку воспроизводимости тест-системы проводят аналогично расчёту прецизионности в условиях повторяемости, однако для тестирования используют различные партии набора реагентов, реакции ставят в разных лабораториях, разные операторы, в разные дни, на разных ПЦР-амплификаторах (Блок воспроизводимости 1, Блок воспроизводимости 2, Блок воспроизводимости 3, Блок воспроизводимости 4).

При проведении прецизионности в условиях воспроизводимости наблюдалась полная внутривыставочная, межвыставочная и межсерийная воспроизводимость, коэффициент вариации не превышает 5%.

4.2.5 Минимальное содержание опухоли для проведения анализа – 30% по результатам морфологического исследования опухолевого материала врачом-гистологом

4.2.6 Предел обнаружения (LoD), определенный как наименьшая частота заявленных аллелей в образце в генах *EGFR*, которое способно выявить изделие – 5 %

4.2.7 Подтверждена специфичность изделия в отношении микрофлоры легкого в максимальной концентрации патогена. При исследовании ДНК штаммов из коллекции ATCC (American Type Culture Collection, США): *Streptococcus pneumoniae* (ATCC® 49619™), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, Strain Seattle 1945 (ATCC® 25923™), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC® BAA-1705™),

Mycoplasma pneumoniae, Strain PI 1428 (ATCC® 29085™), *Chlamydophila pneumoniae*, Strain CM-1 (ATCC® VR-1360™), *Legionella pneumophila* subsp. *pneumophila*, Strain Philadelphia 1 (ATCC® 33152™), *Staphylococcus epidermidis*, FDA Strain PCI 1200 (ATCC® 12228™) в концентрации от 10^6 до 10^7 клеток на мл неспецифических реакций выявлено не было. Данные микроорганизмы не оказывают влияние на способность набора реагентов «Тест-EGFR-ткань-мульти» различать мутантные и нормальные варианты гена *EGFR*.

4.2.8. Проведено тестирование изделия на гомологичных генах *ERBB2/HER2*, *ERBB3/HER3*, *ERBB4/HER4*. Набор реагентов «Тест-EGFR-ткань-мульти» не дает перекрестный реакций с гомологичными генами *ERBB2/HER2*, *ERBB3/HER3*, *ERBB4/HER4*.

4.2.9 Влияние интерферирующих веществ

Результаты исследования по оценке влияния интерферирующих веществ представлены в разделе 8.3 Инструкции.

4.3. Характеристики клинической эффективности

В ходе проведения клинических испытаний было отобрано 105 образцов ткани, фиксированной в 10% растворе формалина и заключённой в парафиновый блок (FFPE-блок), от пациентов с диагнозом немелкоклеточный рак легкого IB–IIIA и IV стадией заболевания с подтвержденным положительным статусом исследуемых мутаций в гене EGFR.

Каждый образец был протестирован в двух сериях с помощью исследуемого набора реагентов «Тест-EGFR-ткань-мульти», производства ООО «ТестГен».

Для проведения ПЦР-исследования были использованы амплификаторы, рекомендуемые производителем исследуемого набора реагентов:

- Амплификатор детектирующий ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);
- Амплификатор CFX 96 («Bio-Rad», США);
- Амплификатор QuantStudio 5 («Thermo Fisher Scientific», США).

Воспроизводимость результатов 100%. Результаты изучения диагностических характеристик исследуемого медицинского изделия по отношению к каждой выявляемой мутации в гене *EGFR* приведены в таблице 6.

Таблица 6

Определяемый аналит	Мутация	Количество наблюдений с положительными пробами	Количество наблюдений с отрицательными пробами	Диагностическая чувствительность с доверительной вероятностью 95 %	Диагностическая специфичность с доверительной вероятностью 95 %
Мутации G719S, G719C, G719D, G719A в 18 экзоне гена EGFR (определяет мутации, но не различает их)	G719S (2155G>A)	8	202	100% (95% ДИ:76,84%-100%)	100% (95% ДИ:99,55%-100%)
	G719C (2155 G>T)	2	208		
	G719D (2156 G>A)	2	208		
	G719A (2156 G>C)	2	208		
	2235_2249del15	10	200		

<p>Делеции в 19 экзоне гена <i>EGFR</i> (определяет 35 мутаций, но не различает их)</p>	2235_2252>AAT (complex)	2	208	100% (95% ДИ:97,11%-100%)	100% (95% ДИ:99,95%-100%)
	2236_2253del18	2	208		
	2237_2251del15	6	204		
	2237_2254del18	2	208		
	2237_2255>T (complex) (E746_S752>V)	6	204		
	2236_2250del15	8	202		
	2238_2255del18	10	200		
	2238_2248>GC (complex) (L747_A750>P)	2	208		
	2238_2252>GCA (complex)	2	208		
	2239_2247del9	2	208		
	2239_2253del15	2	208		
	2239_2256del18	8	202		
	2239_2248TTAAG AGAAG>C	2	208		
	2239_2258>CA (complex) (L747_P753>Q)	6	204		
	2240_2251del12	8	202		
	2240_2257del18	2	208		
	2240_2254del15	4	206		
	2239_2251>C (complex) (L747_T751>P)	6	204		
	2238_2252del15	2	208		
	2237_2252>T (complex)	4	206		
	2236_2252>AT (complex)	2	208		
	2236_2251>T (complex)	2	208		
	2235_2255>GGT (complex)	2	208		
	c.2235_2246del12	4	206		
	2235_2251>AG (complex)	2	208		
	2236_2253>CAA (complex)	2	208		
	2237_2257>TCT	2	208		
	2233_2247>del15	2	208		
2235_2255>AAT	2	208			
2239_2256>CAA	2	208			

	2237_2253>TTGC T	2	208		
	2235_2248>AATT C	2	208		
	2235_2251>AATT C	2	208		
	2253_2276>del24	2	208		
Мутация S768I в 20 экзоне гена <i>EGFR</i>	S768I (2303 G>T)	2	208	100% (95% ДИ:15,81%-100%)	100% (95% ДИ:98,24%-100%)
Мутация T790M в 20 экзоне гена <i>EGFR</i>	T790M (2369C>T)	14	196	100% (95% ДИ:76,84%-100%)	100% (95% ДИ:98,14%-100%)
Инсерции в 20 экзоне гена <i>EGFR</i> (определяет 4 мутации, но не различает их)	2307_2308ins9GCC AGCGTG	2	208	100% (95% ДИ:76,84%-100%)	100% (95% ДИ:99,55%-100%)
	2319_2320insCAC	2	208		
	2310_2311insGGT	6	204		
	2309_2310AC>CC AGCGTGGAT	4	206		
Мутации L858R в 21 экзоне гена <i>EGFR</i> (определяет 2 мутации, но не различает их)	L858R(2573T>G)	36	174	100% (95% ДИ:90,75%-100%)	100% (95% ДИ:99,04%-100%)
	L858R(2573_2574T G>GT)	2	208		
Мутация L861Q в 21 экзоне гена <i>EGFR</i>	L861Q (2582T>A)	2	208	100% (95% ДИ:15,81%-100%)	100% (95% ДИ:98,24%-100%)

5. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов

В пограничную зону риска вошли опасности:

1. Потеря функциональных свойств реагентов, входящих в набор, из-за транспортирования, хранения или эксплуатации в несоответствующих условиях;
2. Перекрестная контаминация образцов;
3. Загрязнение клинического материала ингибирующими веществами в концентрациях, превышающих допустимые;
4. Контаминация реакционных смесей и образцов исследуемой ДНК содержимым из пробирки ПКО или продуктами амплификации;
5. Проведение анализа с использованием пробы ДНК низкого качества (низкая концентрация и/или плохая очистка);
6. Невыполнение требований по пробоподготовке, проведению анализов и утилизации вследствие работы с набором неквалифицированным персоналом;
7. Использование непригодного для применения набора (использование по истечении срока годности или при нарушении упаковки).

В области недопустимой зоны риски не выявлены.

Совокупный остаточный риск применения медицинского изделия «Набора реагентов для качественного определения статуса мутаций гена *EGFR* методом мультиплексной ПЦР-РВ в пробе геномной ДНК человека из образцов фиксированной ткани «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» по ТУ 21.20.23-033-97638376-2020» является допустимым, польза от его применения превышает риск.

6. Меры предосторожности при работе с набором

Класс в зависимости от потенциального риска применения – 2б – в соответствии с номенклатурной классификацией медицинских изделий, утверждаемой приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 06.06.2012 N 4н.

Все составные части и реагенты, входящие в состав набора реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти», относятся к 4 классу опасности (вещества малоопасные) в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 «ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности».

Реагенты, входящие в набор «Тест-*EGFR*-ткань-мульти», обладают низкой упругостью пара и исключают возможность ингаляционного отравления.

Реагенты, входящие в набор «Тест-*EGFR*-ткань-мульти», не токсичны, поскольку готовятся путём смешивания отдельных нетоксичных компонентов.

Необходимо одновременно обеспечить и соблюдать персоналом правила биологической безопасности и требования к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами исследуемых проб помещений и оборудования.

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала с соблюдением санитарно-эпидемических правил СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий». Следовать рекомендациям, изложенным в МУ 287-113, МУ 1.3.2569-09.

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- удалять неиспользованные реактивы в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий»;

ВНИМАНИЕ! При удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

1. применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции;
2. набор реагентов по истечении срока годности или при нарушении упаковки применению не подлежит;
3. допускать к работе с набором только специально обученный персонал (специалист с высшим медицинским образованием, прошедший обучение на лицензированных курсах специализации по ПЦР-диагностике, а также лаборант со средним специальным медицинским образованием);
4. не использовать набор по истечении срока годности;
5. избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть поражённое место водой и обратиться за медицинской помощью.

Необходимых мер предосторожности в отношении влияния магнитных полей, внешних электрических воздействий, электростатических разрядов, давления или перепадов давления, перегрузки, источников термического воспламенения не предусмотрено.

В составе набора отсутствуют вещества человеческого или животного происхождения, обладающие потенциальной инфекционной природой, поэтому меры предосторожности против любых специальных, несвойственных рисков при использовании или реализации изделия не предусмотрены.

7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором реагентов

Работа с набором реагентов осуществляется в рабочей зоне 3 (для приготовления реакций) (МУ 1.3.2569-09).

Оборудование для проведения мультиплексной ПЦР:

1. Бокс биологической безопасности II и III класса защиты.
2. Вортекс.
3. Набор электронных или автоматических дозаторов переменного объёма.
4. Холодильник от 2 до 8°C с морозильной камерой не выше минус 16°C.

5. Амплификатор⁶ с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени по каналам, соответствующим флуорофорам FAM и HEX:

- Амплификатор детектирующий ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, Регистрационное удостоверение № ФСР 2011/10229 от 03.03.2011 г.);

- Амплификатор CFX 96 («Bio-Rad», США, Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016 г.);

- Амплификатор QuantStudio 5 («Thermo Fisher Scientific», США, Регистрационное удостоверение № РЗН 2019/8446 от 06.06.2019 г.).

Материалы и реагенты, не входящие в состав изделия:

ВНИМАНИЕ! При работе с ДНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «DNase-free».

Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером до 1000 мкл, 200 мкл, 20 мкл и 10 мкл (например, «Axygen», США);

Одноразовые пробирки Эппендорф на 1,5 мл;

Планшеты для ПЦР с оптически прозрачной плёнкой (например, «Axygen», США) или тонкостенные одноразовые пробирки для ПЦР с оптически прозрачной плоской крышкой:

- пробирки для ПЦР объёмом 0,2 мл (с оптически прозрачными стенками в случае детекции через стенку пробирки),

- пробирки для ПЦР объёмом 0,2 мл в стрипах;

Отдельный халат и одноразовые перчатки без талька;

Ёмкость с дезинфицирующим раствором;

Штативы «рабочее место» для пробирок объёмом 0,2 мл или для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия).

7. Набор для выделения ДНК из образцов ткани, фиксированной в 10% растворе нейтрального формалина и заключённой в парафиновый блок – FFPE-блок (см. п. 8.2 Инструкции).

⁶ Амплификаторы должны обслуживаться, калиброваться и использоваться в соответствии с рекомендациями производителя. Использование данного набора в неоткалиброванном приборе может оказать влияние на рабочие характеристики набора реагентов.

8. Анализируемые образцы

Тип анализируемого образца

Материалом для проведения ПЦР служат пробы геномной ДНК человека, выделенные ткани, фиксированной в 10% растворе формалина и заключённой в парафиновый блок (FFPE-блок).

8.1 Процедура получения биологического материала

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2012.

Забор биологического материала и его упаковку осуществляет работник медицинской организации, обученный требованиям и правилам биологической безопасности при работе и сборе материала, подозрительного на зараженность микроорганизмами I-IV группы патогенности.

Забор материала на исследование

Биопсийный и (или) операционный материал.

Материал забирают из патологически изменённого очага: из его центральной зоны и зоны, граничащей с неизменёнными тканями. Взятый материал помещают в ёмкость с 10% раствором нейтрального формалина. После фиксации проводят процедуру лабораторной обработки биологического материала, которая включает в себя следующие процедуры – проводка (обезвоживание и пропитывание парафином); заливка в парафин с изготовлением парафиновых блоков – FFPE-блоков); микротомия (изготовление парафиновых срезов).

Критерии пригодности гистологических препаратов для выделения ДНК для последующего молекулярно-генетического анализа опухолевых клеток:

1. По результатам морфологического исследования опухолевые зоны должны занимать не менее 30% площади ткани в срезе с FFPE-блока;
2. По результатам морфологического исследования зоны некроза и кровоизлияния в совокупности должны занимать не более 15% площади ткани в срезе с FFPE-блока.

В случае если образец не соответствует хотя бы одному из перечисленных критериев, рекомендуется использовать другой образец.

При подготовке срезов с парафиновых блоков необходимо минимизировать риск кросс-контаминации образцов, для чего необходимо:

- работать в одноразовых неопудренных перчатках;
- использовать одноразовые лезвия для микротомы и стерильные пинцеты;
- первые два среза с каждого блока утилизировать, а для молекулярного исследования использовать срезы, начиная с третьего;
- не помещать срезы на водяную баню.

Условия транспортирования, хранения исходного биологического материала срезы с FFPE-блоков толщиной около 5 микрон):

- при комнатной температуре (15-25 °С) - в течение 2 месяцев;
- при температуре минус 20 °С - в течение 1 года.

Условия транспортирования, хранения FFPE-блоков:

- при температуре от 15 до 25 °С – не более 3-х лет.

Утилизация клинического материала (класс Б) осуществляется в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.

8.2 Процедура получения пробы ДНК человека, выделенной из биологического материала

Для выделения геномной ДНК человека из образцов ткани, фиксированной в 10% растворе нейтрального формалина и заключённой в парафиновый блок – FFPE-блок, рекомендуется использование следующих комплектов реагентов:

- Набор реагентов для выделения геномной ДНК человека из фиксированных в формалине и заключённых в парафин тканей (ДНК-Ткань-Ф) по ТУ 21.20.23-009-97638376-2016, производства ООО «ТестГен», Россия (регистрационное удостоверение № РЗН 2018/7772 от 30.10.2018 г);

- Набор реагентов для выделения геномной ДНК человека из фиксированных в формалине и заключённых в парафин тканей

(ДНК-Ткань-М) по ТУ 21.20.23-012-97638376-2019, производства ООО «ТестГен», Россия (регистрационное удостоверение № РЗН 2021/14273 от 06.05.2021 г).

Во время процедуры выделения ДНК необходимо строго соблюдать протокол и требования инструкции применяемого набора реагентов.

Условия возможного хранения анализируемых образцов ДНК

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 24 часов,
- при температуре от минус 18 до минус 22 °С – в течение 1 месяца,
- при температуре минус 70 °С – длительно.

8.3 Интерферирующие вещества и ограничения по использованию анализируемого материала

Влияние потенциально интерферирующих веществ на работу набора реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» было проверено в отношении потенциально интерферирующих веществ, которые могут происходить от следующих внешних и внутренних источников:

- 1) вещества, используемые при лечении пациента (например, лекарственные средства);
- 2) вещества, встречающиеся в конкретных видах образцов - в данном случае, загрязнение образца ткани гемоглобином крови может ингибировать ПЦР при недостаточной очистке при проведении процедуры выделения ДНК;
- 3) вещества, добавляемые во время подготовки образца - в данном случае парафин, который используется для приготовления FFPE-блока.

Исследованные концентрации интерферирующих веществ, которые приведены в таблице 7.

Таблица 7

Интерферирующие вещества	Максимальная концентрация
Эндогенные интерферирующие вещества	
Гемоглобин	260 мкг/мл
Экзогенные интерферирующие вещества	
<i>Вещества, добавляемые во время подготовки образца</i>	
Парафин	$1 \cdot 10^{-4}$ мкл/мкл
Препараты, назначаемые для лечения онкологических заболеваний	
Гефитиниб (показан при местно-распространенном или метастатическом НМРЛ с наличием активирующих мутаций в гене <i>EGFR</i>)	0,05 мг/мл
Эрлотиниб (применяется для терапии НМРЛ, рака поджелудочной железы)	0,02 мг/мл
Этопозид (используется для лечения рака яичников, мелкоклеточного и немелкоклеточного рака легкого, желудка и др.)	0,02 мг/мл
Паклитаксел (применяется для лечения рака яичников, молочной железы, НМРЛ, шейки матки, поджелудочной железы, саркомы Капоши)	0,006 мг/мл
Гемцитабин (используется в качестве терапии рака поджелудочной железы, мочевого пузыря, НМРЛ, яичников, груди)	0,04 мг/мл
Цисплатин (противоопухолевое средство)	0,002 мг/мл

На основании результатов исследования потенциально интерферирующие вещества, встречающиеся при процедуре выделения ДНК из клинического материала, оцениваемые при концентрациях, которые, как ожидается, будут встречаться при нормальном использовании набора реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти», не оказывают влияние на результат анализа.

Ограничения по использованию анализируемого материала:

- анализируемый материал не подлежит использованию при нарушении условий хранения и транспортировки (температура, продолжительность, многократное замораживание-оттаивание);
- не допускается использование образцов, загрязнённых посторонним биологическим материалом;

- минимальное содержание опухоли для проведения анализа – 30% по результатам морфологического исследования опухолевого материала врачом-гистологом;
- чистота анализируемой ДНК, выраженная в отношении оптических плотностей (A260/280нм), необходимая для проведения исследования, должна составлять не менее 1,4;
- концентрация ДНК, достаточная для проведения исследования, должна составлять 1-50 нг/мкл;
- для анализа необходимо использовать пробы геномной ДНК, выделенные из ткани опухоли, подтвержденной гистологически.

9. Подготовка компонентов набора для исследования

Установка, монтаж, настройка, калибровка медицинского изделия для ввода в эксплуатацию не требуется.

ВНИМАНИЕ! При работе с ДНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «DNase-free». Обязательно использовать отдельный наконечник с аэрозольным барьером для каждого компонента реакции.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением анализа.

Перед приготовлением реакций необходимо произвести влажную уборку ПЦР-бокса, а также оборудования и материалов, находящихся в нём, с применением дезинфицирующих средств, пригодных для использования в ПЦР-лабораториях, включить УФ-лампу на 20-30 мин.

1. Тщательно перемешать содержимое пробирок с выделенной для анализа ДНК, ПЦР-буфером, Праймер-миксами, ОКО и ПКО, переворачивая каждую пробирку 10 раз или перемешивая на вортексе на низкой скорости в течение 3-5 сек., затем осадить капли с крышек пробирок коротким центрифугированием.

2. Отобрать необходимое количество пробирок объёмом 0,2 мл для ПЦР из расчёта для каждого используемого мультиплекса: количество исследуемых образцов⁷ + 1 ПКО + 1 ОКО.

⁷ Для повышения точности рекомендуется анализировать каждый образец в двух повторах.

В зависимости от необходимости выявления конкретных мутаций, каждый образец ставится с одним или несколькими мультиплексами (праймер-миксами).

В таблице 8 приведена схема расположения ПЦР-пробирок при использовании семи мультиплексов.

Таблица 8 – Схема расположения пробирок для ПЦР

Мультиплекс	Образец 1	Образец n	ПКО	ОКО
719 (статус мутаций G719S, G719C, G719D, G719A, определяет, но не различает их)	○	○	○	○
768 (статус мутаций S768I)	○	○	○	○
790 (статус мутаций T790M)	○	○	○	○
858 (статус 2 мутаций L858R, определяет, но не различает их)	○	○	○	○
861 (статус мутации L861Q)	○	○	○	○
Del (статус 35 делеций, определяет, но не различает их)	○	○	○	○
Ins (статус 4 инсерции, определяет, но не различает их)	○	○	○	○

10. Проведение анализа

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

1. Подготовка ПЦР;
2. ПЦР-амплификация ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени;
3. Интерпретация результатов (подробно описано в главе 11).

А) Подготовка ПЦР

(производится в ЗОНЕ пре-ПЦР – помещении для раскапывания реагентов и подготовки к ПЦР-амплификации)

Общий объём реакции – 20 мкл.

ВНИМАНИЕ! Запрещено изменять объём реакции.

Для приготовления каждой реакции необходимо:

1. ПЦР-буфер – 4 мкл,
2. Соответствующий праймер-микс (719, 768, 790, 858, 861, del, ins) – 10 мкл,
3. Образец (исследуемый образец ДНК, ПКО, ОКО) – 6 мкл.

Готовить реакционные пробирки необходимо в следующем порядке:

1. Промаркировать пробирки на 0,2 мл для ПЦР. Для каждого мультиплекса берётся необходимое количество пробирок для исследуемых образцов + 1 ПКО + 1 ОКО.

2. Внести в каждую пробирку по 4 мкл ПЦР-буфера⁸.

3. Внести по 10 мкл Праймер-миксов (719, 768, 790, 858, 861, del, ins) в пробирки для соответствующих мультиплексов (таблица 8)³.

⁸ Рекомендуются сначала приготовить смесь праймер-микса и ПЦР-буфера для каждого мультиплекса в отдельной пробирке на 1,5-2,0 мл из расчёта: $(n+3) \times 4$ мкл ПЦР-буфера + $(n+3) \times 10$ мкл соответствующего праймер-микса, где n – количество образцов. Перемешать на вортексе, осадить капли коротким центрифугированием и внести по 14 мкл в ПЦР-пробирки для соответствующего мультиплекса согласно таблице 8.

4. Внести в соответствующие пробирки для исследуемых образцов по 6 мкл выделенной ДНК⁹. В пробирки для ПКО и ОКО ДНК не вносится.

6. Внести в соответствующие пробирки каждого используемого мультиплекса по 6 мкл ПКО.

7. Внести в соответствующие пробирки каждого используемого мультиплекса по 6 мкл ОКО.

8. Для сброса капель со стенок отцентрифугировать пробирки в течение 1-3 секунд на микроцентрифуге-вортексе.

Б) ПЦР-амплификация ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени

(производится в ЗОНЕ ПЦР – помещении для проведения ПЦР-амплификации)

1. Установить пробирки в реакционный модуль прибора для ПЦР в реальном времени. Рекомендуется устанавливать пробирки по центру термоблока для равномерного прижима пробирок нагревающей крышкой.

2. Запрограммировать прибор для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала, соблюдая инструкцию для используемого прибора. Протокол ПЦР указан в таблице 9 и 10.

3. Указать количество и идентификаторы образцов, отметить расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой.

4. Удостовериться, что в параметрах оптических измерений программы амплификации задействованы каналы детекции FAM, HEX.

5. Запустить ПЦР с детекцией флуоресцентного сигнала.

6. По окончании выполнения программы приступить к анализу результатов.

⁹ Для предотвращения ингибирования ПЦР объем образца может быть снижен до 3 мкл, при этом объем реакции доводится до 20 мкл деионизованной водой из ОКО.

Таблица 9 – Протокол ПЦР для приборов производства ООО «ДНК-Технология»

Стадия	Температура, °С	Время, мин:сек	Каналы детекции	Всего циклов
1	95	02:00	-	1
2	95	00:10	-	50
	64	00:15	FAM, HEX	

ВНИМАНИЕ! Для приборов производства «ДНК-Технология» следует использовать заводские параметры экспозиции оптических измерений для каждого канала.

Таблица 10 – Протокол ПЦР для приборов других производителей

Стадия	Температура, °С	Время, мин:сек	Каналы детекции	Всего циклов
1	95	02:00	-	1
2	95	00:10	-	50
	62	00:15	FAM, HEX	

11. Регистрация и интерпретация результатов

Регистрацию результатов проводят по завершении ПЦР автоматически с помощью программного обеспечения используемого прибора.

Рекомендации по установке пороговой линии

Для амплификаторов любых моделей пороговая линия устанавливается индивидуально для каждого канала на уровне, соответствующем 5-10% от максимального уровня флуоресценции, полученного для положительного контрольного образца в последнем цикле амплификации.

Интерпретация результатов выполняется по значениям C_t каналов FAM, HEX (табл. 11).

Сначала оценивают прохождение реакции и значения C_t в контрольных образцах. Интерпретацию результатов в исследуемых образцах начинают только при правильном прохождении ПКО и ОКО.

В случае использования амплификатора CFX 96 может возникнуть необходимость выравнивания некоторых графиков с

некорректным уклоном с помощью настроек (Settings) базовых циклов (Baseline Threshold → Baseline Cycles).

Таблица 11 – Интерпретация результатов по каналам FAM и HEX

Мультиплекс (праймер-микс)	Канал, соответствующий флуорофору	
	FAM	HEX
719	мутации G719S, G719C, G719D, G719A в 18 экзоне гена <i>EGFR</i> (определяет мутации но не различает их)	КВМ (ген <i>EGFR</i> человека)
768	мутация S768I в 20 экзоне гена <i>EGFR</i>	КВМ (ген <i>EGFR</i> человека)
790	мутация T790M в 20 экзоне гена <i>EGFR</i>	КВМ (ген <i>EGFR</i> человека)
858	мутации L858R в 21 экзоне гена <i>EGFR</i> (определяет 2 мутации, но не различает их)	КВМ (ген <i>EGFR</i> человека)
861	мутация L861Q в 21 экзоне гена <i>EGFR</i>	КВМ (ген <i>EGFR</i> человека)
Del	делеции в 19 экзоне гена <i>EGFR</i> (определяет 35 мутаций, но не различает их)	КВМ (ген <i>EGFR</i> человека)
Ins	инсерции в 20 экзоне гена <i>EGFR</i> (определяет 4 мутации, но не различает их)	КВМ (ген <i>EGFR</i> человека)

Интерпретация результатов в контрольных образцах

Для отрицательного и положительного контрольных образцов должны быть получены следующие результаты (табл. 12).

Таблица 12 – Результаты исследования для ОКО и ПКО

Контрольный образец	Выбранный флуорофор	
	FAM (мутации G719S, G719C, G719C, G719D, S768I, T790M, L858R, L861Q, del, ins)	HEX (нормальный вариант гена <i>EGFR</i>)
ОКО	Отсутствует	Отсутствует
ПКО	Ct ≤35	Ct ≤35

При получении для отрицательного контрольного образца значений, отличающихся от указанных в таблице 12, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

При получении для положительного контрольного образца значений, отличающихся от указанных в таблице 12, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов. При повторном получении для положительного контрольного образца значений, отличающихся от указанных в таблице 12, необходимо заменить реагенты.

Интерпретация результатов в исследуемых образцах

Регистрацию результатов проводят с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени».

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по двум каналам (таблица 11):

- по каналу FAM регистрируется сигнал, свидетельствующий о накоплении продуктов амплификации ДНК мутантных вариантов гена *EGFR*;

- по каналу HEX регистрируется сигнал, свидетельствующий о накоплении продуктов амплификации ДНК нормальных вариантов гена *EGFR* (выступает в качестве внутреннего контрольного образца – ВКО).

Результаты интерпретируются на основании наличия или отсутствия пересечения кривой флуоресценции пороговой линии.

Прохождение реакции по HEX $Ct \leq 35$ ($Ct \leq 40$ для мультиплексов del и мультиплексов 719, 790 на приборе CFX96) говорит о достаточном качестве забора материала, эффективности экстракции нуклеиновых кислот и отсутствии ингибиторов ПЦР.

При отсутствии реакции по каналу HEX или $Ct > 35$ ($Ct \leq 40$ для мультиплексов del и мультиплексов 719, 790 на приборе CFX96) и одновременном отсутствии реакции по каналам спецификации FAM результат следует считать невалидным, для данного исследуемого образца следует провести повторное исследование, начиная с выделения ДНК.

Принципы интерпретации результатов отражены в таблицах 13-19.

Таблица 13 – Принцип интерпретации результатов для мультиплекса 719 (определяет мутации G719S, G719C, G719D, G719A в 18 экзоне гена *EGFR*, но не различает их)

Значения Ct		Результат
Каналы спецификации (FAM)	Канал KBM (HEX)	
$Ct \leq 35$	не учитывается	Мутация G719X (G719S, G719C, G719D или G719A) в гене <i>EGFR</i> обнаружена
Ct отсутствует	$Ct \leq 35$ – для ДТпрайм, QuantStudio 5; $Ct \leq 40$ – для CFX96	Мутация G719X (G719S, G719C, G719D или G719A) в гене <i>EGFR</i> не обнаружена или ниже предела обнаружения
$Ct > 35$	$Ct > 35$ – для ДТпрайм, QuantStudio 5; $Ct > 40$ – для CFX96	Результат на наличие мутации невалидный
$Ct > 35$	$Ct \leq 35$ – для ДТпрайм, QuantStudio 5; $Ct \leq 40$ – для CFX96	Результат на наличие мутации G719X (G719S, G719C, G719D или G719A) в гене <i>EGFR</i> сомнительный

Таблица 14 – Принцип интерпретации результатов для мультиплекса 768 (определяет мутации S768I в 20 экзоне гена *EGFR*)

Значения Ct		Результат
Канал спецификации (FAM)	Канал KBM (HEX)	
Ct ≤35	не учитывается	Мутация S768I в гене <i>EGFR</i> обнаружена
Ct отсутствует	Ct ≤35	Мутация S768I в гене <i>EGFR</i> не обнаружена или ниже предела обнаружения
Ct >35	Ct ≤35	Результат на наличие мутаций S768I в гене <i>EGFR</i> сомнительный
Ct по обоим каналам спецификации >35 или отсутствует		Результат на наличие мутации невалидный

Таблица 15 – Принцип интерпретации результатов для мультиплекса 790 (определяет мутации T790M в 20 экзоне гена *EGFR*)

Значения Ct		Результат
Канал спецификации (FAM)	Канал KBM (HEX)	
Ct ≤35	не учитывается	Мутация T790M в гене <i>EGFR</i> обнаружена
Ct отсутствует	Ct ≤35 – для ДТпрайм, QuantStudio 5; Ct ≤40 – для CFX96	Мутация T790M в гене <i>EGFR</i> не обнаружена или ниже предела обнаружения
Ct >35	Ct >35 – для ДТпрайм, QuantStudio 5; Ct >40 – для CFX96	Результат на наличие мутации невалидный
Ct >35	Ct ≤35 – для ДТпрайм, QuantStudio 5; Ct ≤40 – для CFX96	Результат на наличие мутаций T790M в гене <i>EGFR</i> сомнительный

Таблица 16 – Принцип интерпретации результатов для мультиплекса 858 (определяет 2 мутации L858R в 21 экзоне гена *EGFR*, но не различает их)

Значения Ct		Результат
Канал спецификации (FAM)	Канал KBM (HEX)	
Ct ≤35	не учитывается	Мутация L858R в гене <i>EGFR</i> обнаружена
Ct отсутствует	Ct ≤35	Мутация L858R в гене <i>EGFR</i> не обнаружена или ниже предела обнаружения
Ct >35	Ct ≤35	Результат на наличие мутации L858R в гене <i>EGFR</i> сомнительный
Ct по обоим каналам спецификации >35 или отсутствует		Результат на наличие мутации невалидный

Таблица 17 – Принцип интерпретации результатов для мультиплекса 861 (L861Q в 21 экзоне гена *EGFR*)

Значения Ct		Результат
Канал спецификации (FAM)	Канал KBM (HEX)	
Ct ≤35	не учитывается	Мутация L861Q в гене <i>EGFR</i> обнаружена
Ct отсутствует	Ct ≤35	Мутация L861Q в гене <i>EGFR</i> не обнаружена или ниже предела обнаружения
Ct >35	Ct ≤35	Результат на наличие мутаций L861Q в гене <i>EGFR</i> сомнительный
Ct по обоим каналам спецификации >35 или отсутствует		Результат на наличие мутации невалидный

Таблица 18 – Принцип интерпретации результатов для мультиплекса del (определяет 35 делеций в 19 экзоне гена *EGFR*, но не различает их)

Значения Ct		Результат
Канал спецификации (FAM)	Канал KBM (HEX)	
Ct < 40 (Ct _{FAM} – Ct _{HEX}) ≤ 10	не учитывается	Мутация del в гене <i>EGFR</i> обнаружена

Ct отсутствует или (Ct ^{FAM} – Ct ^{HEX}) > 10	Ct ≤ 25	Мутация del в гене <i>EGFR</i> не обнаружена или ниже предела обнаружения
Ct отсутствует или Ct ≥ 40	25 < Ct ≤ 40	
Ct < 40 (Ct ^{FAM} – Ct ^{HEX}) > 10	25 < Ct ≤ 40	Результат на наличие мутации del в гене <i>EGFR</i> сомнительный
Ct отсутствует или Ct ≥ 40	Ct > 40 или отсутствует	Результат на наличие мутации невалидный

Таблица 19 – Принцип интерпретации результатов для мультиплекса *ins* (определяет 4 инсерции в 20 экзоне гена *EGFR*, но не различает их)

Значения Ct		Результат
Канал спецификации (FAM)	Канал KBM (HEX)	
Ct ≤ 40 (Ct ^{FAM} – Ct ^{HEX}) ≤ 10	Ct ≤ 25	Мутация <i>ins</i> в гене <i>EGFR</i> обнаружена
Ct ≤ 40	Ct > 25	
Ct отсутствует	Ct ≤ 35	Мутация <i>ins</i> в гене <i>EGFR</i> не обнаружена или ниже предела обнаружения
Ct ≤ 40 (Ct ^{FAM} – Ct ^{HEX}) > 10	Ct ≤ 25	Результат на наличие мутации <i>ins</i> в гене <i>EGFR</i> сомнительный
Ct > 40	25 < Ct ≤ 35	
Ct > 40 или отсутствует	Ct > 35 или отсутствует	Результат на наличие мутации невалидный

Для исключения ложноотрицательных результатов рекомендуется повторно провести ПЦР выделенного препарата ДНК.

Причиной получения невалидного результата может служить низкая концентрация ДНК, присутствие ингибиторов в препарате ДНК, полученном из клинического материала; неверное выполнение протокола анализа; несоблюдение температурного режима ПЦР и др.

В случае невалидного и сомнительного результата заключение не выдаётся, необходимо заново провести анализ.

При повторении сомнительного результата повторить исследование набором реагентов другого производителя или другим методом.

Набор непригоден к дальнейшему использованию, если кривые амплификации по каналам FAM и HEX в пробирках ПКО ниже установленной пороговой линии и этот результат устойчиво воспроизводится.

Диагностическое значение полученного результата исследования:

Полученный положительный или отрицательный результат анализа может быть использован квалифицированным специалистом (врачом-онкологом), с учётом данных клинической картины и других видов исследований в совокупности, для определения показаний к таргетной терапии низкомолекулярными ингибиторами тирозинкиназы *EGFR* при обследовании пациентов с диагнозом немелкоклеточный рак лёгкого IB–IIIA и IV стадией заболевания (Клинические рекомендации: «Меланома кожи и слизистых оболочек», С43, С51, С60.9, С63.2; «Рак щитовидной железы», С73; «Рак яичников/рак маточной трубы/первичный рак брюшины», С48, С56, С57; «Рак прямой кишки», С20; «Рак предстательной железы», С61. Взрослые. 2021. Разработчики: Общероссийский национальный союз «Ассоциация онкологов России», Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии» (утв. Минздравом России).

12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора реагентов

Хранение

Набор реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

После вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия.

Набор реагентов, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Транспортирование

Транспортировать набор реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Набор реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» транспортировать при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора. Допускается транспортировка при температуре от 15 до 25 °С не более 5 суток.

Атмосферное давление не контролируется, так как не влияет на качество изделия.

Для обеспечения соблюдения условий транспортирования на протяжении всего срока транспортирования набор реагентов помещается в термоконтейнер пенополиуретановый многоразового использования для временного хранения и транспортирования с подготовленными хладоэлементами. Тип, объём и количество хладоэлементов, закладываемых в термоконтейнер с транспортируемыми наборами реагентов, а также объём термоконтейнера подбираются в зависимости от продолжительности и условий транспортирования.

Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности

Срок годности набора реагентов «Тест-*EGFR*-ткань-мульти» – 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и

эксплуатации. Набор реагентов с истёкшим сроком годности применению не подлежит.

Срок годности вскрытых компонентов набора

12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при условии хранения при температуре от 2 до 8 °С.

Срок годности приготовленных для работы компонентов набора

1 час при соблюдении условий, препятствующих высыханию компонентов, а также контаминации посторонним биологическим материалом.

13. Утилизация

Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

В соответствии с классификацией медицинских отходов наборы относятся к классу А (эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твёрдым бытовым отходам). Неиспользованные реактивы в соответствии с п. 170 СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» собираются в одноразовую маркированную упаковку любого цвета (кроме жёлтого и красного).

Оставшиеся после выполнения работ пробирки и материалы утилизируют в соответствии с МУ 287-113 (Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения).

Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожаются сливом в канализацию с предварительным разбавлением реагента водопроводной водой 1:100 и вывозом остатков упаковок как производственный или бытовой мусор.

Потребительская упаковка набора реагентов «Тест-EGFR-ткань-мульти» подлежит механическому разрушению с вывозом остатков как производственного или бытового мусора.

Персонал, осуществляющий уничтожение набора реагентов, должен соблюдать правила безопасности проведения того или иного способа уничтожения.

14. Гарантийные обязательства, контакты

Предприятие-изготовитель гарантирует качество и безопасность набора реагентов «Тест-EGFR-ткань-мульти» в течение срока годности при соблюдении требований транспортирования и хранения продукции, а также при соблюдении правил эксплуатации.

При возникновении претензий по качеству наборов, нежелательных событий или инцидентов направлять информацию по адресу:

Общество с Ограниченной Ответственностью «ТестГен»
(ООО «ТестГен»),

432072 г. Ульяновск, Инженерный 44-й проезд, дом 9, офис 13

Тел.: +7 (499) 705-03-75

www.testgen.ru

Служба технической поддержки:

Тел.: +7 927 981 58 81

E-mail: help@testgen.ru

Приложение А

Обозначение	Наименование документа
ГОСТ ISO 14971-2021	Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.
ГОСТ Р 51088-2013	Медицинские изделия для диагностики <i>in vitro</i> . Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.
ГОСТ Р ИСО 23640-2015	Изделия медицинские для диагностики <i>in vitro</i> . Оценка стабильности реагентов для диагностики <i>in vitro</i>
ГОСТ Р 51352-2013	Медицинские изделия для диагностики <i>in vitro</i> . Методы испытаний.
ГОСТ Р ЕН 13612-2010	Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики <i>in vitro</i>
ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015	Медицинские изделия для диагностики <i>in vitro</i> . Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015	Медицинские изделия для диагностики <i>in vitro</i> . Информация, предоставляемая изготовителем(маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики <i>in vitro</i> для профессионального применения
ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020	Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования
ГОСТ ISO 13485-2017	Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования для целей регулирования