

therascreen BRAF RGQ PCR Kit PK МИ (in vitro)-0№027276

Инструкция

по медицинскому применению медицинского изделия для диагностики in vitro

Наименование медицинского изделия для диагностики in vitro

Набор *therascreen*® EGFR Plus RGQ PCR Kit (24 реакции) 874611

Состав и описание медицинского изделия

Предполагаемое использование

Набор *therascreen*® EGFR Plus RGQ PCR представляет собой диагностический ПЦР-тест *in vitro* в режиме реального времени для качественного обнаружения и идентификации мутаций в экзонах 18, 19, 20 и 21 гена *рецептора эпидермального фактора роста (EGFR)* (1) в ДНК, полученной из *фиксированных в формалине и залитых парафином образцов (FFPE)* опухолевой ткани и плазмы от пациентов с *немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ)*.

Набор *therascreen*® EGFR Plus RGQ PCR дополнительно показан для полуколичественного измерения мутаций в экзонах 18, 20 и 21 гена EGFR плазмы крови человека в качестве вспомогательного средства при ведении больных раком НМРЛ.

Тест должен использоваться обученным персоналом в профессиональной лабораторной среде.

Набор *therascreen*® EGFR Plus RGQ PCR предназначен для диагностики *in vitro*.

Инструкция по применению

Тест предназначен для использования в качестве вспомогательного средства при отборе пациентов с НМРЛ для терапии *ингибитором тирозинкиназы (TKI)* EGFR.

Описание и принцип

Краткое изложение и пояснения

Мутации в онкогене EGFR обнаруживаются при раке человека (1, 2). Наличие этих мутаций коррелирует с реакцией на определенные виды терапии TKI у

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

пациентов с НМРЛ (3-8). Такие мутации в онкогене EGFR присутствуют в общей популяции пациентов с НМРЛ с частотой примерно 10% у пациентов из США, Европы или Австралии и до 30% у пациентов из Японии и Тайваня (1, 2, 9).

Набор *therascreen*® EGFR Plus RGQ PCR представляет собой ПЦР (полимеразная цепная реакция) - тест в режиме реального времени для выявления 42 мутаций в гене EGFR, связанном с раком, с использованием ARMS (амплификационная система для идентификации мутаций) (10, 11) и технологий захвата ПЦР для качественного обнаружения и идентификации мутаций в гене EGFR; экзоны 18, 19, 20 и 21 (таблица 1). Набор позволяет проводить полуколичественное определение G719X (X = A, S или C; экзон 18), T790M (экзон 20), C797Sa и C797Sb (экзон 20), S768I (экзон 20), L858R (экзон 21) и L861Q (экзон 21) в образцах ДНК, извлеченных из человеческой плазмы. Вкратце:

- G719X в экзоне 18 (обнаруживает и полуколичественно определяет G719S, G719A или G719C, но не проводит различия между ними)
- 28 делеций в экзоне 19 (обнаруживает наличие любой из 28 делеций, но не проводит различия между ними)
- S768I, T790M, C797Sa и C797Sb в экзоне 20 (обнаруживает и полуколичественно определяет все четыре мутации, но не проводит различия между C797Sa и C797Sb)
- Пять инсерций в экзоне 20 (обнаруживает наличие любой из пяти инсерций, но не проводит различия между ними)

Используемые методы являются высокоселективными и, в зависимости от общего количества присутствующей ДНК, позволяют обнаружить низкий процент мутантной ДНК на фоне геномной ДНК дикого типа. Эти пределы селективности и обнаружения превосходят такие технологии, как секвенирование с использованием красителя-терминатора.

Таблица 1. Список мутаций и идентификаторов COSMIC

Экзон	Мутация	Идентификатор COSMIC*	Изменение основания
18	G719A	6239	c.2156G>C
	G719S	6252	c.2155G>A

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

	G719C	6253	c.2155G>T
19	Делеции	26038	c.2233_2247del15
		13550	c.2235_2248>AATTC
		6223	c.2235_2249del15
		6225	c.2236_2250del15
		18427	c.2237_2257>TCT
		6220	c.2238_2255del18
		12367	c.2237_2254del18
		12384	c.2237_2255>T
		12678	c.2237_2251del15
		13551	c.2235_2252>AAT
		13552	c.2235_2251>AATTC
		12386	c.2237_2252>T
		12416	c.2237_2253>TTGCT
		12728	c.2236_2253del18
		12422	c.2238_2248>GC
		12382	c.2239_2248TTAAGAGAAG>C

Продолжение таблицы на следующей странице

Продолжение таблицы на предыдущей странице

Таблица 1. Список мутаций и идентификаторов COSMIC (продолжение)

Экзон	Мутация	Идентификатор COSMIC*	Изменение основания
19	Делеции	6218	c.2239_2247delTTAAGAGAA
		12387	c.2239_2258>CA
		12370	c.2240_2257del18
		12403	c.2239_2256>CAA
		6255	c.2239_2256del18
		12383	c.2239_2251>C
		12419	c.2238_2252>GCA
		6210	c.2240_2251del12
		23571	c.2238_2252del15
		12369†	c.2240_2254del15

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

		13556	c.2253_2276del24
		12385	c.2235_2255>AAT
20	S768I	6241	c.2303G>T
	Инсерции	12376	c.2307_2308insGCCAGCGTG
		12378	c.2310_2311insGGT
		12377	c.2319_2320insCAC
		13428	c.2311_2312insGCGTGGACA
		13558	c.2309_2310AC>CCAGCGTGGAT
	T790M	6240	c.2369C>T
	C797Sa	6493937	c.2389T>A
	C797Sb	5945664	c.2390G>C

Продолжение таблицы на следующей странице

Таблица 1. Список мутаций и идентификаторов COSMIC (продолжение)

Exon	Мутация	COSMIC ID*	Изменение основания
21	L858R	6224	c.2573T>G
	L861Q	6213	c.2582T>A

*COSMIC: каталог соматических мутаций при раке: <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>.

† Согласно новой базе данных COSMIC, из-за сходства в последовательности после того, как произошла делеция, делеция 6254 объединена с делецией 12369.

Принцип процедуры

Набор *therascreen*® EGFR Plus RGQ PCR использует ПЦР в реальном времени для обнаружения 42 мутаций в гене EGFR (экзоны 18, 19, 20 и 21) и полуколичественного определения G719X (с X = A, S или C; экзон 18), T790M (экзон 20), C797Sa и C797Sb (экзон 20), S768I (экзон 20), L858R (экзон 21) и L861Q (экзон 21) в образцах ДНК, извлеченных из плазмы человека. Набор *therascreen*® EGFR Plus RGQ PCR позволяет тестировать геномную ДНК (гДНК), выделенную из образцов FFPE опухолевой ткани, и свободно-циркулирующую ДНК (сцДНК), выделенную из образцов плазмы крови пациентов с НМРЛ. Статус мутации EGFR и полуколичественное определение

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

(когда это применимо) чистой сДНК определяют с помощью набора *therascreen*® EGFR Plus RGQ PCR на приборе RotorGene Q MDx 5plex HRM, с помощью программного обеспечения **Rotor-Gene AssayManager (RGAM)** версии 2.1 (или выше) в сочетании с плагином Gamma версии 1.0.0 (или выше), соответствующим приложением Analysis Profile (профиль анализа) для анализа образцов плазмы. Анализ данных и интерпретация результатов полностью автоматизированы и управляются посредством ПО RGAM (рис. 1).



Рис. 1. Рабочий процесс набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR Kit.

Технология

Использование кПЦР позволяет точно обнаруживать продукты ПЦР во время экспоненциальной фазы процесса ПЦР-амплификации. Данные кПЦР могут быть быстро получены без постПЦР-обработки путем обнаружения флуоресцентных сигналов в режиме реального времени во время циклирования ПЦР.

В ПЦР-анализах *therascreen* EGFR Plus RGQ используется принцип гидролиза олигонуклеотидов кПЦР. Во время ПЦР прямой и обратный праймеры гибридизуются с определенной последовательностью. Другой олигонуклеотид, связанный с красителем, содержится в той же смеси. Этот зонд, который состоит из олигонуклеотида, меченного 5'-репортерным красителем, и последующего 3'-гасителя, не содержащего красителей, гибридизуется с целевой последовательностью в продукте ПЦР. кПЦР-анализ с использованием гидролизных зондов использует 5'→3' экзонуклеазную активность ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* (Taq). Когда зонд не поврежден, близость репортерного красителя к гасителю приводит к

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

подавлению флуоресценции репортера, главным образом за счет переноса энергии по типу Форстера.

Во время ПЦР, если интересующая мишень присутствует, как прямые, так и обратные праймеры определенным образом обжигают и обрамляют зонд. 5'→3' экзонуклеазная активность ДНК-полимеразы расщепляет зонд между репортером и гасителем только в том случае, если 3' олигонуклеотида гибридизуются с мишенью. Затем фрагменты зонда удаляются от мишени, и полимеризация нити продолжается. 3'-конец зонда заблокирован, чтобы предотвратить выдвигание зонда во время ПЦР (рис. 2). Этот процесс происходит в каждом цикле и не препятствует экспоненциальному накоплению продукта.

Увеличение сигнала флуоресценции обнаруживается только в том случае, если целевая последовательность комплементарна праймерам и зонду и, следовательно, амплифицируется во время ПЦР.

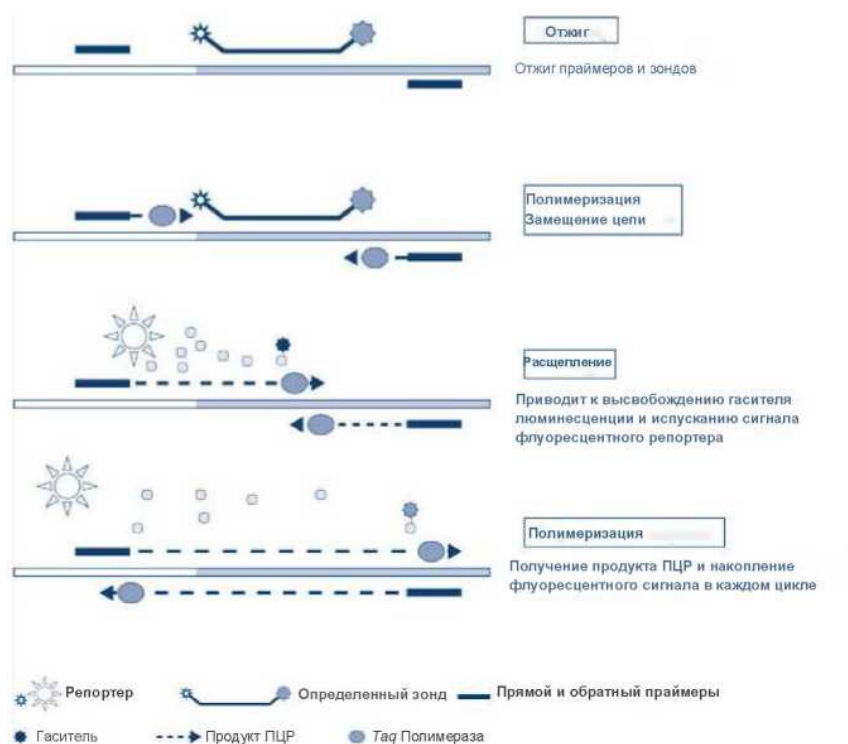


Рисунок 2. Принцип реакции.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

В наборе thetascreen EGFR Plus RGQ PCR для мутационно-специфических реакций используются ARMS и конструкции захватов для обнаружения, идентификации и полуколичественного определения (когда применимо) мутаций в ДНК, выделенной из плазмы.

ARMS

Амплификационная система для идентификации мутаций (ARMS)

использует способность ДНК-полимеразы *Taq* различать совпадающее и несовпадающее основание на 3'-конце ПЦР-праймера. Когда праймер полностью совпадает, амплификация протекает с полной эффективностью. При несоответствии 3'-базы может происходить только низкоуровневая фоновая амплификация. Следовательно, мутировавшая последовательность избирательно амплифицируется даже в образцах, где большая часть ДНК не несет мутации (рис. 3).

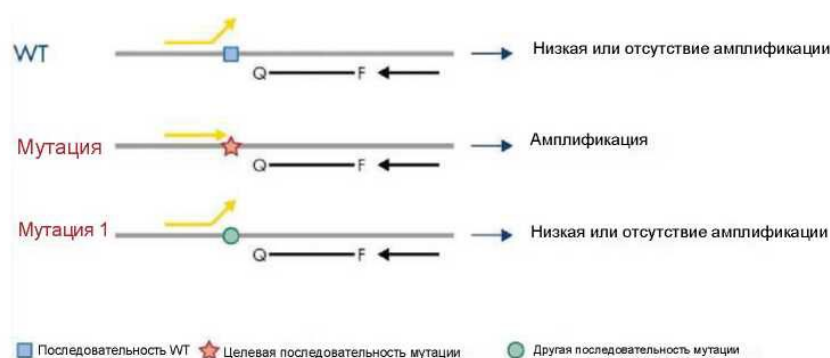


Рисунок 3. Идентификация специфической мутации методом ПЦР ARMS. WT – дикий тип. Q-F – ПЦР-зонд с двойной меткой. D: Прямые и обратные праймеры.

ПЦР-захват

Этот метод используется для обнаружения нескольких вариантов, локализованных в одной и той же горячей точке (например, делеции *EGFR* в экзоне 19). Анализ захвата «clamp» сочетает в себе стандартные праймеры и зонд с дополнительным олигонуклеотидом, который блокируется на 3' путем добавления фосфатной группы, чтобы предотвратить удлинение ПЦР. Захваченный олигонуклеотид, а также праймеры и зонд специфичны к последовательности дикого типа (захват ПЦР). Когда ПЦР-матрица содержит последовательность дикого типа, захват гибридизуется перед праймером из-за более высокой T_m , приводящей к отсутствию или низкой амплификации. Напротив, когда присутствует мутировавшая последовательность, захват не

Решение: N089003

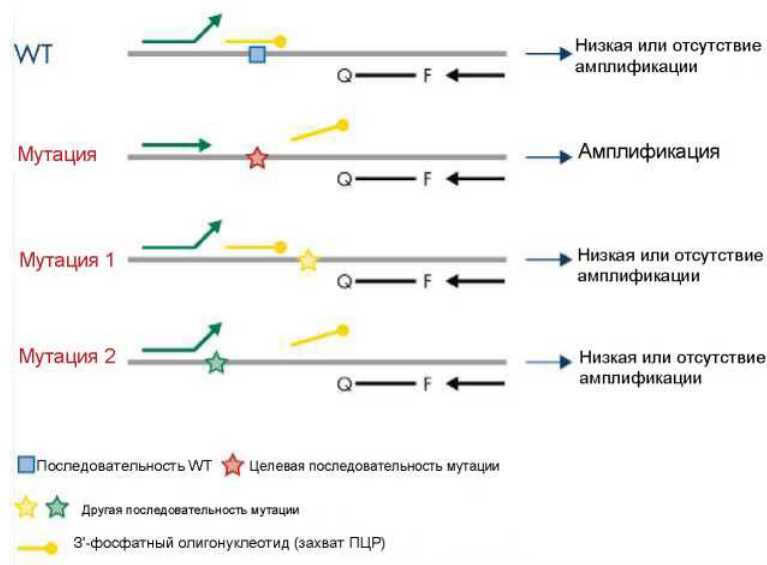
Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

может связываться, что позволяет проводить отжиг праймера и



амплификацию (рис. 4).

Рисунок 4. Обнаружение мутаций с помощью технологии зажима. WT – дикий тип. Q-F – ПЦР-зонд с двойной меткой. D: Прямые и обратные праймеры.

Предоставляемые с набором материалы
Содержимое набора

Набор <i>therascreen</i> EGFR Plus RGQ PCR			(24)
Номер по каталогу			874611
Количество реакций			24
Цвет	Обозначение	Идентификатор пробирки	Объем
Зеленый	Смесь T790M и L861Q	EGFR T790M & L861Q Mix	280 мкл
Желтый	Инсерции и смесь G719X	EGFR Insertions & G719X Mix	280 мкл
Фиолетовый	Смесь L858R и C797S	EGFR L858R & C797S Mix	280 мкл
Оранжевый	Делеции и смесь S768I	EGFR Deletions & S768I Mix	280 мкл
Красный	Положительный контроль EGFR	EGFR Positive Control	190 мкл
Синий	Основная смесь для ПЦР	EGFR PCR Master Mix	2 x 940 мкл
Бесцветный	Вода для контроля без матрицы	NTC	1.9 мл
Бесцветный	Вода для разведения образца Dil.		1.9 мл

Примечание: содержимого набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR достаточно для 24 образцов (набор содержит достаточное количество реагентов для четырех циклов кПЦР по шесть образцов за цикл, включая контрольные прогоны).

Формат набора и анализы

Анализ мутаций

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

В набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR входят четыре смеси праймеров и зондов:

- T790M и L861Q
- Инсерции (экзон 20) и G719X
- L858R и C797S
- Делеции (экзон 19) и S768I

Все смеси праймеров и зондов в сочетании с основной смесью для ПЦР позволяют обнаруживать мишени, меченные карбоксифлуоресцеином (FAM™), CAL Fluor® Red 610 и внутренним контролем, маркированным гексахлорфлуоресцеином (HEX™).

Анализ внутреннего контроля

Контрольная реакция внутренней амплификации, помеченная с HEX, используется для оценки общего количества амплифицируемой ДНК-матрицы EGFR в мутированном и немутированном образце (дикий тип) (рис. 5) и для выявления сбоев реакции из-за неоптимального ввода ДНК или присутствия ингибирующих веществ в матрице образца. Эта реакция внутренней амплификации усиливает область экзона 2 гена EGFR. Праймеры и зонд были разработаны таким образом, чтобы избежать любых известных полиморфизмов EGFR.

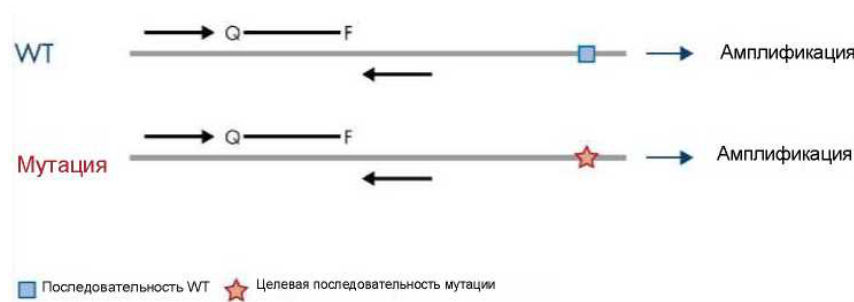


Рисунок 5. Обнаружение экзона 2 EGFR методом внутреннего контроля (ВК). WT – дикий тип. Q-F – ПЦР-зонд с двойной меткой. D: Прямые и обратные праймеры.

Вода для разведения образца

Набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR содержит воду, не содержащую нуклеаз, которая используется для разведения образца гДНК.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Контроли

Каждый цикл ПЦР должен содержать положительный контроль (PC) и отрицательный контроль (NTC) для каждого из четырех анализов.

Положительный контроль (PC)

Каждый прогон должен содержать положительный контроль в пробирках 1-4. Набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR содержит один положительный контроль (PC) EGFR, который будет использоваться в качестве матрицы в реакции положительного контроля. Результаты положительного контроля будут автоматически оценены Rotor-Gene AssayManager®, чтобы убедиться, что набор соответствует заранее определенным критериям приемлемости.

Контроль без матрицы (NTC)

Каждый прогон должен содержать отрицательный контроль (контроль без матрицы; NTC) в пробирках 5-8. Набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR содержит воду для NTC, которая будет использоваться в качестве «матрицы» для контроля без матрицы. Контроль без матрицы используется для оценки любого потенциального загрязнения реагентами и окружающей средой.

Платформа и программное обеспечение

Набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR специально разработан для использования с приборами Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM с флуоресцентными каналами для переключения зеленого, желтого и красного каналов с помощью основного программного обеспечения Rotor-Gene AssayManager v2.1 .X ($X \geq 0$), плагина Gamma v1.0.X ($X > 0$) и приложения профилей анализа *therascreen* EGFR Plus.

Доступны два профиля анализа *therascreen* EGFR: *therascreen* EGFR Plus FFPE (для оценки образца FFPE) и *therascreen* EGFR Plus Plasma (для оценки образца плазмы). Профили анализа содержат параметры проведения ПЦР и параметры анализа, позволяющие автоматически интерпретировать результаты.

Требуемые, но не поставляемые с набором материалы

Дополнительные реагенты для пробоподготовки

- Раствор для депарафинизации Кат. № 1 9093 или 94901 8) для ручного и автоматизированного получения гДНК из образцов FFPE

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

- Мини-набор QIAasymphony® DSP DNA Mini Kit (Кат. № 937236) для автоматического получения гДНК из образцов FFPE
- Набор QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit (Кат. № 937556) для автоматического получения сДНК из образцов плазмы
- Набор QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit (Ка. № 60404) для ручного получения гДНК из образцов FFPE
- Набор QIAamp DSP Circulating Nucleic Acid Kit (Кат. № 61504) для ручного получения сДНК из образцов плазмы

Примечание: Материалы, необходимые, но не поставляемые с набором для извлечения ДНК, подробно описаны в соответствующих руководствах по наборам.

- РНКзаз А (Кат. № 19101) для ручной или автоматизированной подготовки образцов гДНК из образцов FFPE
- Буфер ATL Кат. № 939016) для протокола депарафинизации, используемого с QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (Кат. № 937236) или QIAasymphony DNA Mini Kit (Кат. № 931236)

Расходные материалы и общее лабораторное оборудование

- Специальные пипетки* (регулируемые) для подготовки образцов
- Специальные пипетки* (регулируемые) для приготовления реакционной смеси для ПЦР
- Специальные пипетки* (регулируемые) для дозирования ДНК-матрицы

* Убедитесь, что приборы были проверены и откалиброваны в соответствии с рекомендациями производителя.

- Не содержащие нуклеаз, устойчивые к аэрозолю стерильные наконечники для ПЦР-пипеток с гидрофобными фильтрами (рекомендуется использовать наконечники для пипеток с аэрозольными барьерами для предотвращения перекрестного загрязнения)
- Вихревая мешалка (Вортекс)*
- Настольная центрифуга* с ротором для реакционных пробирок объемом 0,5 мл, 1,5 мл и 2,0 мл (скорость вращения 13 000-14 000 об/мин)
- ДНКзаз, РНКзаз, не содержащие ДНК, стерильные микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл для приготовления реакционных смесей ДНК и ПЦР

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

- Пробирки в стрипах и колпачки, 0,1 мл, для прибора Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (Кат. № 981103 или 981106)
- Прибор для количественного определения ДНК
- Пробирки для образцов (например, пробирка Sarstedt объемом 2 мл [№ в каталоге 72.693]) для автоматического получения гДНК (из блоков FFPE). Совместимые форматы первичных и вторичных пробирок можно посмотреть на сайте по ссылке www.qiagen.com/goto/dspdnakits.
- Одноразовый стерильный скальпель для ручного и автоматизированного получения гДНК (из среза FFPE на предметном стекле)
- Стерильный и используемый в IVD физиологический раствор с фосфатным буфером (PBS, может потребоваться для пополнения объема образцов плазмы).

Оборудование

Оборудование для автоматизированной пробоподготовки

- Инструмент QIAasympyphony SP* (Кат. № 9001297) и прилагаемые принадлежности

Примечание: Необходимые принадлежности подробно описаны в соответствующих руководствах по наборам для извлечения и в общем *описании руководства пользователя QIAasympyphony SP/AS*.

- Программное обеспечение QIAasympyphony версии 4.0 или более поздней версии

* Убедитесь, что приборы были проверены и откалиброваны в соответствии с рекомендациями производителя.

- Протокол QIAasympyphony Tissue_LC_200_DSP для автоматического получения гДНК из образцов FFPE (см. www.qiagen.com/shop/sample-technologies/dna/genomic-dna/qiasympyphony-dsp-dna-kits-row/#recources)
- Протокол QIAasympyphony circDNA_2000_DSP для автоматического получения сДНК из образцов плазмы (см. www.qiagen.com/shop/sample-technologies/dna/genomic-dna/qiasympyphony-dsp-dna-kit/#recources)

Оборудование и материалы для кПЦР

- Прибор* Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM с каналами флуоресценции для циклического зеленого, циклического красного и циклического желтого (обнаружение FAM, CAL Fluor Red 610 и HEX соответственно)

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

- Загрузочный блок 72 пробирки по 0,1 мл, алюминиевый блок для ручной настройки реакции с помощью одноканальной пипетки (Кат. № 9018901)
- 72-луночный ротор (Кат. № 9018903), стопорное кольцо 72-луночного ротора (Кат. № 9018904) и держатель ротора (Кат. № 9018908)
- Программное обеспечение Rotor-Gene AssayManager версии 2.1.x (где x = 1 или более поздняя версия)
- Установленный плагин Rotor-Gene AssayManager Gamma версии 1.0.x (где x = 0 или более поздней версии)
- EGFR RGQ PCR Assay Profile версии 1.0.x (где x = 0 или более поздняя версия)
 - **therascreen_EGFR_Plus_FFPE** для образцов FFPE
 - **therascreen_EGFR_Plus_Plasma** для образцов плазмы

В некоторых странах, если применимо, можно использовать прибор Rotor-Gene Q 5plex HRM с датой выпуска май 2011 года или более поздней. Дату изготовления можно узнать по серийному номеру на обратной стороне прибора. Серийный номер представлен в формате «mmuunnn», где «mm» обозначает месяц производства в цифрах, «уу» обозначает последние две цифры года производства, а «nnn» указывает уникальный идентификатор прибора.

Предупреждения и меры предосторожности

Что касается клиентов в Европейском союзе, пожалуйста, имейте в виду, что вы обязаны сообщать о серьезных инцидентах, произошедших в связи с устройством, производителю и компетентному органу государства-члена ЕС, в котором зарегистрирован пользователь и/или пациент.

Информация по технике безопасности

При работе с химическими веществами всегда надевайте подходящий лабораторный халат, одноразовые перчатки и защитные очки. Для получения дополнительной информации, пожалуйста, ознакомьтесь с соответствующими **паспортами безопасности (SDS)**. Они доступны онлайн в удобном и компактном формате PDF по ссылке www.qiagen.com/safety, где вы можете найти, просмотреть и распечатать SDS для каждого набора QIAGEN и компонента набора.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Для получения информации по технике безопасности, касающейся прибора QIASymphony SP и прибора Rotor-Gene Q, обратитесь к руководству пользователя, прилагаемому к прибору.

- Все химические вещества и биологические материалы потенциально опасны. Образцы потенциально инфицированы и должны рассматриваться как биологически опасные материалы.
- Утилизируйте образцы и останки после анализа в соответствии с местными правилами по технике безопасности.

Меры предосторожности

Использование набора *therascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit* требует надлежащей лабораторной практики, включая прослеживаемость, техническое обслуживание оборудования, предназначенного для молекулярной биологии, и соблюдение применимых правил и соответствующих стандартов.

Этот набор предназначен для диагностики *in vitro*. Реагенты и инструкции, входящие в набор, были протестированы на предмет оптимальной производительности.

Пользователь всегда должен обращать внимание на следующее:

- Тест предназначен для использования с образцами FFPE и плазмы крови при НМРЛ.
- Соблюдайте крайнюю осторожность, чтобы предотвратить загрязнение образцов и реагентов EGFR-положительным материалом (т.е. положительным контролем) или потенциально EGFR-положительным материалом (т.е. образцами, подлежащими тестированию).
- Меняйте скальпели между взятиями образцов при соскабливании образцов ткани.
- Используйте отдельные специальные пипетки для извлечения/приготовления ДНК, приготовления реакционных смесей для ПЦР (подготовка реакционной смеси перед ПЦР) и добавления матрицы ДНК в пробирки для ПЦР.
- Используйте новые устойчивые к аэрозолю наконечники для пипеток на всех этапах пипетирования, чтобы избежать перекрестного загрязнения образцов и реагентов. Соблюдайте крайнюю осторожность, чтобы

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

предотвратить загрязнение остатками ДНК или ПЦР-продукта, что может привести к ложноположительному сигналу.

- Приготовление и дозирование реакционных смесей должны осуществляться в специально отведенном месте, отделенном от зоны подготовки ДНК, куда не вводятся ДНК-матрицы (ДНК, плазмида или продукты ПЦР). В этом же месте налейте воду в пробирки NTC и закройте их.
- Добавляйте ДНК-матрицу в отдельной зоне, предпочтительно в отдельной комнате, с использованием специального оборудования (пипетки, наконечники и т.д.).
- Пробирки Rotor-Gene Q нельзя вскрывать после завершения ПЦР-анализа. Это делается для предотвращения загрязнения лаборатории продуктами после ПЦР анализа.
- Реагенты набора theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit следует защищать от света, температуры и многократного размораживания и замораживания, в противном случае характеристики набора могут быть изменены.
- Замороженные компоненты полностью размораживают при комнатной температуре (15-25°C) (или в холодильнике (2-8°C) и хранят в защищенном от света месте. Регулярно проверяйте, не разморозился ли материал.
- Все химические вещества и биологические материалы потенциально опасны. Образцы потенциально заразны и должны рассматриваться как биологически опасные материалы.
- Реагенты набора theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit оптимально разведены. Не разбавляйте реагенты дополнительно, так как это может привести к потере производительности.
- Не используйте объемы для реакции (реакционная смесь плюс образец) менее 25 мл, так как это увеличит риск получения ложноотрицательного результата.
- Все реагенты, входящие в набор theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit, предназначены для использования исключительно с другими реагентами, входящими в тот же набор theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit.
- Не заменяйте реагенты в наборе theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit или между партиями наборов theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit, так как это может повлиять на производительность.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

- Не используйте компоненты с истекшим сроком годности или неправильно хранящиеся.
- Необходимо соблюдать осторожность, чтобы обеспечить правильное тестирование и анализ образцов, уделяя особое внимание устранению неправильного ввода образца, ошибок загрузки, пипетирования и размещению пробирок для ПЦР в соответствующих положениях 72-луночного ротора.
- Убедитесь в правильности обращения с образцами, чтобы обеспечить правильную идентификацию и прослеживаемость.
- Соблюдайте крайнюю осторожность, чтобы предотвратить загрязнение ДНКазой, которая может вызвать деградацию ДНК-матрицы. Используйте лабораторное оборудование, не содержащее нуклеаз (например, пипетки, наконечники для пипеток, реакционные флаконы), и надевайте перчатки при проведении анализа.

Примечание: продукт должен использоваться только опытным персоналом лаборатории, знакомым с лабораторными процедурами и прибором Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

Хранение и обращение с реагентами

Следует обратить внимание на сроки годности и условия хранения, указанные на упаковке и этикетках всех компонентов. Не используйте компоненты с истекшим сроком годности или неправильно хранящиеся.

Условия доставки

Набор theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit поставляется в сухом льду и по прибытии должен быть заморожен. Если какой-либо компонент набора theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit не был заморожен по прибытии, внешняя упаковка была вскрыта во время транспортировки или в посылке нет инструкции по применению или реагентов, пожалуйста, свяжитесь с одним из отделов технической службы QIAGEN или местными дистрибьюторами (посетите www.qiagen.com).

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Условия доставки, относящиеся к наборам для извлечения ДНК и связанным с ними реагентам, которые будут использоваться, приведены в соответствующих руководствах по наборам.

Условия хранения

Набор thetascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit следует хранить сразу после получения при температуре от -30 до -15°C в морозильной камере с постоянной температурой и в защищенном от света месте.

Примечание: все флуоресцентно меченые зонды в реакционной смеси являются светочувствительными. Защищайте реактивы реакционной смеси от света, чтобы избежать фотообесцвечивания.

Следует избегать повторного замораживания и оттаивания. В идеале реагенты следует подвергать максимум четырем циклам замораживания-оттаивания.

Информацию о хранении и обращении с наборами для извлечения ДНК и соответствующими реагентами, которые будут использоваться, см. в соответствующих руководствах по наборам.

Срок хранения

24 месяца

Стабильность

При соблюдении указанных условий хранения набор dtherascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке. Избегайте ненужного замораживания-оттаивания содержимого набора.

После вскрытия реагенты можно хранить в оригинальной упаковке при температуре от -30 до -15°C до истечения срока годности, указанного на упаковке. Общее время до запуска после настройки реакций ПЦР не должно превышать 24 часов при хранении в холодильнике (2-8°C; это время включает как настройку ПЦР, так и хранение).

Для получения информации о стабильности, относящейся к наборам для извлечения ДНК и связанным с ними реагентам, которые будут использоваться, обратитесь к соответствующим руководствам по наборам.

Следует обратить внимание на сроки годности и условия хранения, указанные на упаковке и этикетках всех компонентов. Не используйте компоненты с истекшим сроком годности или неправильно хранящиеся компоненты.

Хранение образцов и обращение с ними

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Материалом для образца является геномная ДНК человека, выделенная из опухолевой ткани FFPE, или сДНК, выделенная из плазмы с 2К-EDTA.

Образцы должны транспортироваться в соответствии со стандартной методикой патологоанатомии для обеспечения качества образцов.

Примечание: все образцы должны обрабатываться как потенциально инфекционный материал.

Примечание: для оптимального использования реагентов из набора theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit образцы следует дозировать. Если образцы тестируются индивидуально, это позволит использовать больше реагентов и сократить количество образцов, которые могут быть протестированы с помощью набора.

Образцы FFPE

Образцы опухоли неоднородны, и данные из образца опухоли могут не совпадать с другими срезами из той же опухоли. Образцы опухоли также могут содержать неопухолевую ткань. Ожидается, что ДНК из неопухолевой ткани не будет содержать мутаций, обнаруженных с помощью набора theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit.

Для подготовки образцов тканей для извлечения гДНК:

- Следует использовать стандартные процедуры фиксации формалином и заливки парафином. Для получения более подробной информации обратитесь к соответствующему руководству по набору для извлечения ДНК.
- Используя микротом, вырежьте из парафинового блока последовательные срезы толщиной 5 мкм и установите их на предметные стекла. Привлеките квалифицированного специалиста (например, патологоанатома) для оценки среза, окрашенного гематоксилином и эозином (H&E), чтобы подтвердить наличие опухоли. Окрашенные срезы нельзя использовать для извлечения ДНК.
- Исходным материалом для очистки гДНК являются срезы ткани FFPE (в идеале свежесрезанные).
- Храните все блоки и стекла с FFPE при комнатной температуре (15-25°C). Срезы FFPE, установленные на предметных стеклах, могут храниться при температуре окружающей среды до 1 месяца перед извлечением ДНК.

Образцы плазмы

Используйте стандартные лабораторные процедуры для приготовления плазмы из образцов цельной крови с 2К-EDTA. Для получения более

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

подробной информации обратитесь к соответствующему руководству по набору для извлечения.

Если свежая плазма используется для экстракции нуклеиновых кислот в тот же день, храните её при температуре 2-8°C до дальнейшей обработки. Для более длительного хранения храните плазму замороженной при температуре от -30 до -15°C или от -90 до -65°C. Рекомендуется использовать аликвоты, чтобы избежать замораживания-оттаивания образцов плазмы. Повторное замораживание-оттаивание приводит к денатурации и выпадению белков в осадок, что может привести к снижению выхода циркулирующих бесклеточных нуклеиновых кислот.

Образцы геномной ДНК и свободно циркулирующей ДНК

Геномную ДНК, извлеченную из ткани FFPE, и свободно циркулирующую бесклеточную ДНК, извлеченную из плазмы, следует хранить при температуре 2-8°C для кратковременного хранения (до 24 часов) и от -30 до -15°C (или от -90 до -65°C), если требуется длительное хранение. Избегайте ненужного замораживания-оттаивания образцов извлеченной гДНК и сцДНК. Замороженные элюаты нельзя размораживать более трех раз.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Порядок выполнения процедуры

Протокол: извлечение и подготовка ДНК

Что нужно сделать перед началом работы

- Убедитесь, что оператор обучен использованию инструментов и наборов для экстракции, необходимых для извлечения ДНК и подготовки образцов. При необходимости после установки может быть проведено обучение работе с прибором (см. «Информация для заказа», стр. 110).
- Ознакомьтесь с разделом «необходимые, но не предоставляемые с набором материалы» руководства по каждому набору для извлечения, чтобы определить принадлежности, необходимые для каждой процедуры:
- Набор QIAasymphony® DSP DNA Mini Kit (Кат. № 937236) для автоматического получения гДНК (из образцов FFPE)
- Набор QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit (Кат. № 937556) для автоматического получения сДНК (из образцов плазмы)
- Набор QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit (Кат. № 60404) для ручного получения гДНК (из образцов FFPE)
- Набор QIAamp DSP Circulating Nucleic Acid Kit (Кат. № 61504) для ручного получения сДНК (из образцов плазмы)

Протокол: извлечение гДНК из образцов FFPE

Набор theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit был протестирован только в комбинации с раствором для депарафинизации QIAGEN (Кат. № 19093 или 939018) для депарафинизации срезов FFPE со следующими наборами для извлечения ДНК:

- Мини-набор QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (Кат. № 937236) для автоматического извлечения
- Набор QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit (Кат. № в каталоге 60404) для ручного извлечения

Важные моменты перед началом работы

Применимо к протоколам автоматической экстракции и ручной экстракции:

- Убедитесь, что срок годности реагентов для извлечения ДНК не истек и что они транспортировались и хранились в надлежащих условиях.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

- Не используйте компоненты с истекшим сроком годности или неправильно хранящиеся.
- В одном приготовлении можно объединить от одного до четырех срезов ткани FFPE, каждый толщиной 10 мкм, или от двух до восьми срезов толщиной до 5 мкм.
- Используйте только раствор для депарафинизации FFPE в соответствии с процедурой «Протокол предварительной обработки для использования с мини-набором QIAasymphony DSP DNA Mini Kit» на стр. 33 или «Протокол: протокол предварительной обработки для использования с Набором QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit» на стр. 36.

Примечание: раствор для депарафинизации не поставляется с комплектами для экстракции и должен заказываться отдельно (см. «Информация для заказа», стр. 110).

- Используйте РНКазу А, чтобы свести к минимуму содержание РНК (включено в процедуру «Протокол: депарафинизация среза FFPE раствором для депарафинизации QIAGEN» на стр. 33).

Примечание: РНКазы А не поставляются с наборами для экстракции и должны заказываться отдельно (см. «Информация для заказа», стр. 110).

- Разбавление образца может потребоваться перед проведением кПЦР (см. «Протокол: количественное определение и нормализация гДНК», стр. 41) или для хранения.
- ДНК, выделенная из образцов FFPE, обычно имеет более низкую молекулярную массу, чем ДНК из свежих или замороженных образцов. Степень фрагментации зависит от типа и возраста образца, а также от условий, используемых для фиксации.
- Информацию о хранении ДНК после экстракции см. в разделе «Образцы геномной ДНК и свободно циркулирующей ДНК», стр. 29.

Протокол: автоматическое извлечение гДНК из образцов FFPE с использованием набора QIAasymphony SP

При использовании мини-набора QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (Кат. № 937236) для автоматического извлечения ДНК выполните извлечение ДНК в соответствии с инструкциями в руководстве, приняв во внимание, следующее:

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

- Используйте только депарафинизирующий раствор для депарафинизации FFPE в соответствии с процедурой, «Протокол предварительной обработки для использования с QIAasymphony DSP DNA Mini Kit», стр. 33.

Примечание: раствор для депарафинизации не входит в состав наборов для извлечения ДНК и должен заказываться отдельно (см. «Информация для заказа», стр. 110).

- Выберите протокол Tissue_LC_200_V7_DSP на приборе QIAasymphony SP (для получения более подробной информации обратитесь к таблице протоколов QIAasymphony SP Tissue_LC_200_V7_DSP protocol)
- Используйте объем для элюирования 50 мл.
- Для получения любой дополнительной информации, касающейся прибора QIAasymphony SP, обратитесь к руководству пользователя, прилагаемому к прибору.

Протокол: Ручное извлечение гДНК из образцов FFPE

При использовании набора QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (Кат. № 60404) для извлечения ДНК вручную, выполните извлечение ДНК в соответствии с инструкциями в руководстве, приняв во внимание следующее:

- Используйте только раствор для депарафинизации FFPE в соответствии с процедурой «Протокол: протокол предварительной обработки для использования с набором QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit», стр. 36.

Примечание: раствор для депарафинизации не входит в комплект наборов для извлечения ДНК и должен заказываться отдельно (см. «Информация для заказа», стр. 110).

- Используйте объемы в 50 мл для элюирования.

Протокол: Депарафинизация участка FFPE раствором для депарафинизации QIAGEN

Протокол предварительной обработки для использования с набором QIAasymphony DSP DNA Mini Kit

Этот протокол предварительной обработки предназначен для использования с набором QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (для автоматического извлечения) и основан на протоколе *QIAasymphony SP Protocol Sheet Tissue_LC_200_V7_DSP* (Метод 1: депарафинизация с использованием раствора для депарафинизации).

Важные моменты перед началом работы

- Доведите все буферы до комнатной температуры (15-25°C) и доведите раствор для депарафинизации до температуры 20-25°C.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

- Магнитные частицы QIAasympphony совместно очищают РНК и ДНК, если в образце присутствуют и то, и другое. Чтобы свести к минимуму содержание РНК в образце, добавьте РНКазу А к образцу на этапе, указанном в протоколе предварительной обработки ниже.
- Раствор для депарафинизации, РНКазы А и буфер ATL не входят в комплект поставки QIAasympphony DSP DNA Mini Kit и должны заказываться отдельно (см. «Информация для заказа», стр. 110).

Что нужно сделать перед началом работы

- Разогрейте термомешалку или шейкер-инкубатор до 56°C для использования на этапе 7.
- Проверьте буфер ATL на наличие белого осадка. При необходимости растворите осадок в соответствии с протоколом, описанным в *протоколе QIAasympphony SP Protocol Sheet Tissue_LC_200_V7_DSP*.

Процедура

Начиная только с блоков FFPE

1. Используя скальпель, срежьте излишки парафина с блока образца. Отрежьте от одной до четырех срезов толщиной 10 мкм или от двух до восьми срезов толщиной 5 мкм.

Примечание: если поверхность образца подвергалась воздействию воздуха, выбросьте первые 2-3 среза.

2. Немедленно поместите срез(ы) в пробирку для образцов объемом 2 мл, совместимую с держателем пробирки для образцов QIAasympphony SP (не входит в комплект поставки; например, Sarstedt, Кат. № 72.693).
3. Перейдите к этапу 4, приведенному ниже (для всех образцов).

Начиная только со срезов FFPE на стеклах

1. Нанесите по 1 капле раствора для депарафинизации на каждое предметное стекло с помощью специальных пипеток для подготовки образца.
2. Соскребите материал для образца одноразовым стерильным скальпелем, чтобы собрать всю ткань целиком. Поместите агрегаты в пробирку для образцов объемом 2 мл, совместимую с держателем для пробирок

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

QIAsymphony SP (не входит в комплект поставки; например, Sarstedt, Кат. № 72.693).

3. Перейдите к этапу 4, приведенному ниже (для всех образцов).

Для всех образцов

4. Добавьте 200 мкл буфера ATL к срезам.

5. Добавьте 20 мкл протеиназы К.

Примечание: используйте протеиназу К из набора QIAsymphony DSP DNA Mini Kit.

6. Добавьте 160 мкл или 320 мкл раствора для депарафинизации (см. таблицу 2) и перемешайте, используя вихревую мешалку.

Таблица 2. Необходимый объем депарафинизирующего раствора

Толщина среза	Количество срезов	Объем депарафинизирующего раствора
5 мкм	1-4	160 мкл
	5-8	320 мкл
10 мкм	1-2	160 мкл
	3-4	320 мкл

7. Поместите пробирку в термосмеситель или шейкер-инкубатор и выдерживайте при температуре 56°C в течение 1 часа при встряхивании при 1000 оборотах в минуту до полного лизирования ткани.

Примечание: время лизиса варьируется в зависимости от типа обрабатываемой ткани. Для большинства тканей лизис завершается в течение 1 часа. Если лизис не завершен через 1 час, на что указывает присутствие нерастворимого материала, время лизиса может быть увеличено или нерастворимый материал может быть гранулирован центрифугированием. Лизис возможен в течение ночи и не влияет на процесс подготовки.

8. Инкубируйте при температуре 90°C в течение 1 часа.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Примечание: инкубация при 90°C в буфере ATL частично обращает вспять формальдегидную модификацию нуклеиновых кислот. Более длительное время инкубации или более высокие температуры инкубации могут привести к большей фрагментации ДНК. Если используется только один нагревательный блок, оставьте образец при комнатной температуре после инкубации при температуре 56°C, пока нагревательный блок не достигнет 90°C.

9. Чтобы свести к минимуму содержание РНК в образце, добавьте 2 мл РНКазы А (100 мг/мл) в нижнюю фазу и инкубируйте в течение 2 минут при комнатной температуре, прежде чем продолжить этап 10. Дайте образцу остыть до комнатной температуры, прежде чем добавлять РНКазу А.
10. Центрифугируйте на полной скорости в течение 1 минуты при комнатной температуре.
11. Осторожно перенесите пробирки (содержащие обе фазы) в пробоотборник QIAasympyphony SP.

12. Приступайте к экстракции, следуя инструкциям в руководстве QIAasympyphony DSP DNA Mini Kit (используйте объем элюирования 50 мл).

Протокол: протокол предварительной обработки для использования с набором QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit

Этот протокол предварительной обработки предназначен для использования с набором QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit (для ручной экстракции) и основан на «Дополнительном протоколе QIAGEN: очистка геномной ДНК из ткани FFPE с использованием набора QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue Kit и раствора для депарафинизации».

Важные моменты перед началом работы

- Выполните все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15-25°C).
- Доведите все буферы до комнатной температуры; раствор для депарафинизации доведите до 20-25°C.
- Раствор для депарафинизации, РНКазы А и буфер ATL не входят в комплект поставки QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit и должны заказываться отдельно (см. «Информация для заказа», стр. 110).

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Что нужно сделать перед началом работы

- Разогрейте термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом до 56°C для использования на этапах 6 и 10. Если термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом отсутствуют, вместо него можно использовать нагревательный блок или водяную баню.
- Если буфер AL или буфер ATL содержат осадки, растворите осадок в соответствии с протоколом, описанным в руководстве по применению QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit.
- Убедитесь, что буфер AW1 и буфер AW2 были приготовлены в соответствии с инструкциями, приведенными в руководстве QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit.

Процедура

Начиная только с блоков FFPE

1. Используя скальпель, срежьте излишки парафина с блока образца. Сделайте срезы толщиной 5-10 мм.

Примечание: если поверхность образца подвергалась воздействию воздуха, выбросьте первые 2-3 среза.

2. Немедленно поместите срез(ы) в пробирку для микроцентрифуги объемом 1,5 мл или 2 мл (не входит в комплект поставки).
3. Перейдите к этапу 4, приведенному ниже (для всех образцов).

Начиная только со срезов FFPE на стеклах

1. Нанесите по 1 капле раствора для депарафинизации на каждое предметное стекло с помощью специальных пипеток для подготовки образца.
2. Соскребите образец материала скальпелем, чтобы собрать всю ткань целиком. Поместите агрегаты в пробирку для микроцентрифуги объемом 1,5 мл или 2 мл (не входит в комплект поставки).
3. Перейдите к этапу 4, приведенному ниже (для всех образцов).

Для всех образцов

4. Добавьте 160 мл или 320 мл раствора для депарафинизации (таблица 3) и энергично перемешивайте в течение 10 секунд.

Таблица 3. Необходимый объем депарафинизирующего раствора

Толщина среза	Количество срезов	Объем депарафинизирующего раствора
5 мкм	1-4	160 мкл
	5-8	320 мкл
10 мкм	1-2	160 мкл

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

5. Центрифугируйте в течение короткого времени, чтобы собрать образец на дне пробирки.
6. Выдерживайте при температуре 56°C в течение 3 минут и дайте остыть при комнатной температуре (15-25°C).
7. Добавьте 180 мл буфера ATL и перемешайте, используя вихревую мешалку.
8. Центрифугируйте в течение 1 минуты при 11 000 *x g* (10 000 оборотов в минуту). Появляются две фазы (синяя и прозрачная).

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

9. Добавьте 20 мкл протеиназы К в нижнюю, прозрачную фазу. Аккуратно перемешайте, аспирируя раствор пипеткой вверх и вниз.
10. Инкубируйте при температуре 56°C в течение 1 часа (или до тех пор, пока образец полностью не лизируется).
11. Инкубируйте при температуре 90°C в течение 1 часа.

Инкубация при 90°C в буфере ATL частично обращает вспять формальдегидную модификацию нуклеиновых кислот. Более длительное время инкубации или более высокие температуры инкубации могут привести к большей фрагментации ДНК.

Примечание: если используется только один нагревательный блок, оставьте образец при комнатной температуре (15-25°C) после инкубации при 56°C на этапе 10, пока нагревательный блок не достигнет 90°C на этапе 10.

12. Центрифугируйте в течение короткого времени пробирку объемом 1,5 мл, чтобы удалить капли изнутри крышки.
13. Перелейте нижнюю, прозрачную фазу в новую пробирку для микроцентрифуги объемом 2 мл.
14. Добавьте 2 мл РНКазы А (100 мг/мл) и инкубируйте в течение 2 минут при комнатной температуре.
15. Перейдите к этапу 12 (добавление буфера AL) в руководстве по применению набора QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (используйте объем элюирования 50 мл).

Протокол: извлечение сцДНК из образцов плазмы

Набор theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit был протестирован в сочетании со следующими наборами для извлечения ДНК:

- Набор QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit (Кат. № 937556) для автоматического извлечения сцДНК (из образцов плазмы)
- Набор QIAamp DSP Circulating Nucleic Acid Kit (Кат. № 61504) для ручного извлечения сцДНК (из образцов плазмы)

Важные моменты перед началом работы

Применимо к протоколам автоматической экстракции и ручной экстракции:

- Убедитесь, что срок годности реагентов для извлечения ДНК не истек и что они транспортировались и хранились в надлежащих условиях.
- Не используйте компоненты с истекшим сроком годности или неправильно хранящиеся компоненты.
- Исходным материалом для очистки сцДНК должна быть плазма, приготовленная из образцов цельной крови с 2К-EDTA. Образцы могут

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)


Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

быть как свежими, так и замороженными (при условии, что они не замораживались и не размораживались более одного раза).

- Концентрация циркулирующих бесклеточных нуклеиновых кислот в биологических жидкостях, таких как плазма, обычно низкая и значительно варьируется у разных людей. Следовательно, сцДНК, выделенная из образцов плазмы, не подлежит количественному определению и нормализации (без разбавления) и используется непосредственно в реакции кПЦР.
- О хранении ДНК после экстракции см. раздел «Образцы геномной и свободно циркулирующей ДНК», стр. 29.

Протокол: автоматическое извлечение сцДНК из образцов плазмы с использованием QIAasymphony SP

При использовании набора QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit (Кат. № 937556) для автоматического извлечения выполните извлечение ДНК в соответствии с инструкциями в руководстве, приняв во внимание следующее:

- Выберите протокол circDNA_2000_DSP_V1 на приборе QIAasymphony SP (подробности протокола см. в таблице протоколов QIAasymphony SP circDNA_2000_DSP_V1)
-  Рекомендуемый объем образца для circDNA_2000_DSP составляет 2 мл.
- Однако мы рекомендуем начинать с 2,4 мл, чтобы предотвратить сбой экстракции при первоначальном пипетировании, как указано в «Руководстве по устранению неполадок» руководства QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit. Если образца недостаточно, добавьте в образец стерильный PBS (не входит в комплект поставки) до требуемого объема пробы перед загрузкой образца.
- Используйте объем для элюирования 60 мл.
- Для получения любой дополнительной информации, касающейся прибора QIAasymphony SP, обратитесь к руководству пользователя, прилагаемому к прибору.

Протокол: ручное извлечение сцДНК из образцов плазмы

При использовании набора QIAamp DSP Circulating Nucleic Acid Kit (Кат. № 61504) для ручной очистки выполните экстракцию ДНК в соответствии с инструкциями в руководстве, приняв во внимание следующее:

- Очистку циркулирующих нуклеиновых кислот проводят из 2 мл плазмы.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

- Для протокола требуется вакуумный коллектор (например, QIAvac 24 Plus с системой подключения QIAvac) и вакуумный насос, способный создавать вакуум от -900 до -800 мбар (например, вакуумный насос QIAGEN).
- Используйте объем для элюирования 60 мл.

Протокол: количественное определение и нормализация гДНК

Что нужно сделать перед началом работы

При использовании автоматических процедур извлечения проверьте столбец «Достоверность результата» для каждого образца в файле результатов QIASymphony SP после завершения прогона:

- Статус «Действительный»: переходите к количественному определению гДНК.
- Статус «Неясно»: может быть обработан в зависимости от происхождения флажка (для получения подробной информации о возможных причинах флажка «неясно» обратитесь к руководству пользователя QIASymphony SP/AS).
- Статус «Недействительный»: образец забракован. Повторите этап извлечения.

Процедура

гДНК, выделенная из образцов FFPE, должна быть определена количественно. Если измеренная концентрация составляет менее 4 нг/мкл, образец необходимо повторно извлечь с помощью большего количества срезов (максимум восемь срезов по 5 мкм или четыре среза по 10 мкм).

Если измеренная концентрация превышает 6 нг/мкл, образец необходимо разбавить до 5 нг/мкл, используя воду для разбавления образца, входящую в набор для thetascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit, в соответствии с формулой:

$$C_i \times V_i = C_f \times V_f$$

Где

C_i: Начальная концентрация экстрагированной гДНК

C_f: Конечная целевая концентрация = 5 нг/мкл.

V_f: Конечный объем, необходимый для проведения прогона thetascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit (т.е. 20 мл + дополнительный объем при ошибке пипетирования)

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

V_i : Начальный объем экстрагированной гДНК, который необходимо набрать пипеткой и разбавить водой для разбавления образца, входящей в набор theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit (добавляемый объем воды = $V_f - V_i$)

Каждая реакция ПЦР оптимизирована для 25 нг ДНК, разведенной в конечном объеме образца 5 мл. Поскольку каждый образец тестируется с использованием четырех реакционных смесей EGFR, требуется в общей сложности 100 нг на каждый тестируемый образец.

Примечание: убедитесь, что для калибровки прибора для количественного определения используется правильный буфер для элюирования.

сцДНК, выделенная из образцов плазмы, не должна поддаваться количественному определению. Каждая реакция ПЦР оптимизирована для получения 5 мкл чистой экстрагированной сцДНК. Поскольку каждый образец тестируется с использованием четырех реакционных смесей EGFR, на каждый тестируемый образец требуется в общей сложности 20 мл.

Протокол: Оценка мутации EGFR методом кПЦР на приборе Rotor-Gene Q MDx 5Plex HRM

Важные моменты перед началом работы

- Убедитесь, что оператор обучен использованию приборов для кПЦР. При необходимости после установки может быть проведено обучение работе с прибором (см. «Информация для заказа», стр. 110).
- Прочтите раздел «Меры предосторожности», стр. 23, и ознакомьтесь со всеми компонентами набора перед использованием.
- Набор theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit должен быть запущен на приборе Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM с использованием программного обеспечения Rotor-Gene AssayManager версии 2.1 (или более поздней версии) в сочетании с плагином Gamma версии 1.0.0 (или более поздней), связанным с Assay Profile FFPE или плазмы.
- Найдите время, чтобы ознакомиться с прибором Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, программным обеспечением Rotor-Gene AssayManager и модулем Gamma перед запуском протокола. Подробные сведения см. в руководствах пользователя прибора, Rotor-Gene AssayManager и плагина Gamma.
- Rotor-Gene AssayManager версии 2.1 позволяет автоматически интерпретировать результаты ПЦР. Параметры циклирования заблокированы на время выполнения.
- Если вы впервые используете программное обеспечение Rotor-Gene AssayManager версии 2.1, плагин Gamma и Assay Profile, пожалуйста,

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

обратитесь к разделу «Приложение А: установка программного обеспечения Rotor-Gene AssayManager версии 2.1, плагина Gamma и импортирование Assay Profile». Инструкции по установке приведены на стр. 103. Если программное обеспечение Rotor-Gene AssayManager v2.1, плагин Gamma и Assay Profile уже установлены и импортированы на ваш компьютер, следуйте приведенным ниже инструкциям.

* Убедитесь, что приборы и оборудование были проверены и откалиброваны в соответствии с рекомендациями производителя.

- Если вы используете автоматизированные процедуры извлечения, проверьте столбец «Достоверность результата» для каждого образца в файле результатов QIASymphony SP после завершения прогона, см. «Протокол: количественное определение и нормализация гДНК», стр. 41.
- Если вы используете гДНК, извлеченную из FFPE, образец следует определить количественно и разбавить до 5 нг/мкл, см. «Протокол: количественное определение и нормализация гДНК», стр. 41.
- Если вы используете сДНК, извлеченную из плазмы, образцы следует использовать неразбавленными.

Настройка кПЦР

Используя набор theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit, рекомендуется протестировать шесть образцов ДНК в одном прогоне, чтобы оптимизировать использование контрольных образцов и реакционных смесей. Однако в одном прогоне может быть протестировано до 16 образцов.

Что нужно сделать перед началом работы

- Охладите загрузочный блок (на 72 пробирки по 0,1 мл) в холодильнике (2-8°C).
- Перед каждым использованием размораживайте все необходимые компоненты.

Примечание: во избежание разложения материала выдерживайте его при комнатной температуре не более 1 часа. Если требуется больше времени, храните компоненты при температуре 2-8°C до 8 часов.

- Очистите рабочее место, предназначенное для приготовления смеси для ПЦР, чтобы снизить риск загрязнения матрицы или нуклеазы.
- Перемешайте пробирки, содержащие контрольные образцы, смеси праймеров и зондов и основную смесь для ПЦР (3-5 секунд), а затем ненадолго центрифугируйте перед использованием.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Процедура

1. Приготовьте четыре реакционные смеси для ПЦР в пробирках объемом 1,5 мл или 2 мл (не входят в комплект поставки), т.е. смешайте каждую смесь праймеров и зондов (смесь T790M и L861Q, смесь инсерций и G719X, смесь L858R и C797S или смесь делеций и S768I) с основной смесью для ПЦР в соответствии с количеством образцов, которые необходимо обработать.

Объем, необходимый для каждого компонента набора для приготовления реакционных смесей, показан в таблице 4. Конечный объем реакции ПЦР составляет 25 мкл после добавления 5 мкл образца ДНК или контрольной матрицы для прогона. Дополнительный объем предусмотрен для компенсации вариаций дозирования и обеспечения возможности приготовления реакционной смеси, достаточной для запланированного количества тестируемых образцов и контролей, например, шести образцов плюс двух контрольных.

Таблица 4. Приготовление реакционных смесей

Компонент	1 реакция (мкл)	8 +1 реакция (мкл)*
Смесь праймеров и зондов EGFR	7.5	67.5
Основная смесь для ПЦР	12.5	112.5
Общий объем реакционной смеси	20	180
Распределение реакционной смеси	20 мкл на пробирку	
Распределение тестируемых образцов	5 мкл на пробирку	
Общий объем на одну реакцию	25 мкл	

* Для компенсации погрешности пипетирования предусмотрен дополнительный объем реакционной смеси: одна дополнительная лунка на 10 лунок и две дополнительные лунки на 20 лунок.

1. Верните все компоненты набора theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit в морозильную камеру, чтобы избежать порчи материала.
2. Перемешайте реакционные смеси на вихревой мешалке в течение 3-5 секунд и центрифугируйте в течение короткого времени.
3. Поместите пробирки с ПЦР на охлажденный загрузочный блок (72 пробирки по 0,1 мл) и распределите реакционные смеси EGFR по 20 мл на пробирку в соответствии с настройкой загрузочного блока, показанной на рисунке 6.
4. **Примечание:** рекомендуется дозировать 20 мл реакционной смеси обратным дозированием из пипетки.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

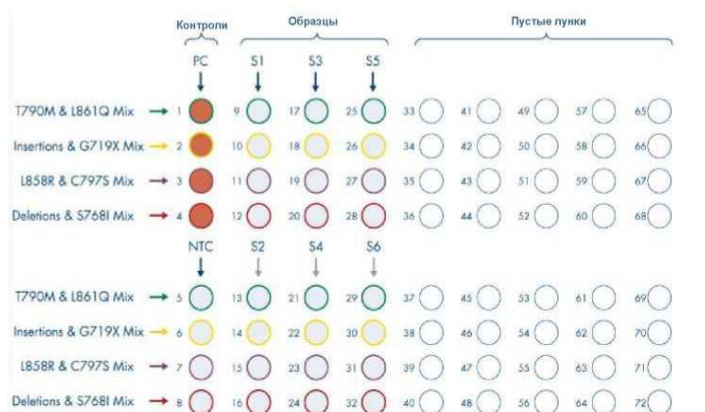


Рисунок 6. Установка загрузочного блока для анализа с набором theascreen EGFR Plus RQ-PCR Kit, тестирование шести образцов.

Позиции 1-32 следующие. PC: Положительный контроль EGFR; NTC: Контроль без матрицы (вода); Образец 1 (S1) -образец 6 (S6): образцы ДНК. Реакционные смеси: смесь EGFR T790M и L861Q, смесь инсерций EGFR и G719X, смесь EGFR L858R и C797S, смесь делеций EGFR и S768I. Все остальные позиции являются пустыми лунками.

Примечание: в одном анализе можно использовать как образцы ДНК FFPE, так и образцы ДНК плазмы. Для этого требуется использовать профили анализа FFPE и плазмы в одном прогоне и использовать конкретную компоновку планшета. Подробности см. в приложении В: использование профилей анализа FFPE и плазмы в одном прогоне (стр. 107).

5. Добавьте 5 мл воды для NTC в соответствующие пробирки для NTC (рис. 6), чтобы получить общий объем 25 мл. Аккуратно перемешайте, взбивая пипеткой вверх и вниз. Закройте все пробирки, содержащие NTC.
6. Встряхните на вихревой мешалке и центрифугируйте в течение короткого времени образцы ДНК и положительный контроль EGFR. Затем добавьте 5 мл образца или образца PC в соответствующие пробирки (рис. 6), чтобы получить общий объем 25 мл. Аккуратно перемешайте, взбивая пипеткой вверх и вниз.
7. Закройте все пробирки и убедитесь, что на дне пробирок нет пузырьков.

Примечание: меняйте наконечники между каждым добавлением матрицы, чтобы избежать загрязнения.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Протокол: подготовка прибора Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM

8. Установите 72-луночный ротор на держатель ротора прибора Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

9. Заполните ротор пробирками в соответствии с назначенными позициями, начиная с позиции 1, как показано на рисунке 7.

Примечание: убедитесь, что первая пробирка вставлена в положение 1, а остальные пробирки расположены в правильной позиции и положениях, как показано на рисунке.

10. Все неиспользуемые позиции должны быть заполнены пустыми пластиковыми пробирками с крышками.

Примечание: мы рекомендуем оставить четыре положительных контроля в позициях 1-4 и четыре контроля без матрицы в позициях 5-8, поскольку автоматический анализ, установленный в Assay Profile, основан на такой организации. Если используется другая схема расположения, будут получены противоречивые или недопустимые результаты.

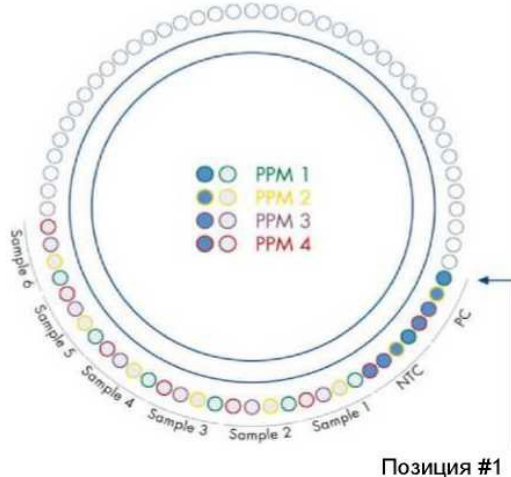


Рисунок 7. установка ротора для прогона с набором theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit. Из позиции 1 PC: Положительный контроль EGFR; NTC: Контроль без матрицы (вода); PPM 1: Смесь EGFR T790M и L861Q; PPM 2: Инсерции EGFR и смесь G719X; PPM 3: Смесь EGFR L858R и C797S; PPM 4: Делеции EGFR и смесь S768I; Образец 1 - образец 6: Образцы ДНК.

Примечание: Все оставшиеся позиции  должны быть заполнены пустыми пробирками.

11. Прикрепите стопорное кольцо.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

12. Загрузите прибор Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM вместе с ротором и стопорным кольцом. Закройте крышку прибора.

Создание рабочего списка и запуск кПЦР

Примечание: рабочий список можно создать и сохранить перед подготовкой образцов или при настройке прогона на приборе, как описано в данном руководстве.

13. Включите прибор Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

14. Откройте программное обеспечение Rotor-Gene AssayManager v2.1.

15. Войдите в систему как пользователь на правах оператора в закрытом режиме. Нажмите кнопку ОК. Появится следующее окно.

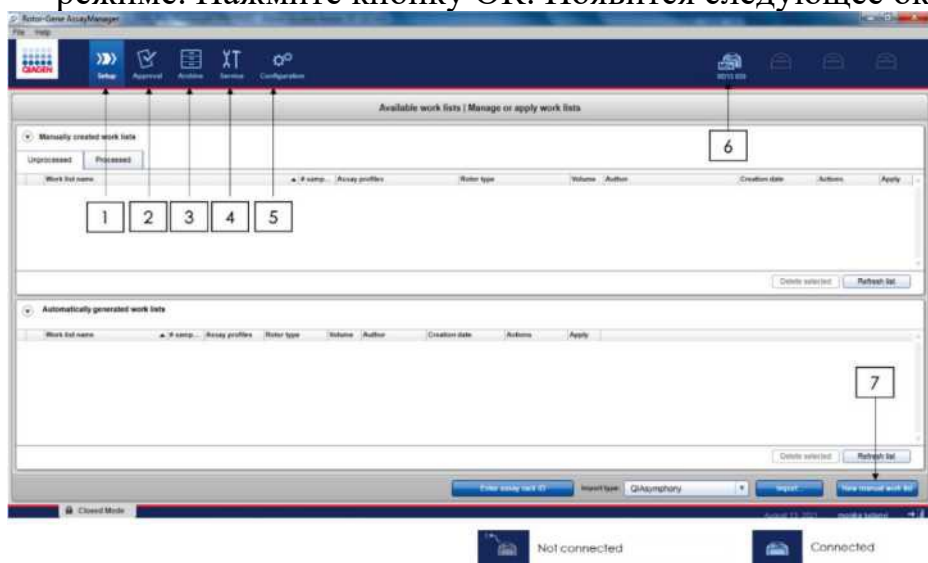


Рисунок 8. Rotor-Gene AssayManager v2.1.

1 – Вкладка Setup «настройки». В этом окне можно управлять рабочими списками или применять их

2 - Вкладка Approval «подтверждения». Эта вкладка позволяет вам найти предыдущие прогоны.

3 - Вкладка Archive «Архив». Эта вкладка позволяет вам найти ранее утвержденные прогоны.

4 - Вкладка Service «Сервис». На этой вкладке отображается журнал аудита каждого файла, сгенерированного программным обеспечением.

5 - Вкладка Configuration «конфигурации». На этой вкладке можно настроить все параметры программного обеспечения.

6 - Значок прибора Rotor-Gene Q (RGQ); информирует пользователя о том, подключен ли данный блок управления циклами. К одному компьютеру можно подключить до четырех приборов RGQ.

7 - New manual work list «Новый пользовательский список».

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

16. Перед запуском программы убедитесь, что RGQ правильно обнаружен программным обеспечением. Для получения дополнительной информации см. раздел «поле **Cycler/блок управления циклами**» в руководстве пользователя Rotor-Gene AssayManager v2.1.
17. Щелкните на **New manual work list** «Новый пользовательский список» в диспетчере списков (поле Setup «Настройка») (рис. 8).
18. Выберите соответствующий профиль анализа EGFR из списка доступных профилей анализа:
 - Для тестирования образцов гДНК из FFPE: **therascreen_EGFR_Plus_FFPE**
 - Для тестирования образцов сДНК из плазмы: **therascreen_EGFR_Plus_Plasma**

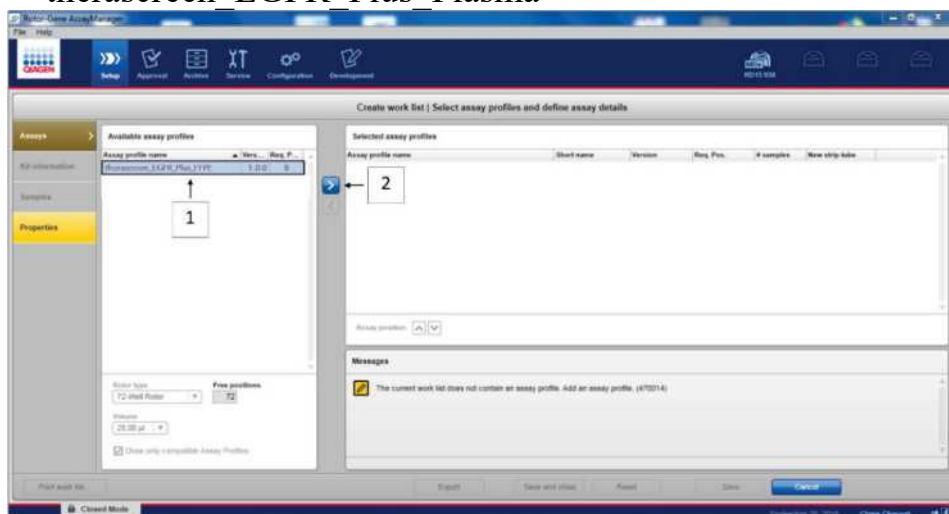


Рисунок 9. Выбор профиля анализа. 1 - Доступные профили анализа; 2 - Перенос профиля анализа в рабочий список

Примечание: В одном и том же прогоне можно запустить как профили для анализа FFPE, так и профили для анализа плазмы. Подробности см. в приложении В: выполнение профилей анализа FFPE и плазмы в одном прогоне, стр. 107.

19. Нажмите кнопку **Move/Переместить**, чтобы перенести выбранный профиль анализа в список **Selected assay profiles/Выбранные профили** анализа.
20. Введите количество образцов в соответствующее поле.



Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Рисунок 10. Создание списка: определение деталей анализа. 3 - количество образцов

Примечание: Количество образцов не соответствует количеству пробирок и не включает контрольные образцы.

21. Выберите вкладку «Kit Information - Информация о наборе». Введите следующую информацию о наборе EGFR, которая указана на этикетке коробки с набором theascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit:

- Номер материала: 1114551
- Срок годности
- Номер партии

Рисунок 11. Создание рабочего списка: Редактирование информации о наборе. 4 = штрих-код набора. На этой вкладке указывается штрих-код набора (если введен штрих-код, остальные поля заполняются автоматически).

5 - Номер материала.

6 - Срок годности набора.

7 - Номер партии. Эта информация указана на упаковке набора.

Примечание: Все поля должны быть заполнены и становиться синими при вводе достоверной информации.

22. Перейдите на вкладку «Samples - Образцы». Будет показан список с подробной информацией об образце. Этот список представляет ожидаемую схему расположения пробирок ротора.

23. Введите идентификационный номер образца в этот список, а также любую дополнительную информацию об образце в качестве комментария к каждому образцу.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Pos	Style	Sample ID	Status	Sample type	Targets	Assay	Sample comment
1	Positive Control			PC	T790M, L861Q,...	FFPE	
2					Insertions, G719X,...		
3					L858R, C797S,...		
4					Deletions, S768I,...		
5	NTC			NTC	T790M, L861Q,...	FFPE	
6					Insertions, G719X,...		
7					L858R, C797S,...		
8					Deletions, S768I,...		
9	Sample 1			Test	T790M, L861Q,...	FFPE	
10					Insertions, G719X,...		
11					L858R, C797S,...		
12					Deletions, S768I,...		
13	Sample 2			Test	T790M, L861Q,...	FFPE	
14					Insertions, G719X,...		
15					L858R, C797S,...		
16					Deletions, S768I,...		
17	Sample 3			Test	T790M, L861Q,...	FFPE	
18					Insertions, G719X,...		
19					L858R, C797S,...		
20					Deletions, S768I,...		
21	Sample 4			Test	T790M, L861Q,...	FFPE	

Рисунок 12. Ввод информации об образце. 8 - идентификатор образца. 9 – комментарии к образцу (опционально).

24. Выберите **Properties/Свойства** и введите название рабочего списка (пользователь может ввести любое допустимое имя рабочего списка).

Рисунок 13. Свойства. 10 - название рабочего списка. 11 - установленный флажок «work is complete - работа завершена». 12 - снятый флажок «is editable - доступно для редактирования».

Примечание: Поле «is editable/доступно для редактирования» (рис. 13) определяет, доступен ли рабочий список по-прежнему для редактирования или нет. Поэтому, если рабочий список применим и впоследствии не подлежит изменению, этот флажок необходимо снять.

Примечание: Рабочий список можно применить непосредственно или сохранить и запустить позже.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

25. Установите флажок **worklist is complete (can be applied)/рабочий список завершен (может быть применен)**.

26. Сохраните рабочий список.

Дополнительно: рабочий список можно распечатать, и это может помочь в подготовке и настройке кПЦР. Чтобы распечатать рабочий список, нажмите кнопку **Print work list/Распечатать рабочий список**. Подробные сведения о примерах включены как часть этого рабочего списка.

27. Выберите соответствующий рабочий список в диспетчере рабочих списков и нажмите **Apply/Применить**. В качестве альтернативы, если список работ все еще открыт, нажмите кнопку **Apply/Применить**.

28. Введите название прогона в поле **Experiment name/Название прогона**.

29. В списке **cycler selection/ выбор блока управления циклами** выберите используемый блок управления циклами.

Примечание: необходимо использовать прибор Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.*

30. Убедитесь, что стопорное кольцо закреплено правильно, и проверьте поле **Ring attached/крепление кольца**.

31. Нажмите кнопку **Start run/Начать выполнение**. Выполнится запуск кПЦР (рис. 14).

* В некоторых странах, если применимо, можно использовать прибор Rotor-Gene Q 5plex HRM с датой выпуска май 2011 года или более поздней. Дату изготовления можно узнать по серийному номеру на обратной стороне прибора. Серийный номер представлен в формате «mmуunnn», где «mm» обозначает месяц производства в цифрах, «уу» обозначает последние две цифры года производства, а «nnn» указывает уникальный идентификатор прибора

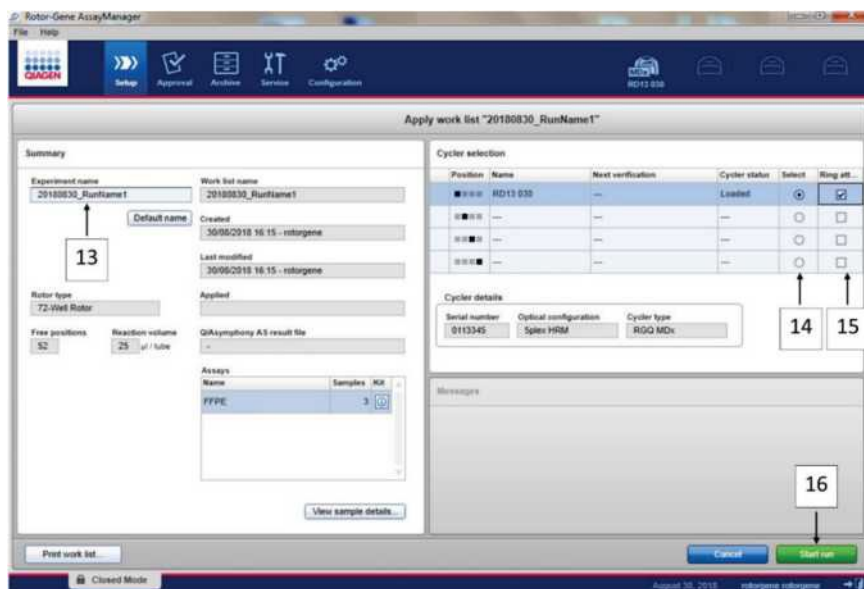
Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе



Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Рисунок 14. Выполнение прогона. 13 - введите название прогона; 14 - выберите блок управления циклами; 15 - подтвердите, что стопорное кольцо прикреплено; 16 - нажмите кнопку начать запуск, чтобы запустить прогон.

Распечатка результатов кПЦР и составление отчета

Общая функциональность окна Approval «утверждение» описана в *руководстве пользователя плагина Rotor-Gene AssayManager v2.1 Gamma*.

После завершения прогона и отключения блока управления циклами, прогон будет сохранен во внутренней базе данных. Анализ полученных данных выполняется автоматически в зависимости от плагина, соответствующего профилю анализа, а также правил и значений параметров, определенных профилем анализа.

32. После завершения прогона нажмите кнопку **Finish run/Завершить прогон** (рис. 15).

Примечание: пока этот шаг не будет завершен, прогон не будет сохранен во внутренней базе данных.

33. Нажмите кнопку **Release «Издать»** и подтвердите прогон.

- Для пользователей, вошедших в систему в качестве Подтверждающего лица, нажмите **Release and go to approval/Издать и перейти к подтверждению**.
- Для пользователей, вошедших в систему в качестве оператора, нажмите **Release/Издать**.

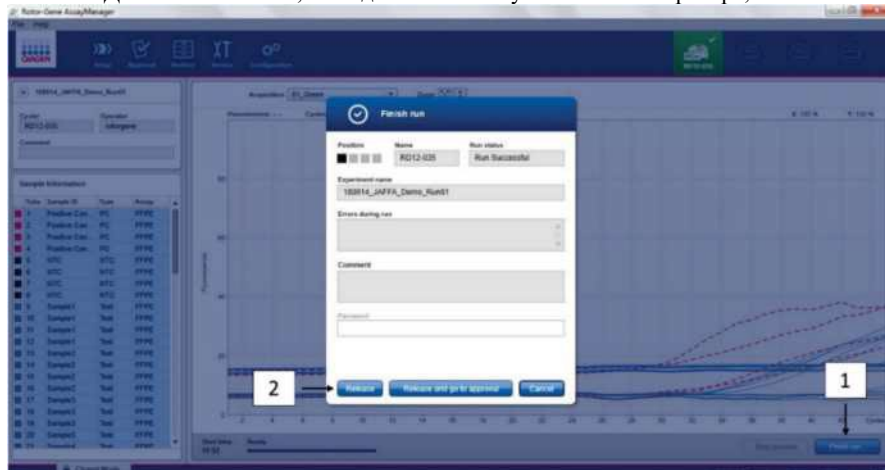


Рисунок 15. Завершение прогона. Завершение прогона (1) и Издать прогон (2)

34. Выдача результата.

- Если вы нажали кнопку **Release and go to approval / Издать и перейти к утверждению**, результаты прогона отобразятся в поле утверждения.
- Если вы нажали кнопку **«Release / Издать»** в качестве пользователя, пользователю с ролью утверждающего необходимо войти в систему и выбрать поле утверждение.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

35. Отфильтруйте анализ, который должен быть подтвержден, выбрав параметры фильтрации и нажав **Apply/Применить**. Выберите нужный анализ в списке отфильтрованных анализов, используя флажок, и нажмите **Start Approval/Начать утверждение**.
36. Используйте переключатели (рис. 16), чтобы принимать или отклонять образцы.
- Примечание:** образцы могут быть отклонены в случае ошибки оператора при обработке или необычных кривых (артефакт).
37. Просмотрите результаты и нажмите «Release/Report data Издать/составить отчет по данным».

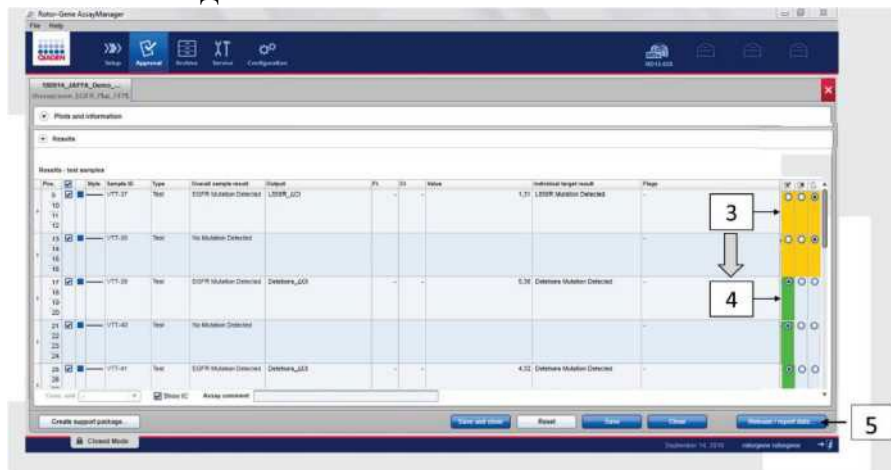


Рисунок 16. Просмотр и выдача результатов. Просмотрите и примите (ü) или отклоните (û) результаты для каждого образца: цвет поля меняется с желтого, например, на зеленый, если данные утверждены (3, 4). Затем нажмите «Release/Report data (Издать / составить отчет по данным)» (5).

38. Введите пароль, если требуется, и нажмите кнопку ОК. Отчет создается в формате Adobe Portable Document (.pdf) и автоматически сохраняется в предопределенной папке. Путь к папке по умолчанию следующий C:\Documents and settings\Public\Documents\QIAGEN\Rotor-GeneAssayManager\Export\Reports.

Примечание: вы можете изменить путь и папку в поле конфигурации.

Примечание: в то же время файл LIMS автоматически создается и сохраняется в предопределенной папке. Путь к папке по умолчанию: C:\Documents and settings\Public\Documents\QIAGEN\Rotor-Gene AssayManager\Export\LIMS

39. Закройте pdf-файл и вернитесь в Rotor-Gene AssayManager. Нажмите кнопку **ОК** для каждого диалогового окна.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

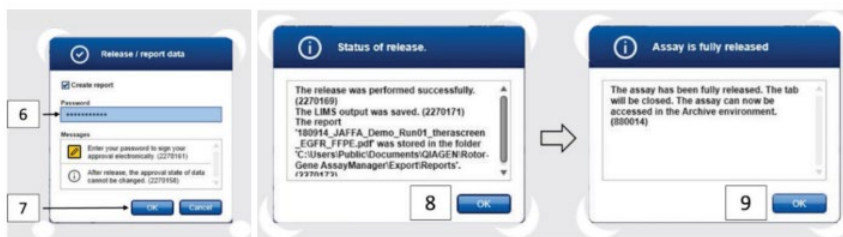


Рисунок 17. Release/Report data (Издать/отчёт о данных). Введите пароль (6), затем нажмите кнопку ОК (7). Будет сгенерирован и откроется отчет в формате PDF; закройте отчет в формате PDF: автоматически сгенерируется файл LIMS и появится заявление о публикации, нажмите ОК (8). Анализ теперь полностью опубликован: нажмите ОК, чтобы перейти в поле архивов (9).

40. Перейдите на вкладку «Архив», чтобы экспортировать файл .rex, соответствующий необработанным данным. Найдите свой прогон, используя параметры фильтра, и нажмите «show assays/показать анализы» (рис. 18).

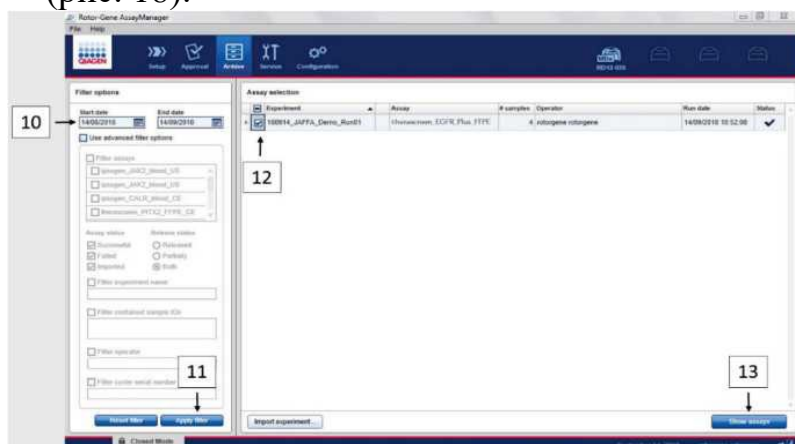


Рисунок 18. Выбор вашего прогона в поле архивов. Например, отфильтруйте по дате (10) и примените фильтр (11). Выберите прогон (12), затем нажмите на «Show assays / Показать анализы» (13).

41. Нажмите на «Export .rex file / Экспортировать файл .rex» и нажмите ОК для сохранения.

Примечание: вы можете выбрать местоположение для сохранения текстового файла (путь по умолчанию - **C:\Documents and settings\Public\Documents\QIAGEN\Rotor-GeneAssayManager\Export\ExperimentsforClosedMode**). Этот путь и папку также можно изменить на вкладке «specify the .rex file export destination/укажите место назначения экспорта файла .rex».

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

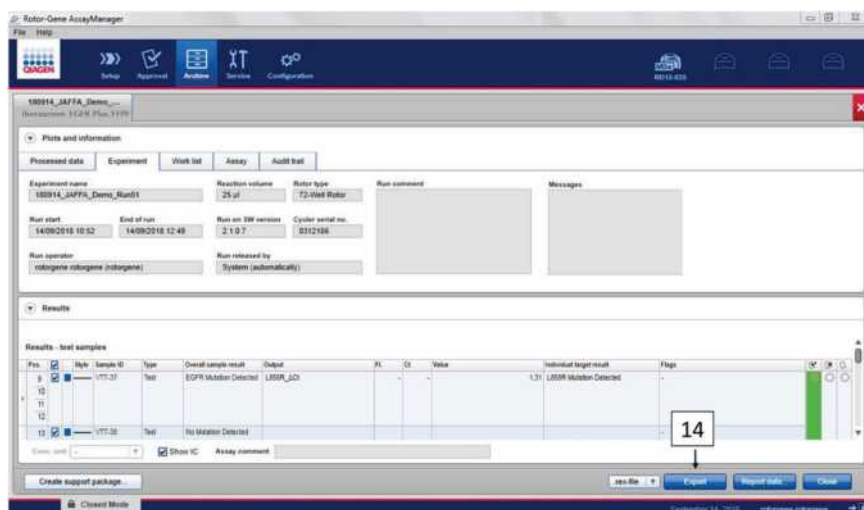


Рисунок 19. Экспорт файла .rex, нажатием кнопки «Export / Экспорт» (14).

Примечание: для оказания технической поддержки QIAGEN помощи в устранении неполадок требуется пакет поддержки из запуска программы. Пакеты поддержки могут быть созданы в окнах «Approval или Archive (Утверждение или Архивирования)». Для получения дополнительной информации см. раздел «Создание пакета поддержки» в *руководстве пользователя основного приложения Rotor-Gene AssayManager v2.1*.

В дополнение к пакету поддержки может оказаться полезным журнал аудита за ± 1 день с момента инцидента. Журнал аудита может быть извлечен из вкладки «Service / Сервич». Для получения дополнительной информации см. *Руководство пользователя Rotor-Gene AssayManager v2.1*.

42. Выгрузите прибор Rotor-Gene Q MDx 5Plex HRM и утилизируйте пробирки в соответствии с местными правилами по техники безопасности.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Интерпретация результатов [если применимо]

Анализ результатов набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR для каждого контроля и образца выполняется автоматически с помощью программного обеспечения Rotor-Gene AssayManager v2.1, связанного с подключаемым модулем Gamma v1.0 и профилями анализа EGFR.

Профили анализа EGFR анализируют кривые амплификации и могут сделать недействительными несоответствующие кривые, в зависимости от их формы и амплитуды шума. В таком случае, недействительная кривая будет отмечена флажком (см. таблицу 6, стр. 63).

Контроли

Rotor-Gene AssayManager v2.1 анализирует элементы контролей при прогоне:

- NTC проверяется на отсутствие специфической амплификации.
- Достоверность положительного контроля основана на соответствии значений CT заранее определенным спецификациям.
- Если какой-либо из этих контролей не соответствует, будет активирован флажок «ASSAY_INVALID». Если этот флажок активирован, прогон считается недействительным и анализ необходимо выполнить снова (схема принятия решения для повторных тестов представлена на рисунке 20).
- **Примечание:** отчет, сгенерированный в конце прогона, показывает результаты, полученные с помощью контрольного прогона, включая недействительные результаты, отмеченные флажком (см. таблицу 6, стр. 63) перед недействительными данными.

Если все контроли в прогоне соответствуют требованиям, то Rotor-Gene AssayManager v2.1 анализирует испытуемые образцы. Образцы ДНК как из FFPE, так и из плазмы анализируются по одному и тому же процессу, но с учетом конкретных критериев, записанных в соответствующих профилях анализа.

Образцы

Внутренний контроль экзона 2

Действительность внутреннего контроля экзона 2 основана на соответствии значений **Ct (пороговый цикл)** заранее определенным спецификациям. Для интерпретации результатов выборки внутренний контроль должен быть действительным. Действительный внутренний контроль указывает на достаточный ввод ДНК и ее качество, а также на отсутствие интерферирующих веществ. В случае недействительного результата, обратитесь к блок-схеме принятия решения, представленной на рисунке 20.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Обнаружение мутации EGFR

Наличие или отсутствие мутаций EGFR в каждом тестируемом образце оценивается на основе дельта-Ct между мутантной амплификацией и амплификацией внутреннего контроля (мишени T790M_ΔCt, L861Q_ΔCt и т.д.) для образцов FFPE, а также на основе амплификации мутации для образцов плазмы (**CT**).

Полуколичественная оценка мутации EGFR

Полуколичественная оценка концентрации мутации в сДНК из плазмы приведена для соответствующих мишеней (перечисленных в кратком изложении и пояснении) в виде нижнего и верхнего пределов интервала. Оценивается количество мутантных копий на миллилитр плазмы, т.е. нижний и верхний пределы интервала задаются мишенями T790M_CN_LL, L861Q_CN_LL и т.д.

Результаты для каждой мишени отображаются в столбце **Result/Результат** отчета.

Заключение анализа по каждому образцу отображается в столбце **«Overall Sample Result / Общий результат образца»** отчета (таблица 5).

Таблица 5. Общие результаты образца и действия

Общий результат образца	Тип образца	Описание	Действие
Действительный	Контроль (положительный контроль, NTC)	Контроль действителен	Н/П
Недействительный*	Контроль (положительный контроль, NTC)	Контроль недействителен (значение CT выходит за пределы заданного допустимого диапазона)	Повторите весь цикл (т.е. все четыре реакционные смеси с EGFR, все образцы)
Обнаружена мутация EGFR**	Тестируемый образец	Была обнаружена по крайней мере одна мутация EGFR†	Н/П
Мутация не обнаружена**	Тестируемый образец	Мутации EGFR обнаружено не было	Н/П
Недействительный (связано с флажком ASSAY_IC_BELOW_ACCEPTED_RANGE)& (Значение Ct ниже допустимого уровня)	Тестируемый образец	Обнаруженное значение CT находится ниже допустимого диапазона для внутреннего	Разбавьте образец перед повторным анализом. Повторно протестируйте соответствующий образец (образцы) со всеми четырьмя

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

		контроля. Ввод ДНК может быть слишком высоким.	реакционными смесями EGFR в новом цикле кПЦР.
Недействительный (связано с флажком ASSAY_IC_ABOVE_AC CEPTED_RANGE)& (Значение Ct выше допустимого уровня)	Тестируемы й образец	Обнаруженное значение СТ превышает допустимый диапазон для внутреннего контроля. Образец может содержать недостаточно амплифицируемой ДНК или может содержать ингибитор.	Повторно протестируйте образец (образцы) со всеми четырьмя реакционными смесями EGFR в новом цикле кПЦР. Если образец уже был повторно протестирован ранее, повторите этап извлечения и повторите тестирование в новом прогоне кПЦР. Если есть подозрение на наличие ингибитора, попробуйте разбавить образец перед повторным тестированием (только для плазмы). Для получения дополнительной информации обратитесь к таблице 6 на стр. 63.

Продолжение таблицы на следующей странице

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Продолжение таблицы с предыдущей страницы

Таблица 5. Общие результаты образца и действия (продолжение)

Общий результат образца	Тип образца	Описание	Действие
Недействительный (связано с флагом ASSAY_IC_NO_CT_VALUE) &	Тестируемый образец	Сигнал для системы внутреннего контроля не обнаружен.	Повторно протестируйте соответствующий образец (образцы) со всеми четырьмя реакционными смесями EGFR в новом цикле кПЦР.
Недействительный (другое)	Тестируемый образец	Недействительный из-за аномалии кривой или по другой причине (см. таблицу 6, стр. 63)	Если образец уже был повторно протестирован ранее, повторите этап извлечения и повторите тестирование в новом цикле кПЦР. Если есть подозрение на наличие ингибитора, попробуйте разбавить образец перед повторным тестированием (только для плазмы).

*Если для контролей были получены результаты «Недействительно», недопустимые значения СТ отображаются в квадратных скобках для информации.

** Для мутаций, входящих в набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR (перечислены в таблице 1)

† Для идентификации обнаруженной мутации (мутаций) EGFR обратитесь к мишеням Δ Ct (например, T790M_ Δ Ct), столбец результатов (например, обнаружен T790M). Для получения результатов полуколичественного определения (количество копий сДНК на миллилитр плазмы) обратитесь к мишеням X_CN_LL и X_CN_UL (где X = название мутации), значение в столбце, чтобы получить нижнюю и верхнюю границы интервала полуколичественного определения.

Примечание: & ASSAY означает T790M_L861Q / INSERTIONS_G719X / L858R_C797S / DELETIONS_768I

Флажки

Результаты «Недействительно», маркированные флажками, отображены в столбце **Флажки** отчета Rotor-Gene AssayManager.

Флажки «Недействительно» для образца, которые могут быть присвоены образцу или мишени во время анализа с помощью Rotor-Gene AssayManager v2.1, определены в таблице 6. Для получения информации об универсальных флажках, включенных в подключаемый модуль Gamma, обратитесь к руководству пользователя подключаемого модуля Gamma Rotor-Gene AssayManager v2.1.

Таблица 6. Определение флажков

Флажок	Описание
--------	----------

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

ANALYSIS_FAILED	Для анализа установлен флажок «Недействительно», поскольку анализ не был пройден. Обратитесь в техническую службу QIAGEN
ASSAY_INVALID	Образец «недействителен», поскольку по крайней мере один результат по внешнему контролю был получен как «Недействительно».
CONSECUTIVE_FAULT	Мишень, которая использовалась для вычисления данной мишени, является «недействительной».
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Кривая амплификации исходных данных показывает форму, которая отличается от установленного поведения для данного анализа. Существует высокая вероятность получения неверных результатов или их неверной интерпретации.
FLAT_BUMP	Кривая амплификации показывает форму, похожую на плоскую выпуклость, отклоняющуюся от установленного поведения для этого анализа. Существует высокая вероятность получения неправильных результатов или их неверной интерпретации (например, неправильное определение значения Ct).
LOW_FLUORESCENCE_CHANGE	Процент изменения флуоресценции для данного образца по сравнению с пробиркой для образцов с наибольшим изменением флуоресценции ниже определенного предела.
MULTIPLE_THRESHOLD_CROSSING	Кривая амплификации пересекает пороговое значение более одного раза. Однозначный Ct не может быть определен.
TARGET_NTC_UNEXPECTED_CT_VALUE*	В контроле без матрицы был обнаружен недопустимый сигнал
OTHER_TARGET_INVALID	Другая мишень для того же образца выдала результат «недействительно».
ASSAY_IC_PC_BELOW_ACCEPTED_RANGE& ASSAY_IC_PC_ABOVE_ACCEPTED_RANGE&	Обнаруженное значение Ct находится за пределами допустимого диапазона для внутреннего контроля в пробирке положительного контроля.
ASSAY_IC_PC_NO_CT_VALUE&	Сигнал для внутреннего контроля в пробирке положительного контроля не обнаружен.
TARGET_PC_BELOW_ACCEPTED_RANGE ** TARGET_PC_ABOVE_ACCEPTED_RANGE **	Обнаруженное значение Ct находится за пределами допустимого диапазона для анализа мутации в пробирке с положительным контролем.

Таблица 6. Определение флажков (продолжение)

Флажок	Описание
TARGET_PC_NO_CT_VALUE **	Сигнал для канала мишени в пробирке положительного контроля не обнаружен.
RUN_FAILED	Недействительный анализ признан как «Недействительный» из-за проблемы с блоком управления циклами или подключением к блоку.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

RUN_STOPPED	Недействительный анализ признан как «Недействительный», поскольку прогон был остановлен вручную.
ASSAY_IC_BELOW_ACCEPTED_RANGE*	Обнаруженное значение Ct находится ниже допустимого диапазона для внутреннего контроля в тестируемом образце. Ввод ДНК может быть слишком высоким: разбавьте образец перед повторным тестированием.
ASSAY_IC_NO_CT_VALUE*	В тестируемом образце не обнаружено сигнала для внутреннего контроля.
ASSAY_IC_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Обнаруженное значение Ct превышает допустимый диапазон для внутреннего контроля в тестируемом образце. Образец может содержать недостаточно амплифицируемой ДНК или может содержать ингибитор.
SATURATION	Флуоресценция исходных данных сильно насыщается перед точкой изгиба кривой амплификации.
SPIKE	Всплеск флуоресценции исходных данных обнаруживается на кривой амплификации, но за пределами области, где определяется СТ.
SPIKE_CLOSE_TO_CT	На кривой амплификации, близкой к Ct, обнаруживается всплеск.
NO_BASELINE	Первоначальная исходная точка не была найдена. Последующий анализ не может быть выполнен
STEEP_BASELINE	На кривой амплификации обнаруживается резко возрастающая базовая линия для флуоресценции исходных данных.
STRONG_BASELINE_DIP	На кривой амплификации обнаружено сильное падение базовой линии для флуоресценции исходных данных.

Таблица 6. Определение флагов (продолжение)

Флажок	Описание
STRONG_NOISE	Обнаружен сильный шум за пределами фазы роста кривой амплификации.
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	Сильный шум обнаруживается в фазе роста (экспоненциальной) кривой амплификации.
TARGET_aCT_UNEXPECTED_EARLY_CT**	Обнаруженное значение ΔСТ ниже, чем ожидалось для тестируемого образца целевой мутантной реакционной смеси
TARGET_CT_UNEXPECTED_EARLY_CT**	Обнаруженное значение СТ ниже, чем ожидалось для тестируемого образца целевой мутантной реакционной смеси
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	Волнистая базовая линия для флуоресценции исходных данных, обнаруженной на кривой амплификации.

* TARGET/МИШЕНЬ означает T790M, L861Q, T790M_L861Q_IC, ИНСЕРЦИИ, G719X, INSERTIONS_G719X_IC, L858R, C797S, L858R_C797S_IC, ДЕЛЕЦИИ, S768I, ДЕЛЕЦИИ_S768I_IC

** TARGET/МИШЕНЬ означает T790M, L861Q, ИНСЕРЦИИ, G719X, L858R, C797S, ДЕЛЕЦИИ, S768I,

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

- Повторно извлеките ваш образец FFPE с дополнительными срезами перед повторным тестированием.
- Повторно извлеките образец FFPE, выбрав зону опухоли большего размера перед повторным тестированием.
- Пожалуйста, обратите внимание, что все характеристики были установлены с использованием ДНК, экстрагированной из FFPE в дозе 5 нг/мкл и/или 5 мкл чистой сцДНК, экстрагированной из плазмы.

Для получения других разъяснений относительно недействительного результата образца, пожалуйста, обратитесь к «Руководству по устранению неполадок» на странице 95.

Ограничения

Результаты, полученные с продуктом, должны интерпретироваться в контексте всех соответствующих клинических и лабораторных данных и не должны использоваться отдельно для постановки диагноза.

Продукт предназначен для использования специалистами лаборатории, прошедшими подготовку в области молекулярной биологии, диагностики *in vitro* и обученными использованию системы QIASymphony SP, прибора RotorGene Q MDx 5Plex HRM, Rotor-Gene AssayManager и подключаемого модуля Gamma.

Продукт предназначен для использования только с блоком управления циклами ПЦР в реальном времени Rotor-Gene Q MDx серии 5plex HRM в сочетании с программным обеспечением Rotor-Gene AssayManager и плагином Gamma, использующим специальные профили анализа *therascreen* EGFR Plus.

Мы рекомендуем использовать раствор для депарафинизации (включая обработку РНКазой А), наборы QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit, QIAamp DSP Circulating Nucleic Acid Kit, QIASymphony DSP DNA Mini Kit, и QIASymphony DSP Circulating DNA Kit.

Для достижения оптимальных результатов требуется строгое соблюдение инструкций по применению набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR. Разбавление реагентов, отличное от описанного в данном руководстве, не рекомендуется и приведет к снижению производительности. Все реагенты, входящие в набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR, предназначены для использования исключительно с реагентами, входящими в тот же набор.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Использование реагентов из разных партий наборов в рамках одного цикла может повлиять на производительность.

Важно, чтобы количество гДНК в образце FFPE было оценено до проведения анализа образца с набором *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR. Процедуру извлечения следует повторить, если количество гДНК недостаточно для анализа мутаций. гДНК следует разбавить, если концентрация слишком высока для анализа мутаций.

Следует обратить внимание на сроки годности и условия хранения, указанные на упаковке и этикетках всех компонентов. Не используйте компоненты с истекшим сроком годности или неправильно хранящиеся.

Набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR одобрен только для плазмы, собранной в 2K EDTA и FFPE у пациентов с НМРЛ.

Любое использование данного продукта не по назначению и/или модификация компонентов приведет к аннулированию ответственности QIAGEN.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Эксплуатационные характеристики

Предел бланка

Предел бланка (LOB) определяли с использованием 77 образцов FFPE с EGFR дикого типа при НМРЛ и 75 образцов плазмы здорового донора (не менее 60 измерений на партию реагента, использовалось 3 партии набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR). Значение **LOB** определяли для каждого данного анализа как наименьшее полученное значение **LOB**. Результаты **LOB** обобщены в таблице 7.

Таблица 7. Краткое описание результатов пределов бланка для набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR

Мишень EGFR	Предел бланка для FFPE (ΔCt)	Предел бланка для плазмы (ΔCt)
T790M	11.49	40.23
L861Q	15.31	35.54
Инсерции	11.32	38.42
G719X	14.47	45.00
L858R	10.52	37.54
C797S	15.06	45.00
Делеции	14.15	45.00
S768I	14.64	45.00

Частота ложноположительных результатов составляет менее 1% для всех мишеней EGFR, за исключением L858R в FFPE (1,2%) и для инсерций в образцах плазмы (1,08%).

Предел обнаружения

Предел обнаружения (LOD) каждой из 42 мутаций EGFR определяли на образцах FFPE с низким уровнем EGFR и плазмы крови (использовали 3 партии набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR). Результаты **LOD** обобщены в таблице 8.

Таблица 8. Краткое описание результатов предельного обнаружения для набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR

Экзон	Мутация	Идентификатор COSMIC	Базовое изменение	FFPE Процентное значение мутации	Плазма Количество копий на мл
18	G719A	6239	c.2156G>C	5.09%	794
	G719S	6252	c.2155G>A	35.00%	149
	G719C	6253	c.2155G>T	1.10%	161
19	Делеции	26038	c.2233_2247del15	2.02%	100

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

	13550	c.2235_2248>AATT C	0.61%	75
	6223	c.2235_2249del15	0.54%	75
	6225	c.2236_2250del15	0.74%	75
	18427	c.2237_2257>TCT	1.00%	75
	6220	c.2238_2255del18	0.22%	75
	12367	c.2237_2254del18	0.80%	75
	12384	c.2237_2255>T	0.36%	75
	12678	c.2237_2251del15	0.25%	75
	13551	c.2235_2252>AAT	0.65%	75
	13552	c.2235_2251>AATT C	1.00%	75
	12386	c.2237_2252>T	0.78%	75

Таблица 8. Краткое описание результатов предельного обнаружения для набора theascreen EGFR Plus RGQ PCR (продолжение)

Экзон	Мутация	Идентификатор COSMIC	Базовое изменение	FFPE Процентное значение мутации	Плазма Количество копий на мл
19	Делеции	12416	c.2237_2253>TTGCT	0.60%	75
		12728	c.2236_2253del18	0.79%	75
		12422	c.2238_2248>GC	0.79%	100
		12382	c.2239_2248TTAAGAG AAG>C	2.99%	589
		6218	c.2239_2247delTTAAG AGAA	35.00%	1100
		12387	c.2239_2258>CA	0.93%	75
		12370	c.2240_2257del18	0.77%	75
		12403	c.2239_2256>CAA	0.92%	75
		6255	c.2239_2256del18	0.16%	75
		12383	c.2239_2251>C	0.72%	75
		12419	c.2238_2252>GCA	0.40%	75
		6210	c.2240_2251del12	0.92%	75
		23571	c.2238_2252del15	1.10%	75
		12369	c.2240_2254del15	0.78%	75
		13556	c.2253_2276del24	0.89%	75

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

12385	c.2235_2255>AAT	0.71%	75
-------	-----------------	-------	----

Таблица 8. Краткое описание предельных результатов обнаружения для набора *therascreen EGFR Plus RGQ PCR* (продолжение)

Экзон	Мутация	Идентификатор COSMIC	Базовое изменение	FFPE Процентное значение мутации	Плазма Количество копий на мл
20	S768I	6241	c.2303G>T	0.69%	167
	Инсерции	12376	c.2307_2308insGCCAGCGTG	0.76%	150
		12378	c.2310_2311insGGT	3.04%	131
		12377	c.2319_2320insCAC	0.64%	51
		13428	c.2311_2312insGCGTGGACA	0.76%	100
		13558	c.2309_2310AC>CCAGCGTGGAT	0.89%	100
	T790M	6240	c.2369C>T	1.80%	174
	C797Sa	6493937	c.2389T>A	1.11%	126
	C797Sb	5945664	c.2390G>C	0.62%	125
21	L858R	6224	c.2573T>G	0.75%	150
	L861Q	6213	c.2582T>A	0.65%	43

Ввод ДНК

Оптимизированный ввод гДНК для использования в сочетании с набором *therascreen EGFR Plus RGQ PCR* оценивали на образцах FFPE, положительных по EGFR, для 9 мишеней EGFR (T790M, L861Q, G719A, G719C, G719S, L858R, C797Sa, C797Sb и S768I) (3 различных ввода гДНК, 10 измерений на входной образец, использовался 1 набор *therascreen EGFR Plus RGQ PCR*). Результаты показали, что оптимизированный входной сигнал для использования составляет 25 нг (5 нг/мкл).

Оптимизированный ввод сДНК для использования в комбинации с набором *therascreen EGFR Plus RGQ PCR* не оценивался на образцах плазмы.

Повторяемость

Повторяемость определяли на одном положительном по EGFR и одном отрицательном образцах FFPE и плазмы. Для каждого анализа EGFR повторяемость оценивали по данной мутации EGFR, тестировали на 2 уровнях мутации (средний и низкий). Каждый уровень тестировали в двух экземплярах по меньшей мере в 43 прогонах, выполненных в течение 20 дней, с минимум 78 измерениями на уровень мутации и на анализ (использовались 3 прибора

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, 3 оператора, 3 партии наборов *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR). Количественный анализ результатов повторяемости обобщен в таблице 9 для образцов FFPE и в таблице 10 для образцов плазмы.

Таблица 9. Краткое описание результатов повторяемости набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR для образцов FFPE

Смесь EGFR Plus	Мишень EGFR Plus	Измеренный уровень мутации	Между операторами		Между приборами		Между наборами		Между днями		Между прогонами		В пределах прогона		Всего	
			SD*	CV**	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
T790M_L861Q	T790M	низкий	0.04	0.51	0.11	1.31	0.00	0.00	0.00	0.00	0.34	4.13	0.17	2.08	0.4	4.84
		средний	0.05	1.03	0.14	2.63	0.00	0	0.00	0.00	0.34	6.41	0.18	3.43	0.41	7.8
	L861Q	низкий	0.00	0.00	0.36	8.14	0.00	0.00	0.00	0	0.34	7.63	0.26	5.9	0.56	12.62
		средний	0.00	0.00	0.23	11.27	0.03	1.27	0.00	0	0.35	16.92	0.21	10.02	0.47	22.7
	Дикий тип	Н/П	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	0.81	0.00	0	0.4	1.59	0.11	0.45	0.46	1.84
Ins_G719X	Инсерции	низкий	0.15	3.10	0.23	4.55	0.30	6.00	0.00	0	0.64	12.93	0.35	6.97	0.83	16.79
		средний	0.00	0.00	0.23	11.95	0.21	10.79	0.29	15.29	0.49	25.23	0.17	8.59	0.67	34.69
	G719X	низкий	0.00	0.00	0.52	9.14	0.48	8.49	0.55	9.7	0.78	13.78	0.27	4.74	1.21	21.5
		средний	0.00	0.00	0.49	13.33	0.48	12.82	0.52	14.06	0.63	17.02	0.33	8.84	1.12	30.13
	Дикий тип	Н/П	0.00	0.00	0.27	1.05	0.28	1.12	0.21	0.81	0.72	2.83	0.18	2.83	0.86	3.39
L858R_C797S	L858R	низкий	0.00	0.00	0.41	5.76	0.21	2.93	0.43	6.02	0.23	3.25	0.41	5.74	0.79	11.03
		средний	0.16	3.40	0.38	8.28	0.00	0.00	0.45	9.72	0.24	5.32	0.38	8.29	0.76	16.48
	C797S	низкий	0.00	0.00	0.52	9.13	0.24	4.19	0.00	0	0.22	3.82	0.31	5.35	0.69	12
		средний	0.00	0.00	0.35	11.31	0.29	9.23	0.26	8.5	0.36	11.72	0.21	6.69	0.67	21.62
	Дикий тип	Н/П	0.20	0.79	0.29	1.11	0.15	0.59	0.44	1.72	0.4	1.58	0.21	0.83	0.74	2.92
Del_S768I	Делеции	низкий	0.17	3.10	0.16	2.85	0.00	0.00	0.00	0	0.39	6.95	0.24	4.41	0.51	9.25
		средний	0.20	5.91	0.24	7.14	0.00	0.00	0.00	0	0.42	12.64	0.15	4.53	0.54	16.31
	S768I	низкий	0.06	0.74	0.35	4.43	0.35	4.43	0.18	2.32	0.42	5.36	0.25	3.2	0.72	9.18
		средний	0.15	2.58	0.27	4.64	0.34	5.82	0.32	5.38	0.31	5.25	0.24	4.17	0.68	11.66
	Дикий тип	Н/П	0.00	0.00	0.14	0.56	0.28	1.12	0.26	1.02	0.32	1.26	0.15	0.61	0.54	2.13

*SD: стандартное отклонение

** %CV: коэффициент вариации

Таблица 10. Краткое описание результатов повторяемости набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR для образцов плазмы

Смесь EGFR Plus	Мишень EGFR Plus	Измеренный уровень мутации	Между операторами		Между приборами		Между наборами		Между днями		Между прогонами		В пределах прогона		Всего	
			SD*	%CV**	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

T790M_L861Q	T790M	низкий	0.1	0.28	0	0	0.16	0.46	0	0	0.29	0.8	0.45	1.27	0.57	1.6
		средний	0.16	0.49	0	0	0.12	0.36	0	0	0.26	0.79	0.24	0.73	0.41	1.23
	L861Q	низкий	0.24	0.76	0.3	0.96	0.2	0.63	0.38	1.23	0.33	1.06	0.29	0.94	0.72	2.33
		средний	0.14	0.49	0.27	0.93	0.18	0.63	0.18	0.63	0.34	1.18	0.18	0.63	0.55	1.93
Ins_G719X	Инсерции	Н/П	0.22	0.84	0.11	0.41	0.32	1.22	0	0	0.42	1.63	0.15	0.57	0.6	2.31
		Дикий тип														
	G71 9X	низкий	0.15	0.48	0.08	0.26	0.14	0.46	0.05	0.15	0.1	0.32	0.31	0.99	0.4	1.27
		средний	0.13	0.43	0	0	0.06	0.22	0.1	0.35	0	0	0.16	0.55	0.24	0.81
		Дикий тип														
L858R_C797S	L858R	низкий	0.53	1.84	0.2	0.71	0.14	0.47	0.52	1.8	0.68	2.35	0.15	0.51	1.05	3.62
		средний	0.13	0.47	0.21	0.76	0.39	1.42	0	0	0.57	2.05	0.13	0.47	0.75	2.69
	C797S	низкий	0.33	1.24	0.1	0.4	0.25	0.97	0	0	0.43	1.63	0.16	0.6	0.63	2.31
		средний														
	Дикий тип	Н/П	0		0.31	1.06	0.31	1.08	0.08	0.28	0.28	0.97	0.23	0.8	0.57	1.99
Del_S768I	Делеции	низкий	0.19	0.56	0	0	0.1	0.3	0.28	0.82	0.33	1	0.3	0.89	0.57	1.7
		средний	0.17	0.55	0	0	0.09	0.3	0.22	0.71	0.3	0.96	0.18	0.57	0.45	1.47
	S768I	низкий	0.12	0.39	0.32	1.01	0.26	0.82	0.14	0.46	0.11	0.36	0.28	0.89	0.54	1.72
		средний	0.09	0.3	0.28	0.98	0.2	0.7	0	0	0.24	0.83	0.12	0.41	0.45	1.55
	Дикий тип	Н/П	0		0.31	1.06	0.31	1.08	0.08	0.28	0.28	0.97	0.23	0.8	0.57	1.99
Del_S768I	Делеции	низкий	0.66	1.99	0	0	0	0	0.18	0.54	0.84	2.52	0.28	0.84	1.12	3.36
		средний	0.46	1.5	0	0	0	0	0	0	0.66	2.16	0.28	0.9	0.85	2.78
	S768I	низкий	0.53	1.66	0.16	0.49	0.33	1.04	0.34	1.06	0.66	2.07	0.14	0.44	0.99	3.11
		средний	0.14	0.45	0.24	0.78	0.25	0.81	0.24	0.77	0.35	1.13	0.12	0.39	0.57	1.87
	Дикий тип	Н/П	0.47	1.8	0.2	0.78	0.26	1.08	0	0	0.45	1.71	0.14	0.52	0.74	2.83

*SD: стандартное отклонение

** %CV: коэффициент вариации

Был проведен качественный анализ результатов повторяемости FFPE и плазмы, который показал, что частота выявления мутаций EGFR не зависит от партии набора для анализа, прибора Rotor-Gene Q и оператора.

Воспроизводимость

Воспроизводимость определяли на одном положительном EGFR и одном отрицательном FFPE образцах и плазме. Для каждого анализа EGFR повторяемость оценивали по данной мутации EGFR, тестировали на 2 уровнях мутации (средний и низкий). Каждый уровень тестировали в 5 повторениях по меньшей мере в 75 прогонах (25 прогонов на учксток), выполненных в течение как минимум 5 дней, с минимум 70 измерениями на уровень мутации и на анализ (3 участка, один прибор Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM на участок, один оператор на участок, один набор *therascreen EGFR Plus RGQ PCR*). Результаты количественного анализа воспроизводимости приведены в таблице 11 для образцов FFPE и в таблице 12 для образцов плазмы.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Таблица 11. Краткое описание результатов воспроизводимости набора theascreen EGFR Plus RGQ PCR для образцов FFPE

Смесь EGFR Plus	Мишень EGFR Plus	Измеренный уровень мутации	В пределах прогона		Между днями		Между участками		Всего	
			SD	CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
T790M_L861Q	T790M	низкий	0.23	2.7	0.48	5.48	0.12	1.38	0.54	6.26
		средний	0.19	3.42	0.44	7.95	0.13	2.29	0.5	8.95
	L861Q	низкий	0.22	4.85	0.7	15.48	0.31	6.81	0.79	17.59
		средний	0.21	8.7	0.66	27.6	0	0	0.69	28.93
	Дикий тип	Н/П	0.14	0.55	0.62	2.46	0.38	1.53	0.74	2.95
Ins_G719X	Инсерции	низкий	0.28	5.29	0.21	4.02	0	0	0.35	6.64
		средний	0.15	7.11	0.15	6.87	0.09	3.99	0.23	10.66
	G719X	низкий	0.25	4	0.2	3.14	0.29	4.56	0.43	6.83
		средний	0.18	4.18	0.22	5.11	0.26	6.01	0.39	8.92
	Дикий тип	Н/П	0.14	0.54	0.14	0.54	0.15	0.61	0.25	0.97
L858R_C797S	L858R	низкий	0.27	3.4	0.15	1.92	0.33	4.11	0.45	5.67
		средний	0.22	4.23	0.15	2.92	0.31	5.96	0.42	7.87
	C797S	низкий	0.3	4.97	0.12	2.07	0.12	1.93	0.35	5.72
		средний	0.19	5.23	0.16	4.52	0.2	5.59	0.32	8.89
	Дикий тип	Н/П	0.12	0.46	0.21	0.82	0.05	0.18	0.24	0.96
Del_S768I	Делеции	низкий	0.24	4.16	0.24	4.16	0.19	3.33	0.37	6.53
		средний	0.15	4.43	0.11	3.12	0.16	4.65	0.25	7.14
	S768I	низкий	0.26	3.29	0.2	2.54	0.14	1.85	0.35	4.55
		средний	0.21	3.66	0.28	4.76	0.13	2.25	0.37	6.41
	Дикий тип	Н/П	0.12	0.49	0.11	0.45	0.26	1.02	0.31	1.22

*SD: стандартное отклонение

** %CV: коэффициент вариации

Таблица 12. Краткое описание результатов воспроизводимости набора theascreen EGFR Plus RGQ PCR для образцов плазмы

Смесь EGFR Plus	Мишень EGFR Plus	Измеренный уровень мутации	В пределах прогона		Между днями		Между участками		Всего	
			SD*	%CV**	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
T790M_L861Q	T790M	низкий	0.34	0.93	0.26	0.73	0.14	0.4	0.45	1.25
		средний	0.2	0.58	0.22	0.66	0.24	0.73	0.38	1.14
	L861Q	низкий	0.35	1.11	0.19	0.6	0.17	0.55	0.43	1.37
		средний	0.19	0.65	0.16	0.56	0.23	0.81	0.34	1.18
	Дикий тип	Н/П	0.18	0.67	0.86	3.28	0.47	1.8	1	3.8
Ins_G719X	Инсерции	низкий	0.29	0.93	0	0	0	0	0.3	0.94
		средний	0.19	0.65	0	0	0	0	0.2	0.67
	G719X	низкий	0.39	1.3	0.64	2.15	0.85	2.86	1.13	3.81

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

		средний	0.24	0.87	0.33	1.19	0.25	0.9	0.48	1.72
	Дикий тип	Н/П	0.19	0.72	0.21	0.82	0.16	0.63	0.33	1.26
L858R_C797S	L858R	низкий	0.37	1.1	0.35	1.04	0.47	1.38	0.69	2.05
		средний	0.17	0.55	0.35	1.12	0.48	1.54	0.62	1.98
	C797S	низкий	0.29	0.94	0.23	0.74	0.31	0.98	0.48	1.54
		средний	0.2	0.68	0.18	0.63	0.35	1.22	0.44	1.53
	Дикий тип	Н/П	0.3	1.04	0.38	1.31	0.34	1.18	0.59	2.05
Del_S768I	Делеции	низкий	0.3	0.91	0.38	1.16	0.54	1.62	0.73	2.19
		средний	0.21	0.69	0.32	1.04	0.52	1.7	0.65	2.11
	S768I	низкий	0.17	0.53	0.27	0.84	0.39	1.21	0.5	1.57
		средний	0.2	0.66	0.17	0.56	0.28	0.92	0.39	1.26
	Дикий тип	Н/П	0.17	0.65	0.19	0.71	0.3	1.13	0.39	1.49

SD: стандартное отклонение

* %CV: коэффициент вариации

Был проведен качественный анализ результатов воспроизводимости для образцов FFPE и плазмы, который показал, что частота выявления мутации EGFR не зависит от участка.

Интерферирующие вещества

В общей сложности 36 потенциальных интерферирующих веществ были протестированы на 2 положительных EGFR и одном отрицательном EGFR образцах FFPE и плазмы (таблица 13). Эндогенные потенциальные интерференты и экзогенные вещества, которые могут быть обнаружены в образце до получения ДНК, были смешаны с образцами на клинически значимом максимальном уровне. Экзогенные потенциальные интерферирующие вещества, возникающие в результате технологических процессов подготовки ДНК, были смешаны с извлеченной ДНК на уровне, рассчитанном для симуляции наихудшего случая. Каждый образец (контрольный и смешанный с потенциальными интерферирующими веществами) тестировали в 6 повторах, в результате чего в общей сложности был проведен 51 прогон (использовалась 1 партия набора theascreen EGFR Plus RGQ PCR). Количественный анализ не показал какого-либо интерферирующего воздействия тестируемых веществ.

Таблица 13. Потенциальные интерферирующие вещества, протестированные на образцах FFPE

Тестируемое вещество	Протестированная концентрация
Формалин 4-10%	4.10E-05%
Парафиновый воск	4.10E-05%

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Раствор для депарафинизации	4.10E-05%
ATL (буфер для лизиса QIAamp FFPE)	1.30E-05%
Протеиназа К	4.00E-05%
РНКаза А	1.99E-07%
Буфер AL (QIAamp FFPE Lysis Buffer)	1.99E-03%
Этанол 96-100%	1.99E-03%
AW1 (промывочный буфер QIAamp FFPE)	1.00E-01%
AW2 (промывочный буфер QIAamp FFPE)	1.00E+00%
QSB1 (буфер QIASymphony FFPE)	4.19E-07%
MBS (раствор для магнитных шариков QIASymphony FFPE)	6.15E-09%
QSW1 (промывочный буфер QIASymphony FFPE)	8.80E-04%
QSW2 (промывочный буфер QIASymphony FFPE)	8.80E-02%
AVE (Буфер для элюирования QIASymphony FFPE)	5.00E+00%
ATE (Буфер для элюирования QIAamp FFPE Tissue)	5.00E+00%

Таблица 14. Потенциальные интерферирующие вещества, протестированные на образцах плазмы

Тестируемое вещество	Протестированная концентрация
Буфер ACL (QIAamp Plasma Lysis Buffer)	5.77E-05%
Буфер ACB (QIAAMP Plasma Buffer)	2.92E-04%
Буфер ACW1 (QIAamp Plasma Wash Buffer)	1.00E-03%
Буфер ACW2 (QIAamp Plasma Wash Buffer)	1.25E-02%
Этанол 96-100%	1.25E-01%
Buffer AVE (QIAamp Plasma Elution Buffer)	5.00E+00%
MBS3 (раствор для магнитных шариков QIASymphony Plasma)	3.48E-05%
Протеиназа К	7.49E-05%
Буфер QSB4 (QIASymphony Plasma Buffer)	5.57E-04%
Буфер QSW8 (QIASymphony Plasma Buffer)	1.11E-01%
Буфер QSW9 (QIASymphony Plasma Buffer)	4.62E-01%
Буфер QSW10 (QIASymphony Plasma Buffer)	5.00E+00%
Буфер QSE1 /QSE2 (буфер для элюирования QIASymphony Plasma)	5.00E+00%
Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА)	3.39E+00 мкмоль/л
Неконъюгированный билирубин	684 мкмоль/л
Конъюгированный билирубин	475 мкмоль/л

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Гемоглобин	10 г/л
Триглицериды	16.94 ммоль/л
Ксилол	684 мкмоль/л
Хлороформ	5.00E+00%

Специфичность и перекрестная реактивность

Специфичность и перекрестную реактивность набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR оценивали путем тестирования способности набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR обнаруживать и правильно идентифицировать (когда применимо) мутацию EGFR, представленную в таблице 1. Для образцов FFPE исследование было проведено на всех мишенях мутаций EGFR. Специфичность для образцов плазмы оценивали по мутациям-мишеням C797Sa и C797Sb. Все образцы тестировали в однократно на партию набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR, использовали 3 партии набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR. Исследование показало, что все мутации-мишени были обнаружены с помощью ожидаемого анализа EGFR, и никакого сигнала не наблюдалось при других анализах.

Обнаружение с набором *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR нецелевой редкой мутации L858Q также оценивали путем тестирования образцов FFPE и плазмы. Это исследование показало, что мутация L858Q не обнаруживается с помощью C797S и может быть обнаружена с помощью анализа L858R при высоком проценте мутаций (FFPE) и высоком количестве копий (плазма).

Перекрестное загрязнение и перенос

Перекрестную контаминацию 4 рабочих процессов EGFR Plus, т.е. с использованием 4 методов получения ДНК, оценивали при различных условиях чередования положительных и отрицательных образцов EGFR. Было выполнено по меньшей мере 3 прогона для каждого рабочего процесса EGFR Plus (для каждого рабочего процесса использовалась 1 партия набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR), и ни в одном из 4 рабочих процессов перекрестное заражение не наблюдалось.

В ходе оценки перекрестного загрязнения была проведена оценка переноса четырех рабочих процессов EGFR Plus, которая не выявила переноса между прогонами.

Используемые временные рамки

Максимальный промежуток времени между подготовкой кПЦР-планшета и запуском кПЦР-прогона определяли для каждого анализа EGFR на

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

определенную мутацию EGFR, протестированную на одном низком уровне мутации (один прибор Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, 1 оператор, 1 партия набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR). 8 различных положительных образцов FFPE были протестированы сразу после подготовки планшета кПЦР и через 3 часа, 6 часов и 24 часа хранения при температуре +2°C/+8°C. Максимально допустимый срок составляет 24 часа; однако рекомендуется запустить кПЦР-тест *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR Kit как можно скорее после подготовки планшета (т.е. после загрузки всех образцов для тестирования).

Клинические показатели

Точность: сравнение с аналитическим эталонным методом

Исследование продемонстрировало высокий уровень согласованности между набором *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR и методом(-ами) аналитической точности (использованные методы сравнения и устранения несоответствий: PNA кПЦР – ин Карачалиу и др., 2015 и Майо-де-лас-Касас и др., 2017; двунаправленное секвенирование по Сэнгеру; Секвенирование следующего поколения, набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR V2, CE (Кат. № 874111) и набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR, CE (Кат. № 870311).

Результаты были проанализированы для оценки процентного показателя совпадений по положительному результату (PPA), процентного показателя совпадений по отрицательному результату (NPA) и общего процентного показателя совпадения (OPA) в отношении статуса мутации EGFR (MT или WT) и результата для мишени EGFR (идентификация мутации) для образцов FFPE и плазмы между набором *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR и соответствующим эталонным методом, и последующим методом устранения несоответствий.

В ходе исследования было протестировано 170 образцов FFPE, и 148 дали достоверные интерпретируемые результаты (статус 148 образцов и статус 155 мишеней).

Когда результаты набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR сравнили с результатами соответствующего референтного метода, статус 4 образцов EGFR (MT или WT) показал несоответствие. После анализа методом устранения несоответствий количество несоответствующих статусов образцов (MT или WT) уменьшилось до одного несоответствующего, ложноотрицательного статуса образца. Значения PPA, NPA и OPA с

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

соответствующими двусторонними 95% доверительными интервалами (CI) приведены в таблице 15 и таблице 16.

Таблица 15. Анализ совпадений общего статуса мутации для каждого образца - набор thetascreen EGFR Plus RGQ PCR и сравнение эталонных методов для образцов FFPE

		Нижний предельный 95% доверительный интервал	Верхний предельный 95% доверительный интервал
Общее процентное значение совпадений	97.30%	93.22%	99.26%
Процентный показатель совпадений по положительному результату (чувствительность)	93.65%	84.53%	98.24%
Процентный показатель совпадений по отрицательному результату (специфичность)	100.00%	95.75%	100,00%

Таблица 16. Анализ совпадений общего статуса мутации для каждого образца после исследования несоответствий образцов FFPE

		Нижний предельный 95% доверительный интервал	Верхний предельный 95% доверительный интервал
Общее процентное значение совпадений	99.32%	96.29%	99.98%
Процентный показатель совпадений по положительному результату (чувствительность)	98.33%	91.06%	99.96 %
Процентный показатель совпадений по отрицательному результату (специфичность)	100,00%	95.89%	100.00%

Когда результаты набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR сравнили с результатами соответствующего референтного метода, статус по 9 мишеням EGFR показал несоответствие (таблица 17). После анализа метода устранения несоответствий количество несоответствующих статусов уменьшилось до 3 несоответствующих, 2 ложноотрицательных и 1 ложноположительного статуса (таблица 18). Значения PPA, NPA и OPA с соответствующими двусторонними 95% доверительными интервалами (CI) приведены в таблице 19 и таблице 20.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Таблица 17. Подробный статус мутации FFPE для каждой мишени - сравнение набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR и эталонного метода

набор <i>therascreen</i> EGFR Plus RGQ PCR	Эталонный метод									
	WT	T790M	L861Q	Инсерции	G719X	L858R	C797S	Делеции	Ex21 MT	Всего
WT	85	1	-	-	2	-	-	2	1	91
T790M	2	2	-	-	-	-	-	-	-	4
L861Q	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
Инсерции	1	-	-	1	-	-	-	-	-	2
G719X	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
L858R	-	-	-	-	-	19	-	-	-	19
C797S	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Делеции	-	-	-	-	-	-	-	36	-	36
Ex21 MT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Всего	88	3	1	1	3	19	1	38	1	155

Таблица 18. Подробный статус мутации FFPE для каждой мишени после исследования несоответствия

набор <i>therascreen</i> EGFR Plus RGQ PCR	Эталонный метод разрешения несоответствий									
	WT	T790M	L861Q	Инсерции	G719X	L858R	C797S	Делеции	Ex21 MT	Всего
WT	89	-	-	-	2	-	-	-	-	91
T790M	-	4	-	-	-	-	-	-	-	4
L861Q	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
Инсерции	1	-	-	1	-	-	-	-	-	2
G719X	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
L858R	-	-	-	-	-	19	-	-	-	19
C797S	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Делеции	-	-	-	-	-	-	-	36	-	36
Ex21 MT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Всего	90	4	1	1	3	19	1	36	-	155

Таблица 19. Анализ соответствия общего статуса мутации для каждой мишени набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR и сравнение эталонных методов для образцов FFPE

		Нижний предельный 95% доверительный интервал	Верхний предельный 95% доверительный интервал
Общее процентное значение совпадений	94.19%	89.26%	97.31%
Процентный показатель совпадений по положительному результату (чувствительность)	91.04%	81.52%	96.64%

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗПК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Процентный совпадений отрицательному (специфичность)	показатель по результату	96.59%	90.36%	99.29%
---	--------------------------------	--------	--------	--------

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Таблица 20. Анализ соответствия общего статуса мутации для каждой мишени после исследования на несоответствие образцов FFPE

		Нижний предельный 95% доверительный интервал	Верхний предельный 95% доверительный интервал
Общее процентное значение совпадений	98.06%	94.44%	99.60%
Процентный показатель совпадений по положительному результату (чувствительность)	96.92%	89.32%	99.62%
Процентный показатель совпадений по отрицательному результату (специфичность)	98.89%	93.96%	99.97%

В ходе исследования было протестировано 106 образцов плазмы, и 106 дали достоверные интерпретируемые результаты (статус 106 образцов и статус 121 мишени).

Когда результаты набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR сравнили с результатами соответствующего референтного метода, статус 9 образцов EGFR (MT или WT) показал несоответствие. После анализа методом устранения несоответствий количество несоответствующих статусов образцов (MT или WT) уменьшилось до 3 несоответствующих, 1 ложноотрицательного и 2 ложноположительных статусов образцов. Значения PPA, NPA и OPA с соответствующими двусторонними 95% доверительными интервалами (CI) приведены в таблице 21 и таблице 22.

Таблица 21. Анализ соответствия общего статуса мутации для каждого образца - набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR и сравнение эталонных методов для образцов плазмы

		Нижний предельный 95% доверительный интервал	Верхний предельный 95% доверительный интервал
Общее процентное значение совпадений	91.51%	84.49%	96.04%
Процентный показатель совпадений по положительному результату (чувствительность)	87.27%	75.52%	94.73%
Процентный показатель совпадений по отрицательному результату (специфичность)	96.08%	86.54%	99.52%

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Таблица 22. Анализ соответствия общего статуса мутации для каждого образца после исследования на несоответствие образцов плазмы

		Нижний предельный 95% доверительный интервал	Верхний предельный 95% доверительный интервал
Общее процентное значение совпадений	97.17%	91.95%	99.41%
Процентный показатель совпадений по положительному результату (чувствительность)	97.96%	89.15%	99.95%
Процентный показатель совпадений по отрицательному результату (специфичность)	96.49%	89.89%	99.57%

Когда результаты набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR сравнили с результатами соответствующего эталонного метода, 18 статусов мишеней EGFR показали несоответствие (таблица 23). После анализа метода устранения несоответствий количество несоответствующих статусов уменьшилось до 5 несоответствующих, 3 ложноположительных и 2 ложноотрицательных целевых статуса (таблица 24). Значения РРА, NРА и ОРА с соответствующими двусторонними 95% доверительными интервалами (CI) приведены в таблице 25 и таблице 26.

Таблица 23. Подробный статус мутации в плазме для каждой мишени - сравнение набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR и эталонного метода

Набор <i>therascreen</i> EGFR Plus RGQ PCR \ Эталонный метод	Эталонный метод							Всего
	WT	T790M	L861Q	Инсерции	L858R	C797S	Делеции	
WT	49	6			6		1	62
T790M		8						8
L861Q			2					2
Инсерции				1				1
L858R					13			13
C797S								0
Делеции	4					1	30	35
Всего	53	14	2	1	19	1	31	121

Таблица 24. Подробный статус мутации в плазме для каждой мишени после исследования на несоответствие

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Эталонный метод разрешения несоответствий Набор <i>therascreen</i> EGFR Plus RGQ PCR	WT	T790M	L861Q	Инсерции	L858R	C797S	Делеции	Всего
WT	60	1			1			62
T790M		8						8
L861Q			2					2
Инсерции				1				1
L858R					13			13
C797S								0
Делеции	3						32	35
Всего	63	9	2	1	14	0	32	121

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Таблица 25. Анализ соответствия общего статуса мутации для каждой мишени набора theascreen EGFR Plus RGQ PCR и эталонному методу сравнения для образцов плазмы

		Нижний предельный 95% доверительный интервал	Верхний предельный 95% доверительный интервал
Общее процентное значение совпадений	85.12%	77.51%	90.94%
Процентный показатель совпадений по положительному результату (чувствительность)	80.60%	69.11%	89.24%
Процентный показатель совпадений по отрицательному результату (специфичность)	90.74%	79.70%	96.92%

Таблица 26. Анализ соответствия общего статуса мутации для каждой мишени после исследования на несоответствие образцов плазмы

		Нижний предельный 95% доверительный интервал	Верхний предельный 95% доверительный интервал
Общее процентное значение совпадений	95.87%	90.62%	98.64%
Процентный показатель совпадений по положительному результату (чувствительность)	96.55%	88.09%	99.58%
Процентный показатель совпадений по отрицательному результату (специфичность)	95.24%	86.71%	99.01%

Ссылки

1. Пао, У. и Миллер, В.А. (2005) Мутации рецептора эпидермального фактора роста, ингибиторы низкомолекулярных киназ и немелкоклеточный рак легкого: современные знания и направления на будущее. J. Clin. Oncol. 23, 2556.
2. Джонсон, Б.Э. и Джанне, П.А. (2005) Мутации рецептора эпидермального фактора роста у пациентов с немелкоклеточным раком легкого. Cancer Res. 65, 7525.
3. Иноуэ А., Судзуки Т., Фукухара Т., Маэмондо М. и Кимура Ю. (2006) Проспективное исследование II фазы применения гефитиниба у пациентов,

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

не получавших химиотерапию, с распространенным немелкоклеточным раком легкого с мутациями в гене рецептора эпидермального фактора роста. J. Clin. Oncol. 24, 3340.

4. Асахина Х. и др. (2006) Исследование II фазы gefitinib в качестве терапии первой линии при распространенном немелкоклеточном раке легких с мутациями в гене рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). 42-я международная конференция Американского общества клинической онкологии (ASCO), Атланта 2-6 июня 2006 г. J. Clin. Oncol. 24 (18S) (Дополнение), Abstr 13014.
5. Пас-Арес, Л. и др. Проспективное исследование II фазы erlotinib у пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) с мутациями в домене тирозинкиназы (ТК) рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). 42-я международная конференция Американского общества клинической онкологии (ASCO), Атланта 2-6 июня 2006 г. J. Clin. Oncol. 24 (18S) (дополнение), Abstr 7020.
6. Кобаяши К. и др. (2008) Gefitinib первой линии для лечения пациентов с плохим общим состоянием с мутациями EGFR. 44-я Международная конференция Американского общества клинической онкологии (ASCO), Чикаго, 31 мая - 3 июня 2008 г. J. Clin. Oncol. 26 (15S) (Дополнение), Abstr 8070.
7. Секвист Л.В. и др. (2008) Применение gefitinib первой линии у пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого, имеющим соматические мутации EGFR. J. Clin. Oncol. 15, 2442.
8. Порта Р. и др. (2008) Адаптация erlotinib на основе мутаций рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) у пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) IV стадии (p). J. Clin. Oncol. 26 (дополнение от 20 мая), Abstr 8038.
9. Линч и др. Активирующие мутации в рецепторе эпидермального фактора роста, лежащие в основе чувствительности немелкоклеточного рака легкого к gefitinibu. N English J Med. 2004, 20 мая; 350(21): 2129-39. Epub 2004, 29 апреля.
10. Ньютон, К.Р., Грэм, А., Гептинстолл, Л.Э. и др. (1989) Анализ любой точечной мутации в ДНК. Амплификационная система для идентификации мутаций (ARMS) нуклеиновых кислот, Res. 17, 2503.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

11. Уиткомб, Д., Тикер, Дж., Гай, С.П., Браун, Т., Литтл, С. (1999). Обнаружение продуктов ПЦР с использованием самозондирующих ампликонов и флуоресценции. *Nature Biotech.* 17, 804.

Руководство по устранению неполадок

Это руководство по устранению неполадок может оказаться полезным при решении любых проблем, которые могут возникать при работе с набором. Для получения дополнительной информации смотрите также страницу Часто задаваемых вопросов в нашем Центре технической поддержки: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Специалисты технической службы QIAGEN всегда рады ответить на любые ваши вопросы, касающиеся информации и/или протоколов, содержащихся в данном руководстве, или технологий отбора образцов и анализа (контактную информацию можно найти на сайте www.qiagen.com).

Комментарии и предложения

Прогон недействительный из-за недействительного результата положительного контроля

- | | |
|---|---|
| а) Один компонент реакционной смеси не добавлен | Убедитесь, что реакционная смесь приготовлена правильно. Убедитесь, что добавлены все компоненты реакционной смеси для ПЦР. Повторите прогон кПЦР. |
| b) Реакционная смесь испорчена | Набор замораживали и размораживали слишком много раз, содержимое набора не хранилось при температуре от -30 до -15°C, или праймеры и смеси не были защищены от света.
Проверьте условия хранения и срок годности реагентов (см. этикетку) и используйте новый набор.
Повторите запуск кПЦР. |
| c) Слишком малый объем пипетки: объем пипетки может быть неправильным | Проверьте схему пипетирования и настройку реакции. Проверьте, что было добавлено 5 мкл контроля.
Проверьте и откалибруйте пипетки перед повторением кПЦР-теста. |
| d) Неисправность в приборе Rotor-Gene Q MDx | Проверьте журналы технического обслуживания прибора.
Повторите запуск кПЦР. |

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Комментарии и предложения

- е) Ошибка в принадлежностях прибора Rotor-Gene Q MDx 72-луночный ротор может быть неправильно закрыт.
Повторите запуск кПЦР.
- ф) Инверсия идентификатора пробирки и/или образца Проверьте схему пипетирования и настройку реакции.
Повторите запуск кПЦР.
- г) Контроли отсутствуют или установлены в неправильном положении Убедитесь, что контроли установлены в правильном положении.
Повторите запуск кПЦР.
- h) Недостаточное перемешивание контрольных образцов Размораживание контрольных образцов было неполным перед загрузкой или смешивание контрольных образцов с реакционной смесью (пипетирование вверх и вниз) было выполнено неправильно.
Повторите запуск кПЦР.
- i) Неэффективное закрывание пробирки Пробирка не была закупорена должным образом, что привело к испарению во время выполнения кПЦР.
Повторите запуск кПЦР.
- j) Условия хранения одного или нескольких компонентов набора не соответствовали инструкциям, приведенным в разделе «Условия хранения» (стр. 26). Проверьте условия хранения и срок годности реагентов (см. этикетку набора) и при необходимости используйте новый набор.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

k) Срок действия набора <i>therascreen</i> EGFR Plus RGQ PCR истек	Комментарии и предложения Проверьте соответствующую кривую на наличие несвойственных изгибов (например, прямой линии). Повторите запуск кПЦР.
l) Неправильная кривая амплификации (артефакт)	

Недействительный прогон из-за амплификации в отсутствии матрицы без контроля

a) Перекрестное загрязнение или контаминация реагентов	Манипуляции с образцами, компонентами набора и расходными материалами необходимо осуществлять в соответствии с рекомендуемыми методами, чтобы предотвратить остаточное загрязнение. Убедитесь, что наконечники меняются между пипетированием разных реагентов или при загрузке разных пробирок. Приготовьте реакционную смесь кПЦР с помощью специального расходного материала (пипетки, наконечники и т.д.). Приготовьте реакционную смесь кПЦР и NTC-реагент в специально отведенном месте, где не осуществляется ввод ДНК-матрицы (ДНК, плазида или продукты ПЦР). При обнаружении перекрестного загрязнения замените все реагенты. Повторите запуск кПЦР.
b) Неправильная кривая амплификации (артефакт)	Проверьте соответствующую кривую на наличие несвойственных изгибов (например, прямой линии). Повторите запуск кПЦР.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Комментарии и предложения

с) Инверсия идентификатора пробирки и/или образца
Проверьте схему пипетирования и настройку реакции.
Повторите запуск кПЦР.

d) Неисправность прибора Rotor-Gene Q MDx
Проверьте журналы технического обслуживания прибора.
Например, смещение объектива может привести к увеличению фона или появлению артефактов. Если настройка объектива не входит в ваш план технического обслуживания, пожалуйста, обратитесь в техническую службу QIAGEN для получения дополнительной информации и возможного ремонта

Образец недействительный из-за отсутствия или низкой амплификации во внутреннем контроле

а) Слишком низкая концентрация ДНК в образце
Набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR оптимизирован для рабочей концентрации 5 нг/мкл (ДНК из FFPE) и 5 мкл чистого экстракта сДНК из образцов плазмы.

б) Низкое качество образца ДНК
Проверьте концентрацию (для FFPE)
Проверьте концентрацию (для FFPE).
Повторите этап кПЦР с другим образцом (в идеале свежесрезанным).
Повторите процедуру, используя более высокую концентрацию образца.

Примечание: тестирование более высокой концентрации гДНК позволяет получить более раннее значение *St* экзона 2, но увеличит риск ингибирования. Следовательно, *St* экзона 2 может быть медленнее, чем при более низкой концентрации.

с) Наличие ингибитора в образце
Разбавьте образец и повторите процедуру с меньшей концентрацией образца.
Примечание: тестирование с более низкой концентрацией **может** дать более ранний сигнал экзона 2, если в образце присутствовали ингибиторы в концентрации 5 нг/мкл.
Повторно извлеките образец (FFPE) с дополнительными срезами и повторите прогон.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Комментарии и предложения

Примечание: при элюировании большего количества срезов в том же объеме концентрация ингибитора может быть увеличена, когда образец нормализуется на 5 нг/мкл.

- | | |
|--|---|
| d) Слишком малый объем пипетки:
объем пипетки может быть неправильным | Проверьте схему пипетирования и настройку реакции. Проверьте, добавлено ли 5 мкл образца. Проверьте и откалибруйте пипетки перед повторением кПЦР-теста. |
| e) Неправильное закрытие пробирки | Пробирка не была закрыта должным образом, что привело к испарению во время выполнения кПЦР. Повторите этап кПЦР для образца. |
| f) Условия хранения одного или нескольких компонентов набора не соответствовали инструкциям, приведенным в разделе «Условия хранения» (стр. 26). | Проверьте условия хранения и срок годности реагентов (см. этикетку набора) и при необходимости используйте новый набор. |
| g) Срок годности набора <i>therascreen</i> EGFR Plus RGQ PCR истек | Проверьте условия хранения и срок годности реагентов (см. этикетку набора) и при необходимости используйте новый набор. |
| h) Аномальная флуоресценция | Не пишите на пробирках. Соблюдайте осторожность при обращении с пробирками. Наденьте перчатки. Визуально проверьте пробирку для ПЦР-реакции на наличие черных магнитных частиц (образующихся в результате автоматической экстракции QIAasympphony). Частицы могут быть удалены, как описано в соответствующих руководствах по набору автоматической экстракции QIAasympphony). Частицы могут быть удалены, как описано в соответствующих руководствах по набору для экстракции. |

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Комментарии и предложения

Образец недействительный из-за ранней амплификации внутреннего контроля в образцах

- а) Слишком высокая концентрация ДНК в образце Набор *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR оптимизирован для рабочей концентрации 5 нг/мкл (FFPE).
Для гДНК из FFPE: Проверьте концентрацию ДНК. Если ДНК не находится в должной концентрации, разбавьте ДНК.
Для сДНК из плазмы: Разбавьте образец.
Повторите этап кПЦР для образца.
- б) Слишком большой объем пипетки: объем пипетки может быть неправильным Проверьте схему пипетирования и настройку реакции. Проверьте, что добавлено 5 мкл образца.
Проверьте и откалибруйте пипетки, прежде чем повторять процедуру кПЦР для образца.
Проверьте соответствующую кривую на наличие
- в) Кривая амплификации может быть неверной ложноположительных результатов (т.е. прямая кривая вместо экспоненциальной амплификации).
Повторите этап кПЦР для образца.
Не пишите на пробирках. Соблюдайте осторожность при обращении с пробирками. Наденьте перчатки.
Визуально проверьте пробирку для ПЦР-реакции на наличие черных магнитных частиц (образующихся в результате автоматической экстракции QIAasympyphony). Частицы могут быть удалены, как описано в соответствующих руководствах по набору для экстракции.
- г) Аномальная флуоресценция
- е) Неисправность прибора Rotor-Gene Q MDx Проверьте журналы технического обслуживания прибора.
Например, смещение объектива может привести к увеличению фона. Если настройка объектива не входит в ваш план технического обслуживания, пожалуйста, обратитесь в техническую службу QIAGEN для получения дополнительной информации и возможного ремонта.

Образец недействительный из-за непредвиденного значения ΔCT или CT

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Комментарии и предложения

- а) Образец
недействительный
— значение СТ
слишком низкое
или находится
ниже предельного
диапазона.
- Настройте новый цикл ПЦР для повторения анализа образца, уделяя пристальное внимание этапам смешивания.









Контроль качества

В соответствии с системой менеджмента качества QIAGEN, сертифицированной ISO, каждая партия набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR тестируется на соответствие заданным спецификациям для обеспечения стабильного качества продукции.

Контроль качества всего набора проводился на приборе Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. Этот комплект изготовлен в соответствии со стандартом ISO 13485. Сертификаты анализа предоставляются по запросу и доступны на сайте www.qiagen.com/support

Символы

В инструкции по применению или на упаковке и маркировке могут присутствовать следующие символы:

Символ	Значение
	Содержит реагенты, достаточные для <N> реакций
	Срок годности / использовать до
	Медицинское изделие для диагностики In vitro
	Номер по каталогу
	Номер партии
	Номер материала (т.е. маркировка компонента)
	Компоненты
	Содержание

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

	Число / количество
	Глобальный номер товарной позиции
Rn	R означает пересмотр инструкции по применению, а n - номер редакции
	Температурный диапазон
	Производитель
	Ознакомьтесь с инструкцией по применению
	Хранить вдали от солнечного света
	Для применения только квалифицированным персоналом
	Предупреждение/предостережение

Контактная информация

Для получения технической помощи и дополнительной информации, пожалуйста, обратитесь в наш центр технической поддержки по ссылке www.qiagen.com/Support, позвоните по телефону 00800-22-44-6000 или обратитесь в один из отделов технического обслуживания QIAGEN или к местным дистрибьюторам (см. заднюю обложку или посетите сайт www.qiagen.com).

Приложение А: Установка программного обеспечения Rotor-Gene AssayManager v2.1, модуля Gamma и импортирование приложения Assay Profile (профиля анализа).

Важные моменты перед началом работы

- Программное обеспечение Rotor-Gene AssayManager версии v2.1 должно быть установлено на компьютере, подключенном к прибору Rotor-Gene Q MDx 5Plex HRM. Чтобы загрузить программное обеспечение, перейдите на страницу продукта Rotor-Gene AssayManager v2.1 по адресу www.qiagen.com/9025620>Resources>OperatingSoftware (> Ресурсы >

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Операционное программное обеспечение). Для получения подробной информации об установке основного программного обеспечения Rotor-Gene AssayManager v2.1 обратитесь к руководству пользователя приложения программного обеспечения Rotor-Gene AssayManager v2.1.

- Для набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR требуется специальный плагин: Gamma. Чтобы получить доступ к последней версии этого модуля, перейдите на страницу продукта Rotor-Gene AssayManager v2.1 по ссылке www.qiagen.com/9025620>Ресурсы> Операционное программное обеспечение. Этот подключаемый модуль должен быть установлен на компьютере, на котором уже установлено ПО для Rotor-Gene AssayManager версии 2.1.
- Для набора *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR также требуется приложение Assay Profile (профиль анализа). Это приложение содержит все параметры, необходимые для циклирования ПЦР и автоматического анализа данных. Для использования с набором *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR доступны два профиля анализа:
 - Один посвящен тестированию образцов гДНК из FFPE:
therascreen_EGFR_Plus_FFPE
 - Один посвящен тестированию образцов сДНК из плазмы:
therascreen_EGFR_Plus_Plasma
- Профили анализа соответствуют файлам «.iap», которые можно загрузить со страницы продукта *therascreen* EGFR Plus RGQ PCR Kit по ссылке www.qiagen.com. Профили анализа должны быть импортированы в программное обеспечение Rotor-Gene AssayManager версии v2.1.

Процедура

Ниже приведены подробные сведения об установке подключаемого модуля Gamma и импорте приложения Assay Profile (профилей анализа) в программное обеспечение Rotor-Gene AssayManager v2.1.

Установка подключаемого модуля Gamma и импорт Assay Profile (профиля анализа) подробно описаны в руководстве пользователя для прибора Rotor-

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Gene AssayManager v2.1 и руководстве пользователя подключаемого модуля Gamma.

1. Загрузите подключаемый модуль Gamma с веб-сайта QIAGEN.
2. Чтобы установить, дважды щелкните на RGAM_V2_1_Gamma_Plugin.Installation.V1_0_x.msi (x>0) и следуйте инструкциям по установке. Для получения подробного описания этого процесса, пожалуйста, обратитесь к разделу «Установка подключаемых модулей» в руководстве пользователя основного приложения Rotor-Gene AssayManager v2.1.
3. После успешной установки модуля пользователю с правами администратора программного обеспечения Rotor-Gene AssayManager v2.1 необходимо импортировать последнюю версию приложения Assay Profile следующим образом.
 - 3а. Перейдите в проводник Windows и сохраните AP в этой папке: C:\Documents and settings\Public\Documents\QIAGEN\Rotor-Gene AssayManager\Import\AssayProfiles.
 - 3б. Щелкните на значок Rotor-Gene Assay Manager v2.1. Появится окно входа в систему.



Рисунок 21. Окно Rotor-Gene AssayManager v2.1.

- 3с. Введите свой логин и пароль. Оставьте параметр **Mode/Режим Closed/закрытым**. Нажмите кнопку ОК. Появится рабочее окно Rotor-Gene AssayManager.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

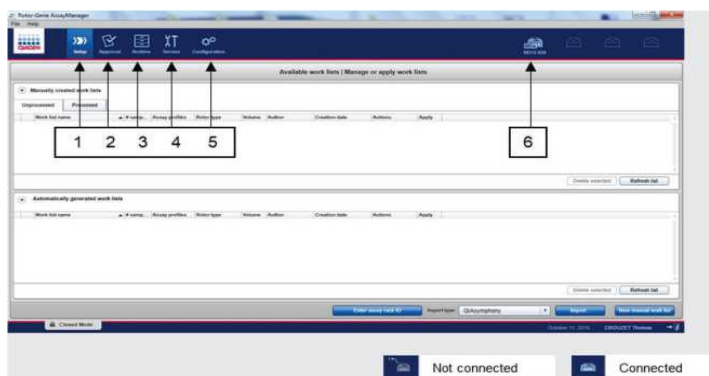


Рисунок 22. Rotor-Gene AssayManager v2.1.

- 1 - Вкладка Настройки (SETUP). Эта вкладка позволяет управлять рабочими списками или применять их
- 2 - Вкладка Approval / Подтверждение. Эта вкладка позволяет вам найти предыдущие прогоны.
- 3 - Вкладка Archive / Архив. Эта вкладка позволяет вам найти ранее утвержденные прогоны.
- 4 - Вкладка Service / Сервис. На этой вкладке отображается журнал аудита каждого файла, сгенерированного программным обеспечением.
- 5 - Вкладка Configuration / конфигурации. На этой вкладке можно настроить все параметры программного обеспечения.
- 6 - Значок прибора Rotor-Gene Q (RGQ); информирует пользователя о том, подключен ли блок управления циклами. К одному компьютеру можно подключить до четырех приборов RGQ.

3d. Для обеспечения безопасности процесса в масштабах всей системы выполните следующие необходимые настройки конфигурации для закрытого режима:

- Перейдите на вкладку «Настройки» в окне Настройки.
- На панели «Список работ» в закрытом режиме установите флажки **Material number required**, **Valid expiry date** и **Lot number required** («Требуемый номер материала», «Действительный срок годности» и «Требуемый номер партии»).

Примечание: Эти настройки конфигурации могут быть выполнены только пользователем с правами администратора.

3e. В окне Настройки выберите вкладку Профили анализа.

3f. Нажмите кнопку **Импорт**.

3. В диалоговом окне Open file «Открыть файл» выберите **therascreen_EGFR_Plus_FFPE_V1_0_0.iap** в качестве первого профиля анализа EGFR.

3h. Нажмите кнопку **Open/Открыть**.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Приложение Assay Profile (Профиль анализа) будет загружен и добавлен в список доступных профилей анализа, которые можно использовать в окне «Настройки»

3i. Повторите шаги 3e-3h для загрузки и добавления **therascreen_EGFR_Plus_Plasma_V1_0_0.iap** в качестве второго профиля анализа.

Примечание: одна и та же версия приложения Assay Profile (профиля анализа) не может быть импортирована дважды.

Приложение В: выполнение профилей анализа FFPE и плазмы в одном прогоне

Доступны два профиля анализа для использования с набором *therascreen EGFR Plus RGQ PCR*:

- Для тестирования образцов гДНК из FFPE: **therascreen_EGFR_Plus_FFPE**
- Для тестирования образцов сДНК из плазмы: **therascreen_EGFR_Plus_Plasma**.

Для проведения обоих профилей анализа FFPE и плазмы в одном прогоне:

1. Сделайте все необходимые установки кПЦР в соответствии с инструкциями в разделе «Настройка кПЦР» и «Протокол»: подготовка прибора Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM» раздела «Протокол: оценка мутации EGFR с помощью кПЦР на приборе Rotor-Gene Q MDx 5Plex HRM» (начиная со страницы 43).
- ⚠ При проведении двух профилей анализа в одном прогоне требуется особая компоновка планшета (рис. 23):
 - Контроли (положительный контроль, NTC) необходимо добавлять дважды и поместить в лунки, предшествующие образцам, для каждого типа образцов (FFPE и плазма), как показано на рисунке 23.
 - Все образцы с одним и тем же типом образца (FFPE или плазма) должны быть протестированы в последующих лунках. Порядок, в котором тестируются два типа образцов (например, сначала FFPE или плазма), не имеет решающего значения.
 - Не должно быть пустых лунок между последней лункой, содержащей образец первого типа (например, на рисунке 23, лунка 32, содержащая образец S6 FFPE), и первой лункой, содержащей положительный контроль, связанный с анализом второго типа образца (например, на рисунке 23, положительный контроль в лунке 33 ассоциируемый с профилем анализа плазмы).

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

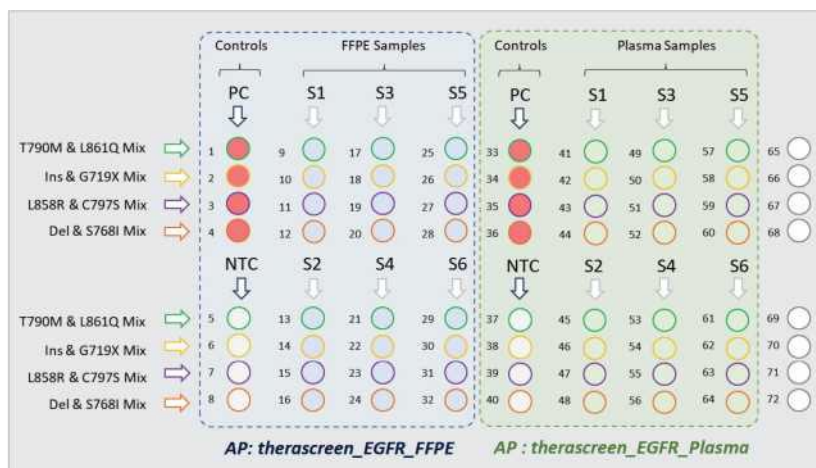


Рисунок 23. Компоновка планшета для тестирования образцов FFPE и плазмы в одном и том же прогоне кПЦР. PC: положительный контроль EGFRv3; NTC: контроль без матрицы (вода); AP: профиль анализа; Реакционные смеси: смесь EGFRv3 T790M & L861Q, инсерции EGFRv3 и смесь G719X, смесь EGFRv3 L858R & C797S, Делеции EGFRv3 и смесь S768I. Образец 1 (S1) -образец 6 (S6): образцы ДНК. ○ - пустые лунки.

2. Перейдите к шагам 1-3 - 17 процедуры «Создание рабочего списка и запуск кПЦР» (начиная со страницы 48).
3. Импортируйте два профиля анализа последовательно, как указано в шагах 18 и 19 раздела «Создание рабочего списка и запуск кПЦР» (стр. 48). Убедитесь, что профили для анализа импортированы в правильном порядке, определяемом компоновкой планшета: например, если используется компоновка с рисунка 23, сначала импортируйте профиль для анализа FFPE, затем профиль для анализа плазмы.

Примечание: положение профиля анализа может быть изменено при необходимости, чтобы убедиться, что профили анализа считываются в правильном порядке (рис. 24).

4. Установите флажок **New strip tube/Новая пробирка**, чтобы указать, что соответствующий анализ должен начаться с новой пробирки (рис. 24).

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

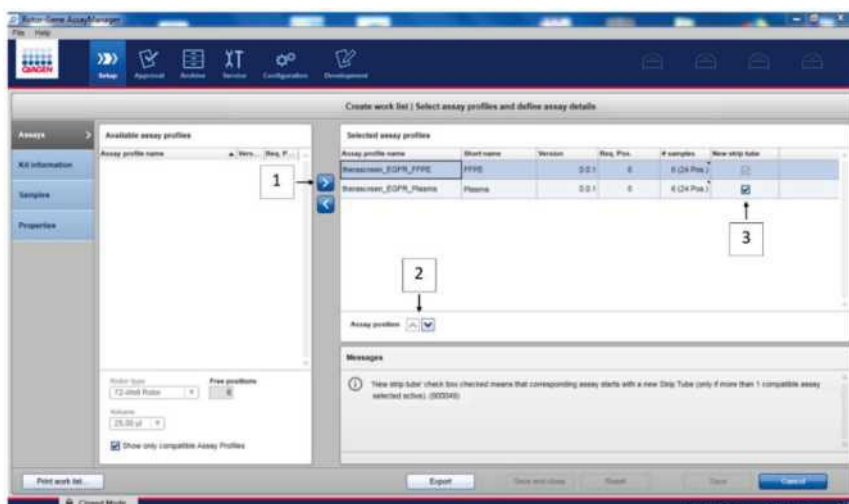


Рисунок 24. Позиции анализируемых образцов. 1 - выберите и перенесите два профиля анализа в рабочий список. 2 – Расположение анализируемых образцов можно изменить: переместите профиль анализа вверх или вниз с помощью стрелок. 3 - Установлен флажок «Новая пробирка».

5. Продолжите процедуру, начатую с шага 20, стр. 48.

Информация для заказа

Продукт	Содержание	№ в каталоге
Набор therascreen EGFR Plus RGQ PCR Kit (24)	Для 24 реакций: Смесь T790M и L861Q, смесь инсерций и G719X, смесь L858R и C797S, смесь делеций и S768I, основная смесь для ПЦР, положительный контроль EGFR, вода без РНКазы/ДНКазы	874611
Ротор-Gene Q и принадлежности		
Прибор Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Это термоциклирующая система для проведения высокоточного количественного и качественного ПЦР-анализа в режиме реального времени (Real-time PCR), ПЦР с детекцией по конечной точке и анализа плавления высокого разрешения (HRM) с 5 каналами (зеленый, желтый, оранжевый, красный, малиновый) плюс канал HRM, портативный компьютер, программное обеспечение, принадлежности, гарантия 1 год на запчасти и ремонт, установка и обучение включены в стоимость	9002033
Платформа Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM	Термоциклирующая система для ПЦР в реальном времени и анализатор расплава высокого разрешения с 5 каналами (зеленый, желтый, оранжевый, красный,	9002032

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Продукт	Содержание	№ в каталоге
	малиновый) плюс канал HRM, портативный компьютер, программное обеспечение, принадлежности, гарантия 1 год на запчасти и ремонт, установка и обучение не включены.	
Загрузочный блок на 72 пробирки по 0,1 мл	Алюминиевый блок для ручной настройки реакции с одноканальной пипеткой с пробирками 72 x 0,1 мл	9018901
72-Луночный ротор	Для удержания пробирок в стрипах и колпачков объемом 0,1 мл; требуется стопорное кольцо 72-луночного ротора	9018903
Стопорное кольцо 72-луночного ротора	Для фиксации пробирок в стрипах и колпачков, 0,1 мл в 72-луночном роторе	9018904
Держатель ротора	Металлический отдельно стоящий держатель для установки пробирок и Rotor-Discs® в роторы	9018908
Пробирки и колпачки, 0,1 мл (250)	250 стрипов по 4 пробирки в каждом и колпачки для 1000 реакций	981103
Пробирки и колпачки, 0,1 мл (2500)	10 x 250 стрипов по 4 пробирки и колпачки для 10 000 реакций	981106
Rotor-Gene AssayManager v2.1	Программное обеспечение для стандартного тестирования в сочетании с приборами Rotor-Gene Q и Rotor-Gene Q MDx	9024203
Лицензия Rotor-Gene AssayManager v2.1 (1)	Единая лицензия на установку программного обеспечения RotorGene AssayManager v2.1 на одном компьютере	9025620
QIAasymphony SP*		
Система QIAasymphony SP	Модуль подготовки образцов QIAasymphony: включает установку и обучение, гарантию на запчасти и работу сроком на 1 год.	9001751
QIAasymphony SP	Модуль подготовки образцов QIAasymphony: включает 1-летнюю гарантию на запчасти и работу	9001297
Сопутствующие продукты		
Раствор для депарафинизации (16 мл)	2 x 8 мл раствора для депарафинизации	19093
Раствор для депарафинизации (50 мл)	1 x 50 мл раствора для депарафинизации	939018
Набор QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (50)	Для 50 образцов ДНК: 50 колонок QIAamp MinElute®, протеиназа K, буферы и пробирки для сбора (2 мл)	60404
Набор QIAamp DSP Circulating NA Kit (50)	Для 50 приготовлений: Мини-колонок QIAamp, буферы, ДНК-носитель, протеиназа QIAGEN K и пробирки	61504

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Продукт	Содержание	№ в каталоге
Мини-набор QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (192)	Для 192 приготовлений по 200 мкл каждое: включает в себя 2 картриджа с реагентами, подставки для ферментов и принадлежности	937236
Набор QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	Картриджи с реагентами, принадлежности и флаконы с протеиназой К для 192 приготовлений по 2000 мкл или 4000 мкл каждое	937556
РНКаза А (17 500 Ед)	2,5 мл (100 мг/мл; 7000 ед/мл, раствор)	19101
Буфер ATL (4 x 50 мл)	4 x 50 мл буфера для лизиса	939016

* Для получения информации о принадлежностях QIAasymphony SP, пожалуйста, обратитесь к соответствующим руководствам.

Для получения актуальной информации о лицензировании и отказах от ответственности, касающихся конкретного продукта, обратитесь к соответствующему руководству пользователя набора QIAGEN. Справочники и руководства пользователя набора QIAGEN доступны на сайте www.qiagen.com или может быть запрошен в технической службе QIAGEN или у вашего местного дистрибьютора.

История изменений документа

Изменение	Описание
1 марта, 2022 г.	Первое издание

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Эта страница намеренно оставлена пустой

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Ограниченное лицензионное соглашение на набор theascreen ® EGFR Plus RGQ PCR Kit

Использование данного продукта означает согласие любого покупателя или пользователя продукта со следующими условиями:

1. Изделие может использоваться исключительно в соответствии с протоколами, прилагаемыми к изделию и данному руководству, и только для использования с компонентами, содержащимися в наборе. QIAGEN не предоставляет никаких лицензий в соответствии с какой-либо из своих прав интеллектуальной собственности на использование или объединение прилагаемых компонентов этой панели с любыми компонентами, не включенными в этот набор, за исключением случаев, описанных в протоколах, прилагаемых к продукту, данном руководстве и дополнительных протоколах, доступных по адресу www.qiagen.com. Некоторые из этих дополнительных протоколов были предоставлены пользователями QIAGEN для пользователей QIAGEN. Эти протоколы не были тщательно протестированы или оптимизированы QIAGEN. QIAGEN не гарантирует их и не гарантирует, что они не нарушают права третьих лиц.
2. За исключением прямо заявленных лицензий, QIAGEN не дает никаких гарантий, что данный набор и/или его использование не нарушают прав третьих лиц.
3. Данный набор и его компоненты лицензированы для одноразового использования и не подлежат повторному использованию, восстановлению или перепродаже.
4. QIAGEN прямо отказывается от каких-либо других гарантий, выраженных или подразумеваемых, кроме тех, которые прямо указаны.
5. Покупатель и пользователь набора соглашаются не предпринимать и не разрешать кому-либо предпринимать какие-либо шаги, которые могут привести к любым действиям, запрещенным выше, или способствовать им. QIAGEN может обеспечить соблюдение запретов настоящего Ограниченного лицензионного соглашения в любом суде и возместить все свои расходы на расследование и судебные издержки, включая гонорары адвокатов, в любых действиях по обеспечению соблюдения настоящего Ограниченного лицензионного соглашения или любых прав на интеллектуальную собственность, связанных с набором и/или его компонентами.

Обновленные условия лицензии см. в разделе www.qiagen.com.

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Приобретение данного продукта позволяет покупателю использовать его для выполнения диагностических услуг по диагностике *in vitro*. Настоящим не предоставляется никакой общий патент или иная лицензия любого рода, кроме данного конкретного права на использование при покупке.

Торговые марки: QIAGEN®, Sample to Insight®, theascreen®, QIAamp®, QIASymphony®, MinElute®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager®, Rotor-Disc®(QIAGEN Group); CAL Fluor®(Biosearch Technologies, Inc.); FAM™, HEX™ (Thermo Fisher Scientific Inc).

Март 2022 года, HB-2963-001 1126175 © 2022 QIAGEN, все права защищены
Сведения о производителе медицинского изделия для диагностики *in vitro* и его уполномоченном представителе:

Производитель

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANY

Уполномоченный представитель производителя на территории Республики Казахстан

ИП «Тіркеу»

Республика Казахстан, 050026, г. Алматы Айтиева 15, кв 27

Тел: +7 (702) 213 7317

s.assipova@gmail.com

Адрес организации, принимающей претензии по медицинскому изделию для диагностики *in vitro* от потребителей на территории Республики Казахстан

ИП «Тіркеу»

Республика Казахстан, 050026, г. Алматы Айтиева 15, кв 27

Тел: +7 (702) 213 7317

s.assipova@gmail.com

Организация, ответственная за пострегистрационное наблюдение за безопасностью медицинского изделия для диагностики *in vitro* на территории Республики Казахстан

ИП «Тіркеу»

Республика Казахстан, 050026, г. Алматы Айтиева 15, кв 27

Тел: +7 (702) 213 7317

s.assipova@gmail.com

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе



Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе

Решение: N089003

Дата решения: 18.09.2025

Фамилия, имя, отчество (при его наличии) руководителя государственного органа (или уполномоченное лицо): Раймкулова Г. У.

(Комитет медицинского и фармацевтического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан)

Данный документ согласно пункту 1 статьи 7 ЗРК от 7 января 2003 года «Об электронном документе и электронной цифровой подписи» равнозначен документу на бумажном носителе