



16 gennaio 2018

**Avviso di sicurezza urgente: Kit *therascreen* KRAS Pyro (24) CE (RIF 971460), Kit *therascreen* BRAF Pyro (24) CE (RIF 971470), Kit *therascreen* EGFR Pyro (24) CE (RIF 971480), Kit *therascreen* GIST RapidScreen Pyro (RIF 971510), Kit *therascreen* NRAS Pyro (24) CE (RIF 971530), Kit *therascreen* RAS Extension Pyro (RIF 971590), Reagenti PyroMark Gold Q24 (5 x 24) CE (RIF 971802)**

Egregio cliente del Pirosequenziamento *therascreen*,

con il presente avviso di sicurezza urgente La informiamo che abbiamo riscontrato un maggior numero di casi con rapporti alterati nei modelli di picco dei Pirogrammi per i test di Pirosequenziamento di *therascreen*. L'uso dei LOTTI di prodotti sotto elencati è associato ad un'elevata mancanza di validità e percentuale di ripetizione dei test.

Inoltre l'uso dei LOTTI di prodotti sotto elencati crea anche un alto rischio di risultati falsi positivi A59T per l'analisi del Pirosequenziamento del NRAS codone 59 con il kit *therascreen* RAS Extension Pyro (RIF 971590).

Per altre mutazioni nel kit *therascreen* RAS Extension Pyro o altri kit *therascreen* Pyro non risultano rischi aumentati di tali risultati falsi positivi.

Secondo le nostre indagini, il problema è collegato a certi LOTTI di reagenti PyroMark Q24 Gold (N. mat. 1055272) sotto elencati. Questi sono contenuti in numerosi LOTTI della confezione di tamponi e reagenti *therascreen* Pyro (N. mat. 1063948) consegnata con i kit IVD *therascreen* Pyro con marcatura CE elencati all'inizio. Tutti i LOTTI dei prodotti sono stati immessi sul mercato in conformità con le specifiche del controllo qualità.

Dai dati in nostro possesso ci risulta che Lei ha ricevuto almeno un kit dei LOTTI di prodotti interessati.

#### Prospetto del materiale interessato

Materiale	LOTTO	Contenuto in	LOTTI
PyroMark Gold Q24 Reagents (Mat. No. 1055272) )	157010641	<i>therascreen</i> Pyro Buffers and Reagents (Mat. No. 1063948)	157013230, 157013013
	157025615		157027507
	157027017		157028499, 157028495, 157030047
	157030977		157035803, 157033230

PROM-11774-001

### **Descrizione del problema**

Nelle analisi di Pirosequenziamento eseguite con il materiale interessato, il rapporto dell'altezza di picco per i picchi dATP nei Pirogrammi viene incrementato artificialmente, mentre parallelamente l'altezza di picco per dGTP può diminuire. Questo può provocare un rapporto alterato delle altezze di picco e condurre ad una determinazione non corretta delle frequenze di mutazione degli alleli. Se la frequenza di mutazione degli alleli determinata supera il limite di rilevazione (limit of detection, LOD), ciò può causare un erroneo richiamo manuale o automatico delle relative "potenziali mutazioni di basso livello" o in alcuni casi di una "mutazione" da parte del software del Pirosequenziamento. L'errore può influenzare ulteriormente il punteggio della qualità tramite i relativi algoritmi del software del Pirosequenziamento. L'errore interessa indistintamente i controlli degli alleli wild type (wild type, WT) e i campioni sconosciuti. A quanto sappiamo, per tutti i test eccetto NRAS59, ciò non porta ad una percentuale potenzialmente maggiore di falsi positivi nella valutazione dei risultati del Pirosequenziamento secondo le relative Istruzioni per l'uso, tuttavia in questi casi si può verificare per tutti i test una maggiore necessità di ripetere il test.

Per i risultati di "mutazione" delle mutazioni del NRAS codone 59 (A59T) nei LOTTI interessati: la probabilità di richiamare una mutazione A59T con frequenze di mutazione degli alleli al di sotto del 15% aumenta, mentre il controllo dei WT è valido (nessuna mutazione rilevata) e il punteggio della qualità non viene compromesso.

### **Azioni che devono essere intraprese dal cliente/utente**

- La preghiamo di assicurarsi che vengano usati i relativi rapporti Plug-in dei test per l'interpretazione automatica dei risultati. Questi Plug-in forniscono anche esempi di Pirogrammi per facilitare l'individuazione delle deviazioni nel modello di picco. È possibile recuperare i Plug-in aggiornati direttamente sul nostro sito aziendale QIAGEN (<https://www.qiagen.com/>) sulla/e pagina/e relativa/e ai prodotti, andando sulla scheda "Product Resources" (Risorse prodotti) nella sezione "Analysis Software" (Software di analisi).
- **Se è in possesso di scorte appartenenti ai LOTTI interessati**, smetta di utilizzarle. La preghiamo di contattare il nostro servizio di assistenza tecnica per la sostituzione gratuita dei LOTTI di reagenti Pyromark Gold. La preghiamo di fornire il numero di LOTTO del Pyromark Gold insieme al n. di RIF e al nome del kit *therascreen*. La preghiamo di fornire anche un esempio di file delle analisi di pirosequenziamento con controlli di campioni sconosciuti e WT etichettati in conformità.
- **Se ha già utilizzato i LOTTI interessati**, Le consigliamo vivamente di riesaminare i risultati corrispondenti. Al fine di identificare il rapporto dei picchi alterati nelle sue analisi di Pirosequenziamento, La preghiamo di usare i seguenti criteri.

- Un numero più alto del solito di campioni di DNA di controllo dei WT oltre il limite di rilevazione, che provoca una potenziale mutazione di basso livello o una mutazione, è indicativo di errore.
- Un numero più alto del solito di campioni segnalati con valutazione di qualità compromessa, come “check” (controllo) o “failed” (fallito), secondo l'algoritmo di punteggio automatico del software, è indicativo di errore.
- Una frequenza di rilevazione di “potenziale mutazione di basso livello” o di “mutazione” più alta della media richiama campioni sconosciuti rispetto alla naturale prevalenza di questa mutazione fra la malattia del cancro e il carattere etnico indagato. La prevalenza naturale di alcune mutazioni analizzate con i test di Pirosequenziamento può essere al di sotto del 5%. Una maggiore frequenza di richiami di mutazione per tali varianti rare (ad esempio numerosi di questi richiami in un breve periodo di tempo) può essere indicativa della presenza di un problema.
- Il richiamo di varie (2 o più) “mutazioni” o “potenziali mutazioni di basso livello” in codoni diversi dello stesso gene appartenenti allo stesso campione, può essere indicativo della presenza di un problema.

Nel caso in cui Lei riesca ad individuare il problema grazie ad uno o vari dei criteri di cui sopra, Le consigliamo vivamente di eseguire una rivalutazione dei risultati di Pirosequenziamento interessati. La preghiamo di seguire rigorosamente l'interpretazione dei risultati delle analisi come descritto nelle relative Istruzioni per l'uso dei kit *therascreen* Pyro e di prestare attenzione alle osservazioni e alle relative azioni sotto riportate.

Rivalutazione	Osservazione	Azione per campioni con un richiamo di mutazione A59T al di sotto della frequenza di mutazione del 15% in NRAS59	Azione per tutti gli altri test <i>therascreen</i>
1. Rivalutazione dei controlli dei WT indipendente dal risultato di mutazione per un campione sconosciuto	La frequenza di mutazione rilevata per qualunque DNA di controllo dei WT in un'analisi è al di sopra del limite di rilevazione. Questo provoca un richiamo di potenziale mutazione di basso livello o mutazione per questo controllo dei WT.	In conformità con le Istruzioni per l'uso, l'analisi non è valida per questo test. Per qualsiasi ripetizione dei test La preghiamo di usare i LOTTI di reagenti PyroMark Q24 Gold mandati in sostituzione.	In conformità con le Istruzioni per l'uso, l'analisi non è valida per questo test. Per qualsiasi ripetizione dei test La preghiamo di usare i LOTTI di reagenti PyroMark Q24 Gold mandati in sostituzione.
2. Rivalutazione dei campioni sconosciuti con frequenze di mutazione degli alleli comprese fra il limite di rilevazione e la frequenza di mutazione del 15% ma con risultati di controllo dei WT validi	1) I picchi misurati nel Pirogramma non corrispondono all'altezza delle barre dell'istogramma e ciò non può essere spiegato con mutazioni rare o inattese. Se sta usando i Plug-in per i rapporti automatici, può confrontare ogni singolo Pirogramma	Considerare una maggiore possibilità di risultati falsi positivi. Confermare tutti i risultati A59T “mutazione” e “potenziale mutazione di basso livello” positivi al di sotto della frequenza di alleli del 15% e per i quali è applicabile almeno una delle osservazioni, ripetendo i test	Se analizzati in conformità con le Istruzioni per l'uso, non è necessario ripetere ulteriori test per conferma.

	<p>con un esempio di Pirogramma per individuare tali deviazioni.</p> <p>2) Un maggiore background per una mutazione come rilevato dalle frequenze degli alleli per il DNA di controllo dei WT fra il limite di bianco (LOB) e il limite di rilevazione come elencato nel manuale per questa mutazione.</p>	<p>con i LOTTI di reagenti Pyromark Gold mandati in sostituzione. Se non è possibile ripetere i test, valutare ogni caso singolarmente.</p>	
--	--	---	--

- La invitiamo ad esaminare il presente avviso con il Suo direttore medico / di laboratorio.
- **IMPORTANTE:** condivida queste informazioni con tutti quei collaboratori e quei reparti della sua struttura che utilizzano i kit sopra elencati. Se non è Lei l'utente finale, inoltri questa comunicazione all'utente finale del prodotto. I partner commerciali sono pregati di inoltrare il presente avviso ai propri clienti.
- La preghiamo di smaltire il prodotto interessato conformemente alle regolamentazioni nazionali e locali in materia di sicurezza e tutela ambientale.
- Compili la Conferma di ricezione allegata a questa lettera
- Partner commerciali:
  - interrompere la distribuzione dei prodotti elencati nel presente avviso
  - inoltrare il presente avviso ai propri clienti
  - dare seguito alla Conferma di ricezione con i propri clienti

### **Come compilare la Conferma di ricezione**

Per essere certi che la notifica sia pervenuta a tutti gli utenti interessati e per soddisfare le clausole obbligatorie nazionali applicabili, siamo tenuti a fornire alle autorità prova di notifica effettuata sul mercato. La invitiamo quindi a compilare e firmare la Conferma di ricezione e ad inviare il modulo entro il 29 gennaio 2018 al seguente indirizzo e-mail: **quality.communications@qiagen.com**.

### **Cos'ha fatto QIAGEN**

Le rimanenti scorte del materiale interessato sono state bloccate in tutti i magazzini QIAGEN. Come azione correttiva immediata, è stato inserito un test di controllo qualità supplementare per tutti i LOTTI di reagenti PyroMark Gold. La causa alla base del problema è attualmente oggetto d'indagine.

---

Ci scusiamo per qualsiasi inconveniente causato e La ringraziamo anticipatamente per la comprensione e cortese collaborazione.

Per eventuali domande, contattare il rappresentante locale dell'Ufficio Assistenza Tecnica QIAGEN.

Per le informazioni sui contatti vedere le pagine web seguenti.

Filiali QIAGEN: <https://www.qiagen.com/about-us/contact/global-contacts/subsidiaries/>

Partner commerciali e importatori QIAGEN:

<https://www.qiagen.com/about-us/contact/global-contacts/distributors-and-importers/>

Distinti saluti,

QIAGEN

**Avviso di sicurezza urgente: Kit *therascreen* KRAS Pyro (24) CE (RIF 971460), Kit *therascreen* BRAF Pyro (24) CE (RIF 971470), Kit *therascreen* EGFR Pyro (24) CE (RIF 971480), Kit *therascreen* GIST RapidScreen Pyro (RIF 971510), Kit *therascreen* NRAS Pyro (24) CE (RIF 971530), Kit *therascreen* RAS Extension Pyro (RIF 971590), Reagenti PyroMark Gold Q24 (5 x 24) CE (RIF 971802)**

**Conferma di ricezione**

(La preghiamo di completare il modulo scrivendo in stampatello maiuscolo e di indicare con una "X" di aver seguito ciascuna delle istruzioni)

Abbiamo adottato le misure necessarie suggerite da tale avviso:

- Non abbiamo utilizzato le scorte rimanenti dei LOTTI interessati.
- Se abbiamo già utilizzato i LOTTI interessati, abbiamo riesaminato i risultati corrispondenti.
- Abbiamo considerato la ripetizione di test dei campioni di mutazione A59T con frequenze di mutazione al di sotto del 15%.
- Abbiamo esaminato il presente avviso con il nostro direttore medico / di laboratorio.
- Le informazioni sono state prontamente condivise con tutti i collaboratori e i reparti della nostra struttura che utilizzano questi prodotti.
- Abbiamo smaltito il prodotto interessato conformemente alle regolamentazioni nazionali e locali in materia di sicurezza e tutela ambientale.
- Partner commerciali: abbiamo interrotto la distribuzione dei prodotti interessati. Queste informazioni sono state condivise con i nostri clienti/partner. Abbiamo dato seguito alla Conferma di ricezione con i nostri clienti.

Nome del laboratorio:	
Indirizzo:	
Referente:	Qualifica:
Indirizzo e-mail:	Numero di telefono:
Firma:	Data: