

 SØRLANDET SYKEHUS		Medisinsk serviceklinikk			Prosedyre
Bruk av Biocartis Idylla plattform for molekylær testing. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK.					Side 1 av 8
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.4.1-2	Godkjent dato: 19.01.2024	Gyldig til: 19.01.2026	Dato endret: 19.01.2024	Revisjon: 4.00	

Medisinsk serviceklinikk/Avd for patologi SSK/Pasienter og brukere/Histologisk enhet/Mol.pat.

DISTRIBUSJONSliste: EK, Godkjent papirversjon finnes i molpat eske.

ENDRINGER FRA FORRIGE VERSJON: [Slettet BRAF-analyse og små endringer i forhold til LVMS]

Omfang	Denne prosedyren gjelder for bioingeniører som har fått opplæring i Idylla.
Bakgrunn	Hensikten med denne prosedyren er å beskrive: • Hvordan Idylla settes i gang for en molekylær testing. • Hvordan prøvemateriale klargjøres og kjøres på Idylla. • Hvordan resultater håndteres.
Akkreditert?	Nei
Prinsipp	• Idylla er et fullautomatisert system som dekker hele prosessen fra prøve til resultat, inkludert fullstendig integrert klargjøring av prøven, frigjøring av nukleinsyre, PCR-amplifikasjon og resultatbearbeidelse. • Formalin fiksert parafininnstøpt vev (FFPE) brukes for molekylær testing av KRAS, NRAS, BRAF, EGFR, MSI og Genefusion (ALK, ROS1, RET og METex14 skipping) .
Ytelse	• Påvist/ ikke påvist. • Den analytiske sensitiviteten (deteksjonsgrensen, limit of detection eller LOD) vurderes for negative resultater. Se punkt «Evaluerings av resultat/Vurdering av kontroller».
Sikkerhet	For å unngå kontaminering fra andre prøver eller fra omgivelsene, er det veldig viktig: • Å bruke hansker i hele prosessen • Å bytte hansker ofte • Å rengjøre arbeidsoverflate med absolutt alkohol før og etter utførelse av analyse • Å vaske pinsetter som brukes for klargjøring av prøvemateriale med AlphaSat pre-wetted polyster wipers (som er 70% IPA/ 30% deionized water)
Prøvemateriale	Ufargede snitt fra histologisk FFPE med en tykkelse på 10µm.
Undersøkelse	Molekylær testing fordeles i 4 hovedgrupper: • Kolonpakke (KRAS, NRAS- BRAF): For pasienter med kolorektal kreft • MSI: Alle type kreft • NRAS-BRAF: For pasienter med malignt melanom (MM) • EGFR og Genefusion: For pasienter med Ikke-småcellet lungekreft (NSCLC) • KRAS og MSI: For pasienter med pankreas kreft
Forsendelse	Skjæring og behandling av snitt til molekylære undersøkelser. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK. https://kvalitet.sshf.no/docs/pub/DOK47715.pdf
Oppbevaring og prøvepreparering	Ikke relevant.

DokumentID:D47736

Utarbeidet av: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee- 15.01.2024	Fagansvarlig: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Verifisert av: 16.01.2024 - Linda Kvelland Skaara
--	---	--	---

 SØRLANDET SYKEHUS		Bruk av Biocartis Idylla plattform for molekylær testing. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK.			Side: 2 Av: 8
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.4.1-2	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Fagansvarlig: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Godkjent dato: 19.01.2024	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 4.00

Medisinsk serviceklinikk/Avd for patologi SSK/Pasienter og brukere/Histologisk enhet/Mol.pat.

Utstyr, kalibrering	Abs. alk., cellostoff, AlphaSat pre-wetted polyster wipers, objektglass, pinsett, pipette, nukleasefritt vann, sirkellapper eller filterpapir fra GE Healthcare Life Science, VWR knivblad, Idylla linjal, og Idylla kassetter (KRAS, NRAS-BRAF, MSI, EGFR og Genefusion)																														
Interferens/kryssreaksjoner og andre feilkilder	• Feil prøvetaking eller utilstrekkelig håndtering av prøven kan føre til degradert DNA, noe som potensielt påvirker testresultatet (for eksempel ved overfiksering av prøvemateriale i formalin eller ved bruk av ubufret formalin). • Forurensing under snitting og klargjøring av prøvemateriale kan påvirke resultatene. • Prøver som ikke oppfyller kriteriene angitt under "Utførelse" eller "Analysering med Idylla" kan ikke garanteres å gi pålitelige eller gyldige resultater. • Forekomst av hemmede stoffer i prøven, utilstrekkelig amplifisertbart DNA, nekrotisk vev og stroma kan påvirke resultatene. • Feil innsetting av prøven i en kassett vil påvirke prøveresultatene. • Eventuelle feil med kassetter, som skader eller utløpsdato, kan føre til falske resultater. • Når det gjelder heterogenitet av mutasjoner, vil kun den dominerende mutasjonen rapporteres. Heterogenitet av interlesjoner må vurderes under kliniske beslutninger.																														
Reagenser, slå sammen	Ikke relevant.																														
Tillaging av reagenser	Ikke relevant.																														
Kontrollmateriale	Ikke relevant.																														
Utførelse	Analysering med Idylla Påkrevd tumorareal, tumorandel, antall snitt og kjøretid for de ulike molekylære analyser er beskrevet i tabellen under. <table><tr><th>Mutasjons analyse</th><th>Antall snitt med tykkelse 10µm</th><th>Tumorprosent</th><th>Tumorareal (mm²)</th><th>Kjøretid (min)</th></tr><tr><td>KRAS</td><td>1-3</td><td>≥10%</td><td>25- 300</td><td>120</td></tr><tr><td>NRAS-BRAF</td><td>1-3</td><td>≥10%</td><td>25- 300</td><td>110</td></tr><tr><td>MSI</td><td>1-3</td><td>≥20%</td><td>25- 300</td><td>150</td></tr><tr><td>EGFR</td><td>1-3</td><td>≥10%</td><td>≥1</td><td>150</td></tr><tr><td>Genefusion</td><td>1-3</td><td>≥ 10%</td><td>≥1</td><td>180</td></tr></table> ❖ Dersom det bestilles kolonpakke på en pasientprøve, må man først kjøre KRAS- analyse. Hvis mutasjon ikke er påvist i KRAS, skal man kjøre videre NRAS-BRAF analyse.	Mutasjons analyse	Antall snitt med tykkelse 10µm	Tumorprosent	Tumorareal (mm²)	Kjøretid (min)	KRAS	1-3	≥10%	25- 300	120	NRAS-BRAF	1-3	≥10%	25- 300	110	MSI	1-3	≥20%	25- 300	150	EGFR	1-3	≥10%	≥1	150	Genefusion	1-3	≥ 10%	≥1	180
Mutasjons analyse	Antall snitt med tykkelse 10µm	Tumorprosent	Tumorareal (mm²)	Kjøretid (min)																											
KRAS	1-3	≥10%	25- 300	120																											
NRAS-BRAF	1-3	≥10%	25- 300	110																											
MSI	1-3	≥20%	25- 300	150																											
EGFR	1-3	≥10%	≥1	150																											
Genefusion	1-3	≥ 10%	≥1	180																											

 SØRLANDET SYKEHUS	Bruk av Biocartis Idylla plattform for molekylær testing. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK.				Side: 3 Av: 8
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.4.1-2	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Fagansvarlig: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Godkjent dato: 19.01.2024	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 4.00

Medisinsk serviceklinikk/Avd for patologi SSK/Pasienter og brukere/Histologisk enhet/Mol.pat.

Klargjøring av Idylla

Maskinen skal som hovedregel stå på.

- Velg «Logg på»
- Velg operatørnavn
- Oppgi passord: 000001
- Velg «Ny test»
- Skann LID- etiketten som inneholder blokknummer. og molpat-sampleID- nummer ved hjelp av Idyllas strekkodeleser.
- Pakk ut den ønskede kassetten og skriv prøvenummer og dato i firkantfeltet på kassetten.
- Skann 2D-koden på kassetten.
- Velg «Bekreft».
- Etter å ha skannet kassetten, kryss av for den tilsvarende analysen som vises på skjermen.

Klargjøring av vev

- Vask arbeidsflaten grundig med absolutt alkohol (abs. alk).
- Plasser cellestoffet eller en serviett på arbeidsflaten. Legg alt utstyret som skal brukes for klargjøring av vevet oppå cellestoffet. Dette inkluderer for eksempel steril kniv, rent objektglass, pinsett og filterpapir. Vær oppmerksom på å vaske pinsettene grundig med AlphaSat wipers.
- Legg to filterpapir på objektglasset ved hjelp av pinsett, og fukt dem med nukleasefritt vann. 50 µl vann er tilstrekkelig for begge filterpapirene.
- Bruk knivbladet til å skrape av området som samsvarer med merket tumorområde på HE-snittet og overfør deretter tumormaterialet opp på filterpapirene. Alternativt kan du umiddelbart plassere tumormaterialet på filterpapirene etter snitting.
- Legg deretter det andre filterpapiret oppå ved hjelp av pinsett.

Klargjøring til kjøring

- Åpne dekslet på kassetten og ta av klipsen.
- Bruk pinsett til å forsiktig plukke opp den klargjorte prøven. Plasser prøven midt på lysisplaten, som er det gjennomsiktige området nederst i kassetten. Unngå berøring av lysisplaten med pinsett eller fingre.
- Lukk kassetten ved å skyve dekslet helt inn. Vær oppmerksom på at når klipsen er fjernet og dekslet er skjøvet helt inn, kan det ikke lenger åpnes.

 SØRLANDET SYKEHUS		Bruk av Biocartis Idylla plattform for molekylær testing. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK.			Side: 4 Av: 8
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.4.1-2	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Fagansvarlig: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Godkjent dato: 19.01.2024	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnsetøl Hansen	Revisjon: 4.00

Medisinsk serviceklinikk/Avd for patologi SSK/Pasienter og brukere/Histologisk enhet/Mol.pat.

	• Når det hvite lyset blinker rundt skuffen som systemet foreslår, åpne denne. Det er også mulig å bruke andre skuffer enn den som blinker. Plasser kassetten i skuffen, og hold den vannrett under flytting. • Lukk modulsuffen. Hvis kassetten er satt inn feil, vil skuffen ikke kunne lukkes. Testen starter automatisk. Hvis modulen ikke leser kassetten, prøv å åpne/lukke skuffen på nytt, eventuelt tørk strekkoden på undersiden av kassetten. • Legg HE-snitt og remissen i hyllen merket "under kjøring" til molekylær testing er ferdig. • Rengjør arbeidsplassen grundig til slutt. Resultathåndtering Etter at analysen er fullført, vil resultatene bli overført automatisk til LVMS. <u>Registrer resultatet i LVMS slik:</u> • Åpne DIT og gå til "Resultatregistrering." • Skann barkoden på blokken eller skriv inn LID i sample ID feltet. • Velg "Foreldreprøve" → "Vedlegg" → Velg/trykk på Idylla-rapportene → Trykk på "Inkludere i svarrapport." • Fyll ut følgende steg basert på rapportene: ➤ KONTROLL-RE-SS: Trykk på "Utført" hvis du har dobbeltsjekket at alt (bestilling, blokk nr. osv.) stemmer. ➤ FORBEHANDLE-SS: Angi hvilken/hvilke kassetter du har brukt. ➤ TUMORAREAL-SS ➤ TUMORANDEL-SS ➤ TYKKELSE-SS: Oppgi tykkelsen på snittene du har brukt, for eksempel 10µm. ➤ ANTALL-SS: Indiker antallet snitt som du har brukt i analysen. ➤ Resultatet av molekylær testing. • Lagre endringene. <u>Levering av MolPat-liste til Kollega (Kun MolPat-Analytikere):</u> • Lever MolPat-listen til din kollega for godkjenning av resultatene i LVMS under Medisinsk Validering (MedVal). <u>Godkjenning av Molekylære Resultater i MedVal:</u> • Finn prøven og åpne den i MedVal. • Kontroller svarene i rapporten mot det som er lagt inn i LVMS. • Trykk på "Godkjenn"-knappen øverst til høyre hvis alt er korrekt. • Hvis det er avvik, kontakt MolPat-operatøren for å løse problemet. • Plasser MolPat-listen på hyllen til LIS-legen som har ansvaret for MolPat denne uken.
Evalueringsav resultat/ Vurdering av kontroller	Evalueringsog vurdering av resultater

 SØRLANDET SYKEHUS	Bruk av Biocartis Idylla plattform for molekylær testing. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK.				Side: 5 Av: 8
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.4.1-2	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Fagansvarlig: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Godkjent dato: 19.01.2024	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 4.00

Medisinsk serviceklinikk/Avd for patologi SSK/Pasienter og brukere/Histologisk enhet/Mol.pat.

Idylla tolker automatisk testresultatet og gjør det tilgjengelig for visning på konsollen. Det rapporteres tre mulige resultatkategorier:

1. Mutasjon påvist

- For å se mulige mutasjonsresultater rapportert av Idylla, referer til "Bruksanvisning for hver mutasjonsanalyse" eller "Tolkning av resultater." Papirversjonene av bruksanvisningene finnes i den blå permen merket "Idylla, Bruksanvisning," mens PDF-versjonen er tilgjengelig i Avdelingsområde → Medisinsk serviceklinikk → Avdeling for Patologi SSK → Felles → Molekylærpatologi → Idylla bruksanvisning.
- Når en mutasjon påvises, vil følgende informasjon vises på konsollskjermen:
 - Protein: Angir mutasjonen i henhold til HGVS-nomenklaturen (Human Genome Variation Society).
 - Nukleotidendring: Angir nukleotidendringer og deres posisjon i genet.

2. Ingen mutasjon påvist

- Når konsollen viser "Ingen mutasjon påvist," kan dette skyldes at forekomsten av mutasjonen(e) ikke fullstendig kan utelukkes. Dette resultatet avhenger av følgende faktorer:
 - Integritet til prøvens DNA: Kvaliteten på det ekstraherte DNA-et i prøven er avgjørende for nøyaktig deteksjon av mutasjoner.
 - Prosentandel mutante alleler i prøven: Resultatet kan være påvirket av den relative andelen mutante alleler i prøven.
 - Fravær av hemmende stoffer: Utelukkelse av interfererende stoffer er viktig for nøyaktig deteksjon. Eventuell tilstedeværelse av slike stoffer kan påvirke resultatet.
 - Forekomst av tilstrekkelig amplifiserbart DNA: For en pålitelig deteksjon kreves tilstrekkelig mengde DNA som kan amplifiseres under analysen.

3. Ugyldig

- Når resultatet viser "Ugyldig," indikerer dette at resultatene fra prøven avviker fra forventningene, og årsakene kan være mangfoldige, for eksempel:
 - Forekomst av hemmere i prøven.
 - Kraftig DNA-fragmentering: Potensielt forårsaket av for lang fikseringstid.
 - Feil plassering av prøven i en kassett.
 - Prøvevolum utenfor akseptabelt område.
 - Ingen prøve tilsatt.
 - Kassetten er oppbevart feil, for eksempel kassett med utløpt bruksdato, kassett som er tatt ut av posen etter at brukstiden har utløpt, eller kassett som ikke fungerer korrekt.

 SØRLANDET SYKEHUS		Bruk av Biocartis Idylla plattform for molekylær testing. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK.			Side: 6 Av: 8
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.4.1-2	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Fagansvarlig: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Godkjent dato: 19.01.2024	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 4.00

Medisinsk serviceklinikk/Avd for patologi SSK/Pasienter og brukere/Histologisk enhet/Mol.pat.

- Ved ugyldig resultat er det nødvendig å gjenta testen med en ny kassett og følge de spesifikke kriteriene.

NB!: Idylla™ EGFR Mutation Test kan rapportere resultater for syv genotypeoppkallinger. En gyldig kassett kan inneholde et ugyldig resultat for en spesifikk EGFR-genotype eller -genotyper. Resultatet for den genotypen eller de genotypene som er ugyldige, vil bli angitt som UGYLDIG. Dette betyr imidlertid ikke at hele testen er ugyldig. For at testen skal være ugyldig, må alle syv genotypene ha et ugyldig resultat.

NB!: En MSI-kassett anses gyldig hvis ≥ 5 av 7 MSI-biomarkører viser et gyldig resultat for prøven. For hver MSI-analyse, rapporteres en "Quality Status" i resultatrapporten.

Antall ugyldige biomarkører	Quality status i resultatrapporten
0	7 MSI biomarkører har blitt korrekt forsterket og testresultatet er derfor GYLDIG.
1	6 av 7 MSI biomarkører har blitt korrekt forsterket og testresultatet er derfor GYLDIG.
2	5 av 7 MSI biomarkører har blitt korrekt forsterket og testresultatet er derfor GYLDIG.

Vurdering av pålitelighet og gyldighet av resultater

Når man får «Mutasjon registrert i ...» for hver mutasjonsanalyse:

Man kan overføre resultatet i LVMS uten å vurdere verdier eller PCR-kurver.

Når man får «Ingen mutasjon registrert»

Den eneste molekylæranalysen som ikke gir informasjon om kvaliteten av analysen er KRAS. Hvis du kjører bare KRAS analysen (for eks. for pankreas kreft) og resultatet er negativ, må du eksportere analyselogg av testen og sende til Biocartis kontaktperson.

En analyselogg inneholder rådataene til en test. Denne loggfilen kan brukes til problemetterforskning eller sikkerhetskopiering ved behov. Slik eksporterer du en enkelt analyseloggfil:

1. Velg «Eksporter analyselogg» på skjermen til rapporten du vil lagre.
2. Koble en USB-pinne til en av USB-portene på baksiden av konsollen.
3. Velg «Eksporter analyselogg»- mappe i USB-pinne, og klikk på «Eksporter».

 SØRLANDET SYKEHUS	Bruk av Biocartis Idylla plattform for molekylær testing. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK.				Side: 7 Av: 8
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.4.1-2	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Fagansvarlig: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Godkjent dato: 19.01.2024	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 4.00

Medisinsk serviceklinikk/Avd for patologi SSK/Pasienter og brukere/Histologisk enhet/Mol.pat.

	4. Send analyselogger-filene via e-post til kontaktpersonen i Biocartis. De sender tilbake en fil som inneholder PCR-kurver og noen verdier som hjelper å vurdere gyldighet av negative og ugyldige resultater. • Det finnes kvantifiseringsverdi (Cq- verdi) for hver gyldig kurve. Denne Cq-verdien gir en indikasjon på mengden av forsterkbart inngangs-DNA, og kan korreleres til testens deteksjonsgrensen (Limit Of Detection, LOD). LOD defineres som den laveste allelefrekvensen der de mutante allelene konsekvent kan påvises i ≥ 95 % av testtilfellene. • SPC-signaler (Sample Processing Control) brukes til å kontrollere at behandlingen av den fullstendige prosessen (prøve til resultat) er tilfredsstillende. • Forekomsten av en mutant genotype fastsette ved å beregne forskjellen mellom SPC Cq og Cq som ble oppnådd for ett eller flere mutantsignal. Denne forskjellen mellom kontrollsignalet og mutantsignalet defineres som ΔCq. • Det mutante signalet anses som påvist hvis ΔCq-verdien er innenfor et forhåndsdefinert intervall, og prøven rapporteres deretter som «Mutasjon er registrert i ...». Prøver som har et gyldig kontrollsignal, men der en ΔCq-verdi ligger utenfor det forhåndsdefinerte intervallet for alle mutante signaler, rapporteres som «Ingen mutasjon registrert i ...».
Usikkerhet	Konferer feilkilder.
Avfallshåndtering	Generelle avfallsrutiner.
Validering/dokumentasjon/referanser	II.MSK.Pat.10.3.2.5.1-1 Endringskontroll Idylla - Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi. SSK II.MSK.Pat.10.3.2.5.2-1 Verifisering av Idylla - Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi. SSK II.MSK.Pat.2.3.4.1-3 Service- og vedlikeholdsoppgaver i molpat lab. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK. O:\Medisinsk serviceklinikk\Avdeling for patologi SSK\Avd for patologi SSK\HIST Seksjon\Molekylærpatologi\Bruksanvisning

Vedlegg:

Kryssreferanser:

- [II.MSK.Pat.2.3.4.2-1 Skjema for rutineanalyser på Idylla. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK. \(ARKIVERT\)](#)
- [II.MSK.Pat.10.3.2.5.1-1 Endringskontroll Idylla - Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi. SSK](#)
- [II.MSK.Pat.10.3.2.5.2-1 Verifisering av Idylla - Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi. SSK](#)
- [II.MSK.Pat.2.3.4.1-3 Service- og vedlikeholdsoppgaver i molpat lab. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK.](#)

Eksterne referanser:

 SØRLANDET SYKEHUS	Bruk av Biocartis Idylla plattform for molekylær testing. Molekylærpatologi. Histologisk enhet. Avd. for patologi SSK.				Side: 8 Av: 8
Dokumentplassering: II.MSK.Pat.2.3.4.1-2	Utarbeidet av: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Fagansvarlig: Fagbioingeniør Mahsa Fakhraee	Godkjent dato: 19.01.2024	Godkjent av: Avdelingssjef Hilde Bjørnestøl Hansen	Revisjon: 4.00

Medisinsk serviceklinikk/Avd for patologi SSK/Pasienter og brukere/Histologisk enhet/Mol.pat.

Idylla TM KRAS Mutasjon Test, Bruksanvisning IVD BCT007559, Ref A0020. 02/2017

Idylla TM NRAS-BRAF Mutasjon Test, Bruksanvisning IVD BCT005568, Ref A0030. 12/2016

Idylla TM BRAF Mutasjon Test, Bruksanvisning IVD BCT005528, Ref A0010. 02/2016

Idylla TM EGFR Mutasjon Test, Bruksanvisning IVD BCT007551, Ref A0060. 06/2017

Idylla TM Brukerhåndbok, Biocartis. 12/2016