

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4

REF GXBCSTRAT4-CE-10

Gebrauchsanweisung

IVD CE

Marken-, Patent- und Urheberschutzangaben

Cepheid[®], das Cepheid-Logo, GeneXpert[®] und Xpert[®] sind Marken von Cepheid, die in den USA und anderen Ländern eingetragen sind.

Alle anderen Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

MIT DEM ERWERB DIESES PRODUKTS WIRD DEM KÄUFER DAS NICHT ÜBERTRAGBARE RECHT ZU SEINER VERWENDUNG ENTSPRECHEND DER VORLIEGENDEN GEBRAUCHSANWEISUNG GEWÄHRT. ES WERDEN KEINE ANDEREN RECHTE ÜBERTRAGEN, WEDER AUSDRÜCKLICH NOCH STILLSCHWEIGEND ODER DULDEND. DARÜBER HINAUS GEHT AUS DEM ERWERB DIESES PRODUKTS KEIN RECHT DES WEITERVERKAUFS HERVOR.

© 2017-2023 Cepheid.

Beschreibung der Änderungen siehe Revisionsverlauf.

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4

In-vitro-Diagnostikum

1 Markenname

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4

2 Gebräuchlicher oder üblicher Name

Xpert Breast CA STRAT4

Xpert BC STRAT4

3 Verwendungszweck

Der Xpert Breast Cancer STRAT4-Test ist ein semiquantitativer Assay nach dem Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion, mit qualitativen Grenzwerten für Östrogenrezeptor (*ESR1*), Progesteronrezeptor (*PGR*), humanen epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor 2 (*ERBB2/HER2*) und Proliferationsmarker Ki-67 (*MKi67*) mRNAs, die aus formalinfixiertem, paraffineingebettetem (FFPE) invasivem Brustkrebsgewebe isoliert werden. Die RNA wird aus einem tumorangereicherten Areal des Mikroskop-Gewebeschnitts (entsprechend der Identifikation durch einen Pathologen) extrahiert. Der Test soll in Kombination mit anderen klinischen und Labordaten verwendet werden, um Brustkrebsgewebe in Bezug auf seinen Hormonrezeptorstatus, den HER2-Rezeptorstatus und den Proliferationsmarkerstatus zu klassifizieren. Der Test ist zur Verwendung mit dem GeneXpert[®]-System bestimmt und umfasst die Isolierung der RNA aus dem FFPE Gewebe, sowie die Amplifikation und den Nachweis von Zielsequenzen innerhalb der Kartusche.

Der Xpert Breast Cancer STRAT4-Test ist nicht für folgende Zwecke bestimmt:

- Prädiktor für die Schwere der Erkrankung
- Eigenständiges Produkt für einen Diagnosetest auf Mammakarzinom
- Ein Prognostikator für Krankheitsrezidiv

Indikationen: Der Test ist zur Verwendung bei der Beurteilung der mRNA-Spiegel von *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* und *MKi67* in invasiven Mammakarzinomgeweben bestimmt, die von Patientinnen stammen und als FFPE-Proben vorbereitet wurden, sowie als Hilfe bei der klinischen Bewertung in Verbindung mit anderen Labordaten.

4 Zusammenfassung und Erklärung

Brustkrebs ist einer der häufigsten Krebse bei Frauen weltweit, mit etwa 1,7 Millionen neuen Brustkrebsfällen jedes Jahr.¹ In Europa werden jährlich etwa 494.000 neue Fälle diagnostiziert und 143.000 Patientinnen werden an ihrer Krankheit sterben. In den USA wurden etwa 200.000 neue Fälle von invasivem Brustkrebs im Jahr 2015 diagnostiziert.² Brustkrebs ist die häufigste Ursache für die Krebsmortalität bei Frauen in Entwicklungsländern und die zweithäufigste Ursache der Krebsmortalität (nach Lungenkrebs) bei Frauen in den entwickelten Ländern.²

Bei Frauen ist Brustkrebs die am häufigsten diagnostizierte Krebsart und nach Angaben der WHO im Jahr 2020 die häufigste krebsbedingte Todesursache.¹ Die Brustkrebs-Mortalität ist seit 1990 um 34 Prozent zurückgegangen, was vor allem auf eine verbesserte Behandlung und Früherkennung zurückzuführen ist.³ Messungen von ER und PR-Protein-Expression sind prognostisch für Brustkrebs-Ergebnisse und sie prognostizieren Reaktion auf Tamoxifen und andere hormonelle Therapien.^{4,5,6,7} HER2 Überexpression vermittelt eine ungünstige Prognose bei Frauen mit Brustkrebs; noch wichtiger ist jedoch, dass die Reaktion auf Trastuzumab oder andere HER2-zielgerichtete Therapien durch HER2 (*ERBB2*) Protein-Überexpression oder HER2-Gen-Amplifikation vorhergesagt wird.⁸ Der Marker der Proliferation Ki-67 (*MKi67*) wurde weitgehend in retrospektiven Studien mit Brustkrebspatienten untersucht⁹ und gilt als wichtiger Indikator für

den Bedarf einer Chemotherapie.¹⁰ Meta-Analysen haben gezeigt, dass er mit schlechteren Überlebensergebnissen bei frühem Brustkrebs assoziiert ist.¹¹ Angesichts ihrer Bedeutung bei der Auswahl eines wirksamen Behandlungsschemas für einen Patienten mit Brustkrebs empfehlen die Behandlungsrichtlinien der Europäischen Gesellschaft für medizinische Onkologie (ESMO), dass alle primären Brustkarzinome zur Zeit der Diagnose auf ER, PR, HER2 (ERBB2) und Ki67 getestet werden.¹²

Die Messung der ER-, PR-, HER2- und Ki67-Proteinexpression erfolgt üblicherweise mittels Immunhistochemie (IHC). Für HER2-Expression ist IHC typischerweise der als erster durchgeführte Test und die Ergebnisse werden auf einer Skala von 0 bis 3+ berichtet. Wenn das Ergebnis für die HER2-Expression (2+) zweideutig ist, wird die Probe auf einen HER2 in-situ-Hybridisierungsassay (ISH-Assay), wie Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) oder chromogene-in-situ-Hybridisierung (CISH), die nach HER2-Gen-Verstärkung sucht, gespiegelt.¹³ Ein hohes Maß an Variabilität der Ergebnisse wurde für IHC und ISH gezeigt, wenn sie über Laboratorien verglichen wurden, was vor allem auf Unterschiede in den für IHC verwendeten Antikörpern, sowie der Subjektivität von Interpretationsmethoden zurückzuführen ist.¹⁴

Der Xpert Breast Cancer STRAT4-Test ist ein in-vitro-Diagnostest, der zur Bestimmung der mRNA-Expressionsniveaus von *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* und *MKi67* verwendet wird, die aus FFPE-Proben von invasivem Brustkrebsgewebe isoliert wurden.

Der Assay wird in einer in sich geschlossenen Kartusche nach einem kurzen, separaten Probenlysat-Vorbereitungsschritt durchgeführt, der weniger als 15 Minuten hands-on-time mit einer Gesamtlaufzeit von weniger als 2 Stunden erfordert.

5 Verfahrensprinzip

Der Xpert Breast Cancer STRAT4-Test ist ein Assay nach dem Prinzip der -Polymerase-Kettenreaktion (PCR) für den Nachweis von *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* und *MKi67* mRNA, die aus formalinfixiertem, paraffineingebettetem (FFPE), invasivem Brustkrebsgewebe isoliert werden. Der Assay wird auf den Cepheid GeneXpert-Instrumentensystemen durchgeführt. Die GeneXpert Instrumentensysteme führen eine automatisierte und integrierte Probenreinigung, Nukleinsäureamplifikation und Nachweis der Zielsequenzen anhand von Echtzeit-RT-PCR an einfachen und komplexen Proben durch. Die Systeme bestehen aus einem Instrument, einem Barcodescanner, einem Computer und einer vorinstallierten Software zur Durchführung der Tests und zum Anzeigen der Ergebnisse. Die Systeme arbeiten mit wegwerfbaren Einweg-GeneXpert-Kartuschen, die die RT-PCR-Reagenzien enthalten und in denen das RT-PCR-Verfahren abläuft. Eine vollständige Beschreibung der Systeme finden Sie im entsprechenden Benutzerhandbuch für das GeneXpert-Instrumentensystem.

Der Xpert Breast Cancer STRAT4-Test enthält Reagenzien für den simultanen Nachweis von *ESR1*, *PGR*, *ERBB2*, *MKi67*, ein Referenzgen für das cytoplasmische mit *FMR1* interagierende Protein 1 (*CYFIP1*), einer internen RT-PCR-Kontrolle (*CIC*) und einer internen Sondenprüfungskontrolle (*PCC*). Das Referenzgen überprüft die Probenadäquanz und wird zur Normalisierung der mRNA-Expressionspiegel für *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* und *MKi67* verwendet. Die interne RT-PCR-Kontrolle (*CIC*) dient zur Bestätigung, dass die RT-PCR-Reaktion korrekt abgelaufen ist. Die *PCC* verifiziert die Rehydrierung der Reagenzienkügelchen, Füllung des RT-PCR-Behälters, Unversehrtheit der Sonden und Stabilität des Farbstoffs in der Kartusche. Insgesamt verwendet der Assay sechs verschiedene Fluoreszenzkanäle für den Nachweis der Zielsequenzen bzw. Kontrollen/Referenzen, die jeweils eigene Grenzwertparameter für die Gültigkeit der Zielsequenz/Kontrolle/Referenz aufweisen.

FFPE-Proben müssen zunächst mit dem Xpert® FFPE Lysis Kit bearbeitet werden, indem ein Gewebeschnitt von 4-5 µm (Mikron) präpariert wird, bei dem das FFPE-Gewebe ggf. zuerst makrodisseziert wird, um das Areal des invasiven Tumors anzureichern, und anschließend abgeschabt und zusammen mit den empfohlenen Volumina von FFPE Lysereagenz und Proteinase K in ein Röhrchen gegeben wird. Anschließend wird die Lösung in einem Heizblock bei 80 °C 30 Minuten lang inkubiert. Daraufhin wird Ethanol mit der Probe vermischt und das empfohlene Volumen des vorbereiteten Probenlysats direkt in eine Testkartusche gegeben. Die Testkartusche wird in ein Modul eines GeneXpert-Instrumentensystems gestellt, in dem die Aufreinigung, Amplifikation und Echtzeit-Detektion der Nukleinsäuren vollautomatisch und vollständig integriert vom System durchgeführt werden. Alle Reagenzien, die für die Onboard Probenvorbereitung und die RT-PCR Analyse erforderlich sind, sind in der Kartusche vorgeladen. Im Lysat enthaltene Nukleinsäuren werden auf einem Filter eingefangen, gewaschen und durch Beschallung eluiert. Die gereinigte Nukleinsäure wird mit trockenen RT-PCR-Reagenzien gemischt und die Lösung wird in den Reaktionsbehälter für die RT-PCR und den Nachweis überführt. Die Zeit bis zum Ergebnis beträgt im GeneXpert etwa 75 Minuten.

Die Nachweisgrenzwerte, die der Xpert Breast Cancer STRAT4-Test in den einzelnen Fluoreszenzkanälen verwendet, wurden hinsichtlich einer maximalen positiven, negativen und gesamtprozentualen Übereinstimmung im Vergleich zu IHC bzw. IHC/FISH Ergebnissen im Referenzlabor, für die jeweilige Zielsequenz festgelegt. IHC für ER, PR, Ki67 und HER2 sowie FISH für HER2 wurden entsprechend den Anweisungen in den Gebrauchsanweisungen bearbeitet und bewertet. Die Interpretation der Ergebnisse erfolgte gemäß den ASCO/CAP-Richtlinien von 2013.¹⁵ Tumore wurden als ER- bzw. PRIHC-positiv eingestuft, wenn $\geq 1\%$ invasive Tumorzellen eine eindeutige Zellkernfärbung aufwiesen, ungeachtet der Intensität der Färbung. Die HER2-Expression wurde mit dem HercepTest (IHC) Kit (Dako) bewertet und ein Score

von 0, 1+, 2+ oder 3+ vergeben. Tumore mit dem Score 2+ wurden einem HER2-FISH-Reflextest zugeführt, wobei das PathVysion HER2-DNA-Sondenkit (Vysis-Abbott, Chicago, IL, USA) zum Einsatz kam. Die Fälle wurden als HER2-positiv angesehen, wenn sie einen Score von 3+ mittels IHC erreichten und/oder mittels FISH amplifiziert wurden (definiert als HER2:CEP17-Verhältnis $\geq 2,0$) und/oder eine durchschnittliche HER2-Kopienzahl von $\geq 6,0$ Signalen/Zelle gemäß dem „ASCO/CAP Clinical Practice Guideline Update for HER2 Testing in Breast Cancer“ von 2013 aufwiesen.¹⁵ Für Ki67 wurden die Tumore als positiv (hoch) eingestuft, wenn ≥ 20 % der invasiven Tumorzellen eine definitive Kernfärbung zeigten, unabhängig von der Färbeintensität.

Für die Referenzgen-Kontrolle und die interne RT-PCR-Kontrolle definieren die Nachweisgrenzwerte jeweils einen Bereich zwischen einem minimalen und einem maximalen Schwellenwert-Zyklus-PCR-Wert (Cycle threshold, Ct), der ein gültiges Ergebnis, einen ausreichenden minimalen Probeneinsatz und die Abwesenheit einer PCR-Hemmung bestimmt. Für die Zielsequenzen ESR1, PGR, ERBB2 und MKi67 werden die Nachweisgrenzwerte durch Delta-Schwellenzykluswerte (dCt) (Referenzgen-Ct minus Zielgen-Ct) definiert, die das Ergebnis POSITIV (POSITIVE) oder NEGATIV (NEGATIVE) für eine bestimmte Zielsequenz in einem Kanal festlegen.

6 Reagenzien und Instrumente

6.1 Im Lieferumfang enthaltenes Material

Das Xpert Breast Cancer STRAT4-Kit enthält genügend Reagenzien für die Bearbeitung von 10 Qualitätskontrollproben oder mit dem Xpert FFPE Lysis Kit (Bestellnr. GXFFPE-LYSIS-CE-10) vorbereiteten FFPE-Lysaten. Das Xpert Breast Cancer STRAT4-Kit enthält die folgenden Artikel:

Xpert Breast Cancer STRAT4-Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern	10
<ul style="list-style-type: none"> • Kügelchen 1, 2 und 3 (gefriergetrocknet) • Spülreagenz, • Elutionsreagenz, 	<ul style="list-style-type: none"> 1 pro Kartusche 1,0 ml pro Kartusche 2,0 ml pro Kartusche
CD	1 pro Kit
<ul style="list-style-type: none"> • Assay-Definitionsdatei (ADF) • Gebrauchsanweisung • ONCore Testberichtdateien 	

Anmerkung

Sicherheitsdatenblätter (SDB) sind auf den Webseiten www.cepheid.com oder www.cepheidinternational.com unter dem Register **SUPPORT** erhältlich.

Anmerkung

Das bovine Serumalbumin (BSA) in den Kügelchen dieses Produkts wurde ausschließlich aus bovinem Plasma gewonnen und hergestellt, das aus den USA stammt. Die Tiere erhielten keinerlei Wiederkäuer- oder anderes Tierprotein mit dem Futter und wurden ante- und post-mortem Tests unterzogen. Bei der Verarbeitung wurde das Material nicht mit anderen Tiermaterialien vermischt.

7 Aufbewahrung und Handhabung

- Den Inhalt des Xpert Breast Cancer STRAT4-Kits bei 2–28 °C aufbewahren.
- Öffnen Sie den Deckel der Kartusche erst, wenn Sie bereit sind, die Testung durchzuführen.
- Die Kartuschen innerhalb von 30 Minuten nach Öffnen des Deckels verwenden.
- Keine leckenden Kartuschen verwenden.

8 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- Xpert FFPE Lysis Kit (Bestellnr. GXFFPE-LYSIS-CE-10) für die Vorbereitung des FFPE-Lysats. Dieses Kit besteht aus FFPE-Lysereagenz, Proteinase K (PK), Röhrchen zu je 1,5 ml und Fläschchen zu je 5 ml.
- Vortex-Mixer.
- Für ein Pipettiervolumen von 600 µl, 1,2 µl und 520 µl geeignete Pipetten und Aerosolfilter-Pipettenspitzen.
- Computer mit spezieller GeneXpert-Software, Version 4.7b oder höher, oder Xpertise 6.4b oder höher, Barcodescanner und Benutzerhandbuch für das jeweilige GeneXpert-Instrumentensystem.
- Drucker: Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an den technischen Kundendienst von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.

9 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur zum Gebrauch als *In-vitro*-Diagnostikum.
- Alle biologischen Proben sollten so behandelt werden, als ob sie in der Lage wären, infektiöse Substanzen zu übertragen. Alle Humanproben sollten mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden. Richtlinien zur Handhabung von Proben sind erhältlich bei der Weltgesundheitsorganisation oder bei den US-amerikanischen Centers for Disease Control and Prevention.
- Es sind die Sicherheitsverfahren der jeweiligen Institution für den Umgang mit Chemikalien und die Handhabung von biologischen Proben zu beachten.
- Die Leistungsmerkmale dieses Tests wurden mit den in Abschnitt 3 aufgeführten Probentypen ermittelt. Die Leistung dieses Assays bei Verwendung anderer Probentypen oder Proben wurde nicht untersucht.
- FFPE-Gewebe muss mit dem Xpert FFPE Lysis Kit (Bestellnr. GXFFPE-LYSIS-CE-10) bearbeitet werden.
- Das unvollständige Entfernen (Abschaben) des Tumorareals vom Objektträger zur Vorbereitung des FFPE-Lysats kann zu einer unzureichenden Menge an Material für den Assay und somit zu einer höher als erwarteten Rate unbestimmter/ungültiger Ergebnisse mit dem Xpert Breast Cancer STRAT4-Test führen.
- Der Deckel der Xpert Breast Cancer STRAT4-Kartusche darf nur für die Zugabe des vorbereiteten FFPE-Lysats geöffnet werden.
- Keine Kartuschen verwenden, die nach der Entnahme aus der Verpackung fallen gelassen wurden.
- Die Kartusche nicht schütteln. Wenn die Kartusche nach dem Öffnen des Kartuschendeckels geschüttelt oder fallen gelassen wird, sind die Ergebnisse möglicherweise ungültig.
- Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- Jede Xpert Breast Cancer STRAT4-Einwegkartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests. Benutzte Kartuschen dürfen nicht wiederverwendet werden.
- Kartuschen, die nass aussehen oder deren Deckelversiegelung aufgebrochen zu sein scheint, dürfen nicht verwendet werden.
- Das Etikett mit der Proben-ID nicht auf den Kartuschendeckel oder über das Barcode-Etikett kleben.
- Um eine Kontamination der Patientenproben oder Reagenzien zu vermeiden, werden die Einhaltung der Guten Laborpraxis und Handschuhwechsel nach Handhabung jeder Patientenprobe empfohlen.
- Konsultieren Sie das Personal für umweltgerechte Abfallentsorgung in Ihrer Institution für die ordnungsgemäße Entsorgung gebrauchter Kartuschen und unbenutzter Reagenzien. Überprüfen Sie die Richtlinien Ihres Bundesstaates, des Hoheitsgebiets und Standortes, da sich diese möglicherweise von den bundesweiten Entsorgungsrichtlinien unterscheiden. Dieses Material weist möglicherweise Merkmale von Sondermüll auf und muss entsprechend entsorgt werden. Einrichtungen sollten die jeweiligen Vorschriften zur Entsorgung von Sondermüll beachten.

10 Chemische Gefahren^{16,17}

Nach dem global harmonisierten System zur Einstufung und Kennzeichnung (GHS) gilt dieses Produkt nicht als gefährlich.

11 Entnahme, Transport und Aufbewahrung der Proben

- Nur mit FFPE-Proben verwenden, die mit dem Xpert FFPE Lysis Kit (Bestellnr. GXFFPE-LYSIS-CE-10) bearbeitet wurden. Die ASCO/CAP-Richtlinien¹⁵ zur Vorbereitung von FFPE-Gewebe befolgen.
- Das FFPE-Lysat sollte aus dem FFPE-Tumorblock mit dem größten Areal an geeignetem Mammakarzinom (mindestens 30 % Tumorzellularität) präpariert und ggf. eine manuelle Makrodissektion vorgenommen werden, bevor der Test mit dem Xpert Breast Cancer STRAT4-Test durchgeführt wird. Bei Tumorproben unter 10 mm² mit weniger als 30 % Tumor kann es für gültige Ergebnisse erforderlich sein, das Verfahren mit konzentriertem Lysat anzuwenden oder mehrere Schnitte von 4–5 µm einzusetzen.
- Das FFPE-Lysat sollte bei 2–8 °C ins Labor transportiert werden.
- FFPE-Lysat ist vor dem Test mit dem Xpert Breast Cancer STRAT4 bis zu 1 Woche bei 2–8 °C oder 4 Wochen bei ≤ -20 °C stabil. Eine langfristige Lagerung muss bei -80 °C erfolgen. Empfohlen wird höchstens 1 Einfrier-Auftau-Zyklus. Beim Auftauen bitte auf Raumtemperatur auftauen und FFPE-Lysat 15 Sekunden vor dem Gebrauch vortexen.

12 Verfahren

Wichtig Die Verwendung der Xpert Breast Cancer STRAT4-Kartusche setzt voraus, dass mit dem Xpert FFPE Lysis Kit (Bestellnr. GXFFPE-LYSIS-CE-10) ein Lysat vorbereitet wurde.

Wichtig Der Assay muss innerhalb von 30 Minuten nach der Zugabe der vorbereiteten Probe zur Kartusche begonnen werden.

12.1 Vorbereitung des FFPE-Lysats

Das FFPE-Lysat gemäß der Gebrauchsanweisung zum FFPE Lysis Kit vorbereiten.

12.2 Vorbereitung der Kartusche

1. Die Kartusche aus der Kartonverpackung nehmen.
2. Das FFPE-Lysat vor der Verwendung 15 Sekunden lang im Vortexer mischen.
3. Öffnen Sie den Kartuschendeckel.
4. Mit einer Pipette 520 µl FFPE-Lysat in die Probenkammer der Kartusche transferieren. (Bitte beachten, dass eine kleine Menge Niederschlag vorhanden sein kann, die jedoch die Leistungsfähigkeit des Assays nicht beeinträchtigt.)

Das verbleibende FFPE-Lysat für einen eventuellen Wiederholungstest bei 2–8 °C bzw. ≤ -20 °C aufbewahren.



Abbildung 1. Xpert Breast Cancer STRAT4-Kartusche (Draufsicht)

5. Den Kartuschendeckel schließen. Sicherstellen, dass der Deckel fest eingerastet ist.

12.3 Testbeginn

Wichtig Bevor der Test gestartet wird, ist sicherzustellen, dass die Assay-Definitionsdatei (ADF) für Xpert Breast Cancer STRAT4 in die Software importiert wurde.

In diesem Abschnitt werden die Standardschritte bei der Bedienung des GeneXpert-Systems beschrieben. Detaillierte Anweisungen finden Sie im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*, je nachdem, welches Instrument Sie verwenden.

Anmerkung Die zu befolgenden Schritte können unterschiedlich sein, falls der Standard-Arbeitsablauf des Systems vom Systemadministrator geändert wurde.

1. Schalten Sie das GeneXpert-Instrument ein:

- Schalten Sie bei Verwendung des GeneXpert Dx-Instruments zuerst das GeneXpert Dx-Instrument und dann den Computer ein. Die GeneXpert-Software startet automatisch oder muss eventuell durch einen Doppelklick auf das Symbol für die GeneXpert Dx-Software auf dem Windows®-Desktop gestartet werden.

oder

- Bei Verwendung des GeneXpert Infinity-Instruments das Instrument hochfahren. Die Xpertise-Software startet automatisch oder muss eventuell durch einen Doppelklick auf das Symbol für die Xpertise-Software auf dem Windows-Desktop gestartet werden.

2. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der Software des GeneXpert-Instrumentensystems an. Klicken Sie im GeneXpert Dx-Systemfenster auf „**Test erstellen**“ (**Create Test**) (GeneXpert Dx) oder klicken Sie auf **Anforderungen (Orders)** und **Test anfordern (Order Test)** (Infinity). Das Fenster „Test erstellen“ (Create Test) wird geöffnet.

3. Scannen oder tippen Sie die Proben-ID (Sample ID) ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Proben-ID (Sample ID). Die Proben-ID (Sample ID) ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) sowie in allen Berichten. Das Dialogfenster „Kartusche scannen“ (Scan Cartridge) erscheint.

4. Scannen Sie den Barcode der Xpert Breast Cancer STRAT4-Kartusche ein. Das Fenster „Test erstellen“ (Create Test) erscheint. Anhand der über den Barcode erhaltenen Informationen werden die folgenden Felder automatisch ausgefüllt: „Assay auswählen“ (Select Assay), „Reagenzchargen-ID“ (Reagent Lot ID), „Kartuschen-Seriennr.“ (Cartridge SN).

5. Klicken Sie auf „**Test starten**“ (**Start Test**) (GeneXpert Dx) oder **Absenden (Submit)** (Infinity). Geben Sie Ihr Kennwort ein, falls eine entsprechende Aufforderung angezeigt wird.

6. Bei Verwendung des GeneXpert Dx-Instruments:

- a) Öffnen Sie die Klappe des Instrumentenmoduls mit der grün blinkenden Leuchte und laden Sie die Kartusche.
- b) Schließen Sie die Klappe. Der Test beginnt und die grüne Leuchte hört auf zu blinken. Wenn der Test abgeschlossen ist, erlischt die Leuchte.
- c) Warten Sie, bis das System die Klappenverriegelung freigegeben hat, und öffnen Sie anschließend die Modulklappe. Nehmen Sie die Kartusche heraus.
- d) Verbrauchte Kartuschen müssen entsprechend den üblichen Praktiken Ihrer Einrichtung in einem geeigneten Proben-Abfallbehälter entsorgt werden. Siehe Abschnitt 9.

oder

Bei Verwendung des GeneXpert Infinity Systems stellen Sie die Kartusche auf das Förderband. Die Kartusche wird automatisch geladen, der Test wird ausgeführt, und die benutzte Kartusche wird in den Abfallbehälter gelegt.

13 Anzeigen und Drucken der Ergebnisse

In diesem Abschnitt sind die grundsätzlichen Schritte für Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse aufgelistet. Detailliertere Anweisungen zum Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse finden Sie im *GeneXpert Dx System-Benutzerhandbuch* oder im *GeneXpert Infinity System-Benutzerhandbuch*, je nachdem, welches Instrument Sie verwenden.

1. Klicken Sie auf das Symbol „**Ergebnisse anzeigen**“ (**View Results**), um die Ergebnisse anzuzeigen.
2. Klicken Sie nach Abschluss des Tests auf die Schaltfläche „**Bericht**“ (**Report**) im Bildschirm „Ergebnisse anzeigen“ (View Results), um eine Berichtdatei im PDF-Format anzuzeigen bzw. zu erstellen.

Anmerkung

Wenn Sie die ONCore-Software verwenden, um einen Bericht zu erstellen, lesen Sie bitte das GeneXpert ONCore Software Benutzerhandbuch auf der ONCore Benutzerhandbuch-CD, um Anweisungen zum Erstellen eines Berichts zu erhalten. Bitte beachten Sie auch die ONCore Bericht Anleitungen auf der Xpert Breast Cancer STRAT4 CD für Anleitungen zur Interpretation des ONCore Berichts für den Xpert Breast Cancer STRAT4-Test.

14 Qualitätskontrolle

Jeder Test enthält eine Referenzgen-Kontrolle (*CYFIP1*) und eine Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC).

- **CYFIP1-Kontrolle:** Dieses Referenzgen wird zur Normalisierung der Expressionsspiegel für *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* und *MKi67* verwendet. Es dient außerdem als Probenadäquanzkontrolle (Sample Adequacy Control, SAC), die sicherstellt, dass in der Probe genügend RNA enthalten ist. Für ein gültiges Testergebnis ist ein Mindestwert des *CYFIP1*-Signals erforderlich. Ein *CYFIP1*-Signal unterhalb des Mindestwerts oder ein negatives Signal bedeutet, dass die Probe nicht genügend RNA enthält.
- **CYFIP1 Alternative:** Dies ist eine doppelte *CYFIP1*-Kontrolle, die in dem Algorithmus verwendet wird, wenn der Delta-Schwellenzykluswert (dCt) von *PGR* oder *MKi67* unterhalb der Assay Grenzwert-Einstellung liegt. Für diese Ziele wird ein zusätzliches minimales *CYFIP1* Alternativsignal benötigt, um ein gültiges Testergebnis zu gewährleisten.
- **Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC):** Vor Beginn der PCR misst das GeneXpert-Instrumentensystem das Fluoreszenzsignal der Sonden, um die Rehydrierung der Kügelchen, Füllung des Reaktionsbehälters, Unversehrtheit der Sonden und Stabilität des Farbstoffs zu überprüfen. Die PCC hat den Test „bestanden“, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt.
- **Externe Kontrollen (nicht mitgeliefert):** Externe Kontrollen müssen in Übereinstimmung mit lokalen, bundesstaatlichen und bundesweiten Akkreditierungsvorschriften verwendet werden.

15 Interpretation der Ergebnisse

Die GeneXpert-Instrumentensysteme interpretieren die Ergebnisse automatisch anhand der gemessenen Fluoreszenzsignale und eingebauten Berechnungsalgorithmen. Die Ergebnisse werden auf den Registerkarten „Testergebnisse (Test Results)“ und „Analyt-Ergebnis (Analyte Result)“ im Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“ in Klartext angezeigt. Testergebnis und Analyt-Ergebnisse erscheinen auch im Testbericht. Die möglichen Ergebnisse werden in Tabelle 1 und Tabelle 2 gezeigt.

Tabelle 1. Alle möglichen Ergebnisse für den Xpert Breast Cancer STRAT4-Test

Angezeigte Ergebnisse	CYFIP1	CYFIP1-Alternative	CIC
<i>ESR1</i> POSITIV (<i>ESR1</i> POSITIVE)	BEST. (PASS)	POS oder NEG	POS oder NEG
<i>ESR1</i> NEGATIV (<i>ESR1</i> NEGATIVE)	BEST. (PASS)	POS oder NEG	POS oder NEG
<i>PGR</i> POSITIV (<i>PGR</i> POSITIVE)	BEST. (PASS)	POS oder NEG	POS oder NEG
<i>PGR</i> NEGATIV (<i>PGR</i> NEGATIVE)	BEST. (PASS)	POS	POS oder NEG
<i>ERBB2</i> POSITIV (<i>ERBB2</i> POSITIVE)	BEST. (PASS)	POS oder NEG	POS oder NEG
<i>ERBB2</i> NEGATIV (<i>ERBB2</i> NEGATIVE)	BEST. (PASS)	POS oder NEG	POS oder NEG
<i>MKi67</i> POSITIV (<i>MKi67</i> POSITIVE)	BEST. (PASS)	POS oder NEG	POS oder NEG
<i>MKi67</i> NEGATIV (<i>MKi67</i> NEGATIVE)	BEST. (PASS)	POS	POS oder NEG

Angezeigte Ergebnisse	CYFIP1	CYFIP1-Alternative	CIC
<i>PGR</i> NICHT FESTSTELLBAR (PGR INDETERMINATE)	BEST. (PASS)	NEG	POS oder NEG
<i>MKi67</i> NICHT FESTSTELLBAR (MKi67 INDETERMINATE)	BEST. (PASS)	NEG	POS oder NEG
TEST WIEDERHOLEN (REPEAT TEST)	BEST. (PASS)	POS oder NEG	NEG
UNGÜLTIG (INVALID)	DEFEKT (FAIL)	NEG	POS oder NEG
FEHLER (ERROR)	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)
KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)

Tabelle 2. Repräsentative Ergebnisse mit Xpert Breast Cancer STRAT4 und Auswertung

Ergebnis	Interpretation
<p>ESR1 POSITIV (ESR1 POSITIVE) Siehe Abbildung 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>ESR1</i>-mRNA-Transkript wird überexprimiert und weist einen Delta-Schwel lenzykluswert (dCt) oberhalb des eingestellten Grenzwerts auf. • <i>CYFIP1</i> – BEST. (PASS); <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>PGR POSITIV (PGR POSITIVE) Siehe Abbildung 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>PGR</i>-mRNA-Transkript wird überexprimiert und weist einen Delta-Schwel lenzykluswert (dCt) oberhalb des eingestellten Grenzwerts auf. • <i>CYFIP1</i> – BEST. (PASS); <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>ERBB2 POSITIV (ERBB2 POSITIVE) Siehe Abbildung 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>ERBB2</i>-mRNA-Transkript wird überexprimiert und weist einen Delta-Schwel lenzykluswert (dCt) oberhalb des eingestellten Grenzwerts auf. • <i>CYFIP1</i> – BEST. (PASS); <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>MKi67 POSITIV (MKi67 POSITIVE) Siehe Abbildung 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>MKi67</i>-mRNA-Transkript wird überexprimiert und weist einen Delta-Schwel lenzykluswert (dCt) oberhalb des eingestellten Grenzwerts auf. • <i>CYFIP1</i> – BEST. (PASS); <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>ESR1 NEGATIV (ESR1 NEGATIVE) Siehe Abbildung 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>ESR1</i>-mRNA-Transkript wird nicht überexprimiert und weist einen Delta-Schwel lenzykluswert (dCt) unterhalb des eingestellten Grenzwerts auf. • <i>CYFIP1</i> – BEST. (PASS); <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>PGR NEGATIV (PGR NEGATIVE) Siehe Abbildung 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>PGR</i>-mRNA-Transkript wird nicht überexprimiert und weist einen Delta-Schwel lenzykluswert (dCt) unterhalb des eingestellten Grenzwerts auf. • <i>CYFIP1</i> – BEST. (PASS); <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • <i>CYFIP1</i>-Alternative – POS; <i>CYFIP1</i> weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.

Ergebnis	Interpretation
<p>ERBB2 NEGATIV (ERBB2 NEGATIVE)</p> <p>Siehe Abbildung 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>ERBB2</i>-mRNA-Transkript wird nicht überexprimiert und weist einen Delta-Schwellenzykluswert (dCt) unterhalb des eingestellten Grenzwerts auf. • <i>CYFIP1</i> – BEST. (PASS); <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>MKi67 NEGATIV (MKi67 NEGATIVE)</p> <p>Siehe Abbildung 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>MKi67</i>-mRNA-Transkript wird nicht überexprimiert und weist einen Delta-Schwellenzykluswert (dCt) unterhalb des eingestellten Grenzwerts auf. • <i>CYFIP1</i> – BEST. (PASS); <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • <i>CYFIP1</i>-Alternative – POS; <i>CYFIP1</i> weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>PGR nicht feststellbar (PGR Indeterminate)</p> <p>Siehe Abbildung 4.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Der <i>PGR</i>-mRNA-Expressionsspiegel kann nicht bestimmt werden, da die Probe zu wenig Material enthält. Den Test mit einem höher konzentrierten Lysat wiederholen. • <i>CYFIP1</i> – BEST. (PASS); <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • <i>CYFIP1</i>-Alternative – NEG; Der <i>CYFIP1</i> Zyklus-Schwellenwert (Ct) lag nicht innerhalb des gültigen Bereichs oder der Endpunkt lag unterhalb der zur Bestimmung des PGR-Status erforderlichen Schwellenwerteinstellung. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>MKi67 nicht feststellbar (MKi67 Indeterminate)</p> <p>Siehe Abbildung 4.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Der <i>MKi67</i>-mRNA-Expressionsspiegel kann nicht bestimmt werden, da die Probe zu wenig Material enthält. Den Test mit einem höher konzentrierten Lysat wiederholen. • <i>CYFIP1</i> – BEST. (PASS); <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • <i>CYFIP1</i>-Alternative – NEG; Der <i>CYFIP1</i> Zyklus-Schwellenwert (Ct) lag nicht innerhalb des gültigen Bereichs oder der Endpunkt lag unterhalb der zur Bestimmung des MKi67-Status erforderlichen Schwellenwerteinstellung. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.

Ergebnis	Interpretation
<p>TEST WIEDERHOLEN (REPEAT TEST)</p> <p>Siehe Abbildung 5.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Die <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i>-mRNA-Expressionsspiegel können nicht bestimmt werden. Den Test mit einem Aliquot des aufbewahrten FFPE-Probenlysats wiederholen. • <i>CYFIP1</i> – BEST. (PASS); <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen und weist einen Ct-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • <i>CYFIP1</i>-Alternative – POS/NEG; <i>CYFIP1</i>-mRNA-Transkript wurde nachgewiesen. Das Transkript weist oder weist nicht einen Zyklus-Schwellenwert (Ct) innerhalb des gültigen Bereichs und einen Endpunkt oberhalb des eingestellten Schwellenwerts auf. • CIC – NEG; Die interne Kontrolle weist einen Zyklus-Schwellenwert (Ct) außerhalb des gültigen Bereichs auf. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>UNGÜLTIG (INVALID)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • UNGÜLTIG (INVALID) – Der <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i>-mRNA-Expressionsspiegel kann nicht bestimmt werden, da die Probe zu wenig Material enthält. Den Test mit einem höher konzentrierten Lysat wiederholen. • <i>CYFIP1</i> – DEFEKT (FAIL); Der <i>CYFIP1</i> Zyklus-Schwellenwert (Ct) lag nicht innerhalb des gültigen Bereichs oder der Endpunkt lag unterhalb der Schwellenwerteinstellung. • <i>CYFIP1</i>-Alternative – NEG; Der <i>CYFIP1</i> Zyklus-Schwellenwert (Ct) für <i>CYFIP1</i> lag nicht innerhalb des gültigen Bereichs oder der Endpunkt lag unterhalb der Schwellenwerteinstellung. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Ergebnisse der Sondenprüfung waren erfolgreich.
<p>FEHLER (ERROR)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Die <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i>-mRNA-Expressionsspiegel können nicht bestimmt werden. Den Test mit einem Aliquot des aufbewahrten FFPE-Probenlysats wiederholen. • <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • <i>CYFIP1/CYFIP1</i>-Alternative – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • Sondenprüfung – BEST. (PASS)*/DEFEKT (FAIL); alle Sondenprüfungsergebnisse sind bzw. ein Sondenprüfungsergebnis ist fehlgeschlagen. <p style="text-align: center;">* Wenn die Sondenprüfung bestanden wurde, wurde der Fehler durch Überschreiten des maximalen Druckgrenzwerts, einen Kurvenanpassungsfehler oder den Ausfall einer Systemkomponente verursacht.</p>
<p>KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Die <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i>-mRNA-Expressionsspiegel können nicht bestimmt werden. Es wurden nicht genügend Daten gesammelt, um ein Testergebnis zu erzielen. Zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen. Den Test mit aufbewahrttem FFPE-Probenlysats wiederholen. • <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • <i>CYFIP1/CYFIP1</i>-Alternative – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • Sondenprüfung – KA (NA) (keine Angabe)

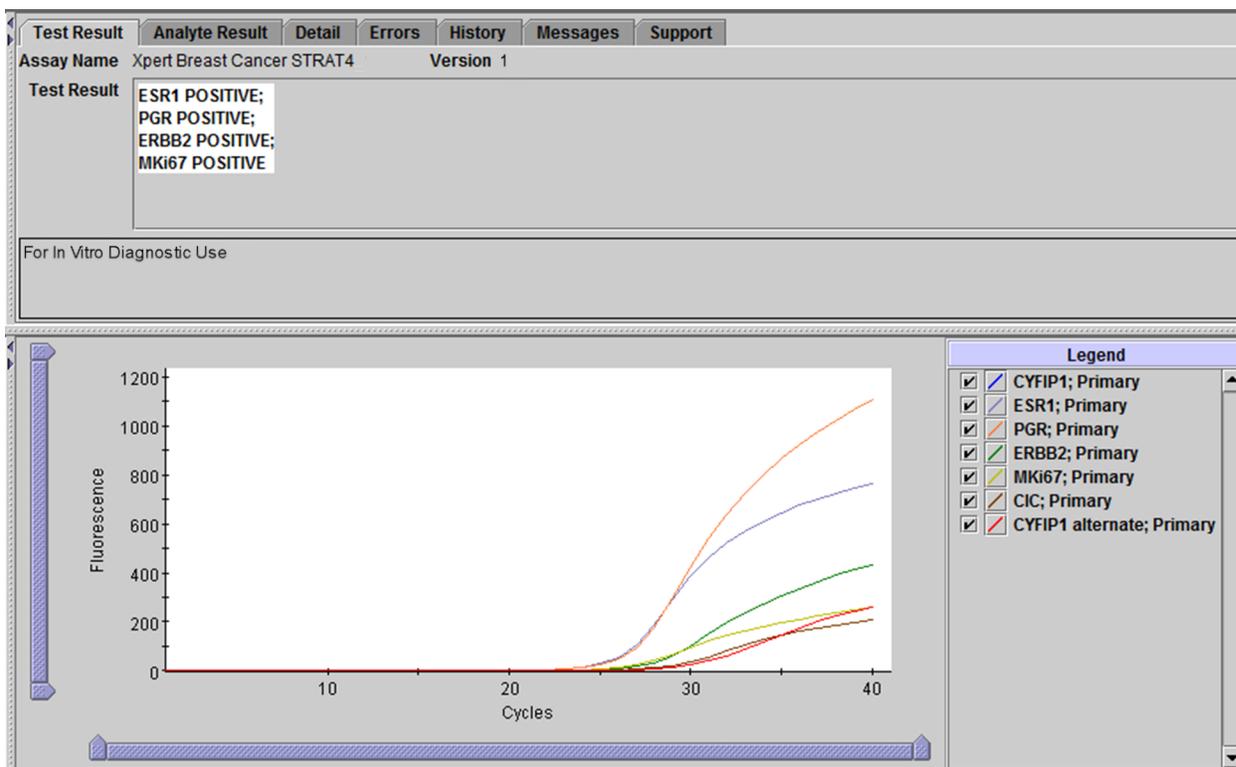


Abbildung 2. Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“ von GeneXpert
Dx: ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 POSITIV (ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 POSITIVE)

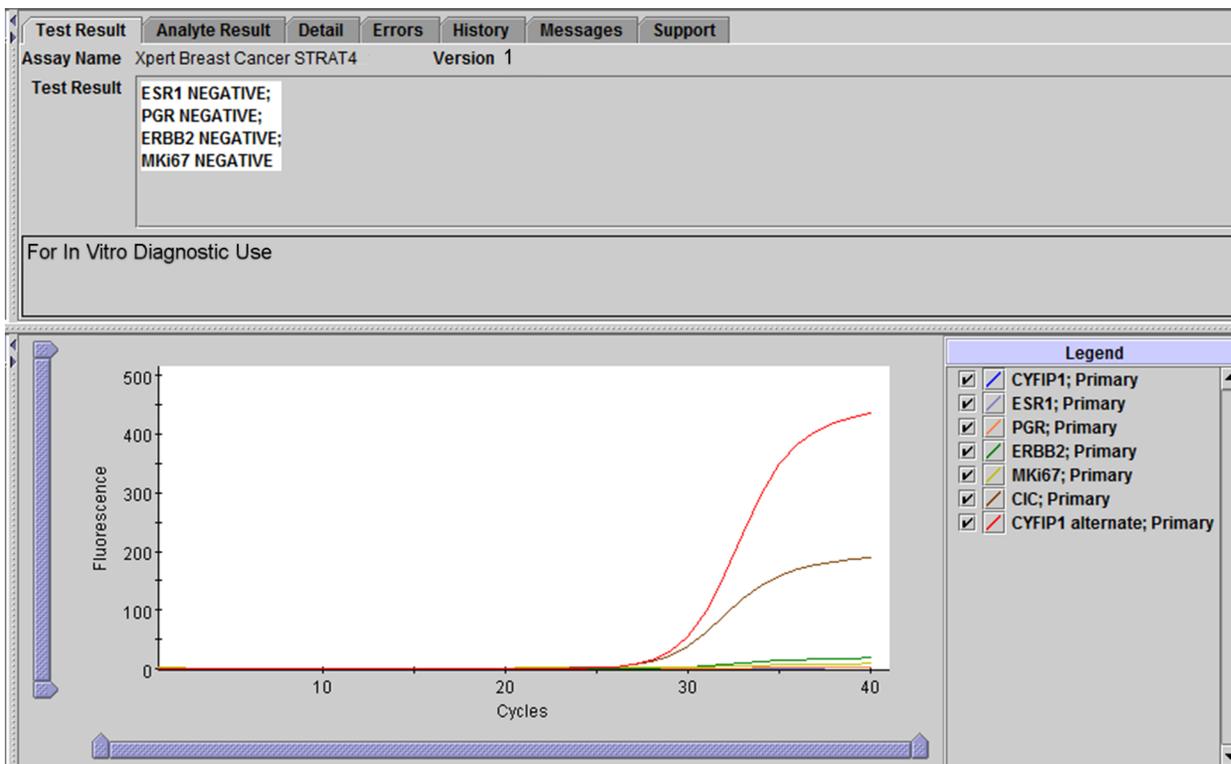


Abbildung 3. Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“ von GeneXpert
Dx: ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 NEGATIV (ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 NEGATIVE)

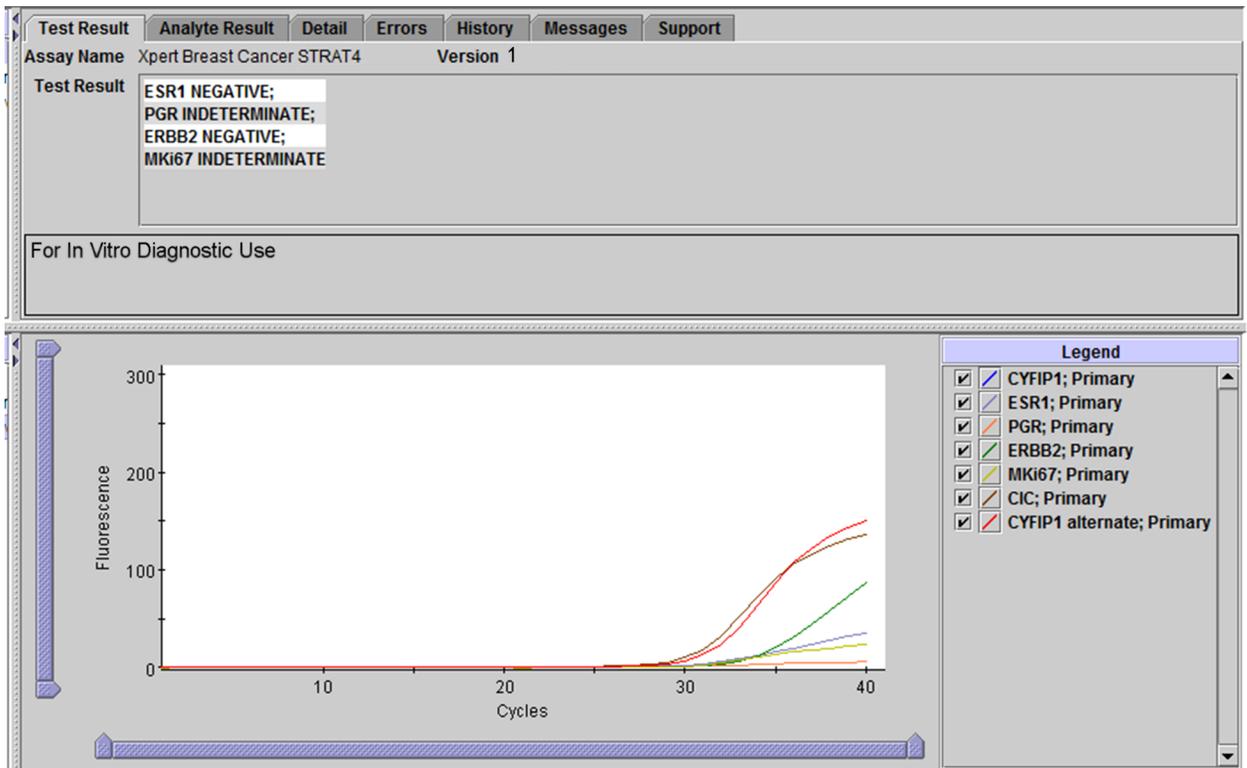


Abbildung 4. Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“ von GeneXpert
Dx: PGR/MKi67 NICHT FESTSTELLBAR (PGR/MKi67 INDETERMINATE)

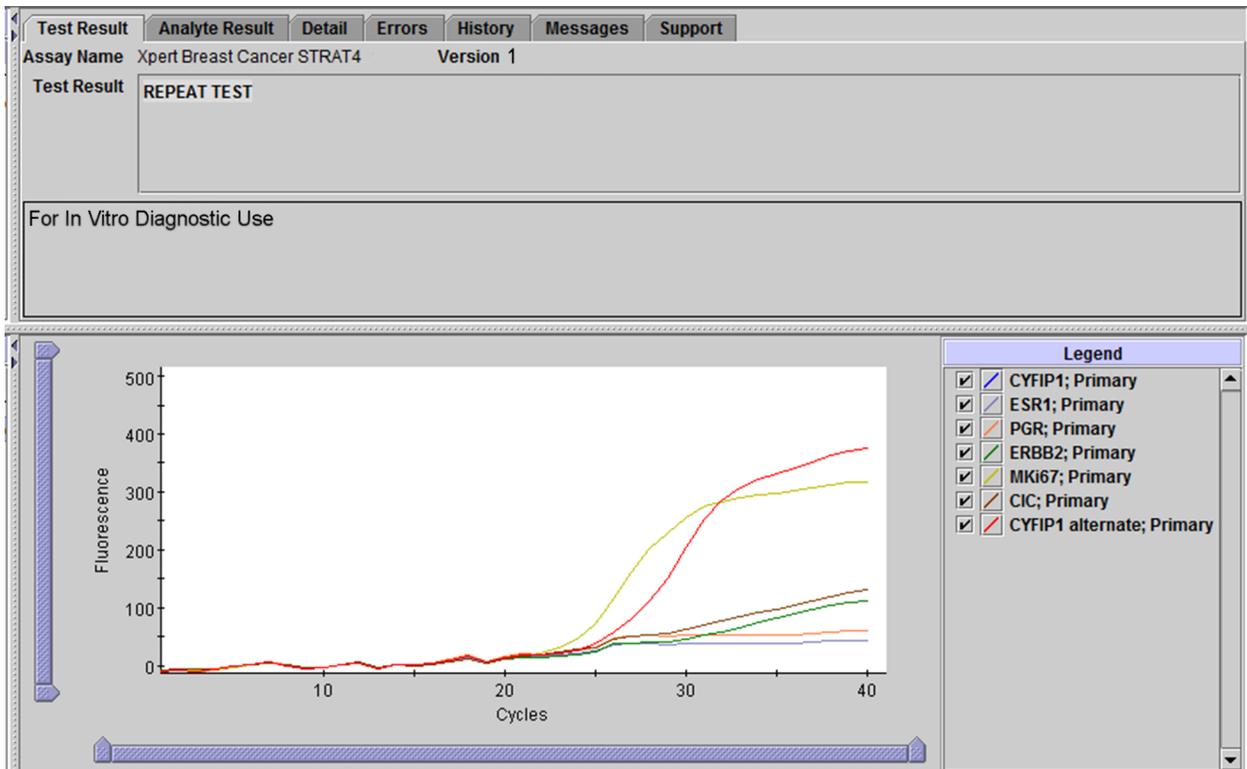


Abbildung 5. Fenster „Ergebnisse anzeigen (View Results)“
von GeneXpert Dx: TEST WIEDERHOLEN (REPEAT TEST)

16 Gründe für eine Testwiederholung

Wiederholen Sie den Test mit einer neuen Kartusche (die Kartusche darf nicht wiederverwendet werden).

- Das Ergebnis **TEST WIEDERHOLEN (REPEAT TEST)** bedeutet, dass die interne Kontrolle fehlgeschlagen ist. Die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet. In diesem Fall den Test mit einem neuen 520-µl-Aliquot des gleichen FFPE-Lysats wiederholen.
- Das Ergebnis **UNGÜLTIG (INVALID)** bedeutet, dass die Referenzkontrolle fehlgeschlagen ist. Die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet, die PCR war gehemmt oder die RNA-Qualität im biopsierten Tumor war ungenügend. In diesem Fall den Test mit einem höher konzentrierten FFPE-Lysat gemäß den Anweisungen in der Gebrauchsanweisung zum FFPE Lysis Kit wiederholen.
- Das Ergebnis **FEHLER (ERROR)** bedeutet, dass die Sondenprüfungskontrolle fehlgeschlagen ist und der Assay abgebrochen wurde. Mögliche Ursachen: unzureichende Füllung des Reaktionsbehälters, Problem mit der Unversehrtheit einer Reagenziensonde, Überschreitung der maximalen Druckgrenzwerte, Fehler bei der Ventilpositionierung. In diesem Fall den Test mit einem neuen 520-µl-Aliquot des gleichen FFPE-Lysats wiederholen.
- **KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)** bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen oder es ist zu einem Stromausfall gekommen. In diesem Fall den Test mit einem neuen 520-µl-Aliquot des gleichen FFPE-Lysats wiederholen.
- Falls eine externe QK nicht wie erwartet ausfällt, den Test mit der externen Kontrolle wiederholen und/oder Cepheid um Unterstützung bitten.

17 Einschränkungen

- Änderungen an diesen Vorgehensweisen können die Leistung des Tests beeinträchtigen. Ergebnisse des Xpert Breast Cancer STRAT4 sollten unter Berücksichtigung anderer Labor- und klinischer Daten interpretiert werden, die dem Kliniker zur Verfügung stehen.
- Die Leistungsfähigkeit des Xpert Breast Cancer STRAT4 wurde mit den in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren mit FFPE-Proben, die fünf bis zehn Jahre alt waren, validiert.
- Die Leistungsfähigkeit des Xpert Breast Cancer STRAT4 wurde ausschließlich anhand der in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren validiert.
- Zu fehlerhaften Testergebnissen kann es kommen, wenn die Probe unsachgemäß entnommen, gehandhabt oder gelagert wurde oder Proben verwechselt wurden. Zur Vermeidung fehlerhafter Ergebnisse sind die Anweisungen in dieser Gebrauchsanweisung zu befolgen.
- Es wurden keine Leistungsmerkmale für Patienten unter 25 Jahren ermittelt.
- Mutationen oder Polymorphismen in Primer oder Sonden bindenden Regionen können zu falschen, jedoch plausibel erscheinenden Ergebnissen für *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* und *MKi67* führen.

18 Leistungsmerkmale

18.1 Klinische Leistungsfähigkeit

Die Leistungsmerkmale für den Xpert Breast Cancer STRAT4-Test wurden relativ zu IHC-Ergebnissen für ER, PR, HER2, Ki67 bzw. zur Fluorescence *in situ* Hybridization (FISH) für HER2-Gen-Amplifikation an Prüfzentren in den USA und in der EU bewertet. Zunächst wurden insgesamt 211 anonymisierte FFPE-Restproben von invasiven primären Mammakarzinomen aus den USA und der EU in diese Studie aufgenommen. 10 Proben wurden aufgrund eines für die Studientests nicht ausreichenden Tumolvolumens und eine aufgrund einer widerrufenen Einwilligung ausgeschlossen. So waren insgesamt 200 Proben für die Aufnahme in die Datenanalysen verfügbar. Für jede FFPE-Probe wurden für Xpert, für ER-, PR-, HER2-, Ki67-IHC und für den FISH Test für HER2-Gen-Amplifikation, mehrere Objektträger präpariert.

Insgesamt lieferte Xpert Breast Cancer STRAT4 gültige Ergebnisse zum ersten Testversuch für 99,5 % (199/200) der Studienproben. Eine Probe, die anfänglich ein nicht bestimmtes Ergebnis (**FEHLER [ERROR]**, **UNGÜLTIG [INVALID]** oder **KEIN ERGEBNIS [NO RESULT]**) ergab, lieferte ein Testergebnis nach einem einzigen Wiederholungstest. Die Gesamterfolgsquote des Assays betrug 100,0 % (200/200).

Von den 200 Proben mit gültigen Ergebnissen im Xpert-Test wurde für ESR1 und ERBB2 in 100 % der Fälle (200/200) ein gültiges positives oder negatives Testergebnis erzielt. Für PGR und MKi67 erzielte der Xpert in 98,5 % (197/200) bzw. 97,0 % (194/200) der Fälle ein gültiges positives bzw. negatives Testergebnis. Die 7 Proben mit nicht feststellbaren Ergebnissen im Xpert für PGR und/oder MKi67 wurden im Verfahren mit konzentriertem FFPE-Lysat erneut getestet. Sowohl die ursprünglichen (ersten Versuch) als auch die Wiederholungstestergebnisse werden in Tabelle 3 angezeigt.

Für den gesamten Datensatz, einschließlich der Re-Testergebnisse, zeigte Xpert Breast Cancer STRAT4 ein Positive Percent Agreement (PPA) von 97,2 %, ein Negative Percent Agreement (NPA) von 95,0 % und ein Overall Percent Agreement (OPA) von 97,0 % für ESR1 relativ zu IHC; ¹⁸PPA von 88,4 %, NPA von 90,7 % und OPA von 88,9 % für PGR relativ zu IHC; ¹⁸ PPA von 100,0 %, NPA von 92,4 % und OPA von 93,3 % für ERBB2 im Vergleich zu IHC; ¹⁹ und PPA von 100 %, NPA von 92,0 % und OPA von 93,3 % für ERBB2 im Vergleich zu HER2 FISH. ¹⁹ Für MKi67 wurde ein PPA von 88,8 %, NPA von 100 % und OPA von 90,7 % mit der IHC-Schwelle auf > 20 % für positiv und < 10 % für negativ gesetzt. Proben mit einem MKi67-IHC-Zwischenwert (10 % bis 20 % Schwelle, einschließlich) wurden von der Analyse ausgeschlossen. Die Gesamt-PPA, -NPA und -OPA für die einzelnen Zielsequenzen gehen aus Tabelle 3 hervor.

Tabelle 3. Klinische Leistungsfähigkeit

Vergleich	Datensatz ^a	Insgesamt (n) ^b	PPA	95% KI	NPA	95% KI	OPA	95% KI
ESR1/ER Xpert gegenüber IHC	Original	199	97,2 % (174/179)	93,6–98,8	100 % (20/20)	83,9–100	97,5 % (194/199)	94,3–98,9
	Wiederholungstest	199	97,2 % (174/179)	93,6–98,8	95,0 % (19/20)	76,4–99,1	97,0 % (193/199)	93,6–98,6
PGR/PR Xpert gegenüber IHC	Original	196	89,0 % (137/154)	83,0–93,0	92,9 % (39/42)	81,0–97,5	89,8 % (176/196)	84,8–93,3
	Wiederholungstest	198	88,4 % (137/155)	82,4–92,5	90,7 % (39/43)	78,4–96,3	88,9 % (176/198)	83,8–92,5
ERBB2/HER2 Xpert gegenüber IHC	Original	180	100 % (22/22)	85,1–100	92,4 % (146/158)	87,2–95,6	93,3 % (168/180)	88,7–96,1
	Wiederholungstest	180	100 % (22/22)	85,1–100	92,4 % (146/158)	87,2–95,6	93,3 % (168/180)	88,7–96,1
ERBB2/HER2 Xpert gegenüber FISH	Original	178	100 % (28/28)	87,9–100	92,0 % (138/150)	86,5–95,4	93,3 % (166/178)	88,6–96,1
	Wiederholungstest	178	100 % (28/28)	87,9–100	92,0 % (138/150)	86,5–95,4	93,3 % (166/178)	88,6–96,1
ERBB2/HER2 Xpert gegenüber IHC + FISH	Original	197	100 % (27/27)	87,5–100	91,2 % (155/170)	86,0–94,6	92,4 % (182/197)	87,8–95,3
	Wiederholungstest	197	100 % (27/27)	87,5–100	91,2 % (155/170)	86,0–94,6	92,4 % (182/197)	87,8–95,3
MKi67/Ki-67 Xpert gegenüber IHC	Original	148	88,7 % (110/124)	81,9–93,2	100 % (24/24)	86,2–100	90,5 % (134/148)	84,7–94,3
	Wiederholungstest	151	88,8 % (111/125)	82,1–93,2	100 % (26/26)	87,1–100	90,7 % (137/151)	85,0–94,4

^a Original = 1X-Lysat gemäß den Anweisungen in der Gebrauchsanweisung; Wiederholungstest = Ergebnis des Wiederholungstests mit einem 4X konzentrierten Lysat in Fällen, in denen die Originalprobe (1X-Lysat) ein nicht feststellbares Ergebnis für PGR und/oder MKi67 erbrachte.

^b Proben mit nicht festgestelltem bzw. nicht feststellbarem Ergebnis mittels Xpert, sowie Proben mit fragwürdigem oder Zwischenwert-Ergebnis mittels IHC, Proben mit durchgefallenem IHC und durchgefallenem FISH sind ausgeschlossen.

19 Analytische Leistungsdaten

19.1 Analytische Sensitivität/Minimum Assay Input

Das mindestens erforderliche Assaymaterial wurde ermittelt, indem der maximale CYFIP1-Ct-Wert (Referenzgen), der den erforderlichen Probeneinsatz für eine robuste Assayleistung korrekt bestimmt, beurteilt wurde. Dieser Probeneinsatz stellt sicher, dass mit den meisten getesteten klinischen FFPE-Proben gültige Ergebnisse erzielt werden. Für Proben, deren CYFIP1-Ct-Wert über dem erlaubten Wert liegt, wird das Ergebnis UNGÜLTIG (INVALID) ausgegeben.

Die analytische Sensitivität/das mindestens erforderliche Assaymaterial für den Xpert Breast Cancer STRAT4-Test (definiert als der maximale CYFIP1-Ct-Wert, der zu $\geq 95\%$ gültigen Ergebnissen führt) wurde anhand von Verdünnungen klinischer FFPE-Probenlysate zur Prüfung des CYFIP1-Ct-Werts ermittelt. Um die Sensitivität des CYFIP1-Ct-Werts zu beurteilen, wurde ein klinisches FFPE-Probenlysat seriell verdünnt und mit N=20 Replikaten pro Verdünnungsstufe über 3 Tage getestet, bis $\leq 95\%$ der Testergebnisse gültig waren. Die Verdünnungsstufen bestanden aus einer Probe beim erwarteten mindestens erforderlichen Assaymaterial, zwei Stufen darunter und zwei Stufen darüber. Die Tests wurden an zwei Chargen von Xpert Breast Cancer STRAT4-Kartuschen durchgeführt.

Vor Beginn der Studie wurde die Leerprobengrenze anhand von N=60 Replikaten mit zwei unabhängigen Chargen von Xpert Breast Cancer STRAT4-Kartuschen getestet. Als Probe für die Leerprobengrenze wurde ein leerer Paraffinschnitt (ohne Gewebeprobe) verwendet; alle Testergebnisse fielen erwartungsgemäß UNGÜLTIG () aus. Serienverdünnungen der klinischen FFPE-Gewebeprobe, die bei 1/1000 eingesetzt wurde, ergaben 20/20 gültige CYFIP1-Ct-Werte bei einem mittleren Ct = 33,4 und einer SD von 0,6 von Charge 1 des Xpert Breast Cancer STRAT4-Tests sowie einem mittleren Ct = 33,6 und einer SD von 0,5 von Charge 2. Weitere Verdünnungen mit späteren CYFIP1-Ct-Werten konnten die $\geq 95\%$ gültigen Ergebnisse für die Studie nicht erfüllen. Tabelle 4 fasst die Anzahl der gültigen Testläufe bei jedem seriell verdünnten Probeneingangspegel als Relative Verdünnung oder als Mittelwert CYFIP1 Ct zusammen. Die analytische Sensitivität anhand von zwei Chargen von Xpert Breast Cancer STRAT4-Testkartuschen ergab das mindestens erforderliche Assaymaterial für ein CYFIP1-Ct = 33,4. Dieser Wert in Kombination mit der Variabilität des Assays lässt die Festlegung eines CYFIP1-Ct = 35 als oberen Grenzwert für den Xpert Breast Cancer STRAT4-Test zu.

Tabelle 4. Mindestens erforderliches Assaymaterial im Xpert Breast Cancer STRAT4

Kit-Charge	Probeneinsatz (relative Verdünnung)	Mittlerer CYFIP1-Ct-Wert	SD	N gültige Läufe (Ct \leq 35)
00801 (Charge 1)	1/20	27,6	0,4	20/20
	1/100	29,8	0,3	20/20
	1/1000	33,4	0,6	20/20
	1/2000	34,2	0,5	9/20
	1/4000	34,5	0,5	2/20
	NTC	N. zutr.	N. zutr.	0/20
00903 (Charge 2)	1/20	27,8	0,3	20/20
	1/100	30,0	0,3	20/20
	1/1000	33,6	0,5	20/20
	1/2000	34,2	0,4	9/20
	1/4000	34,6	0,0	1/20
	NTC	N. zutr.	N. zutr.	0/20

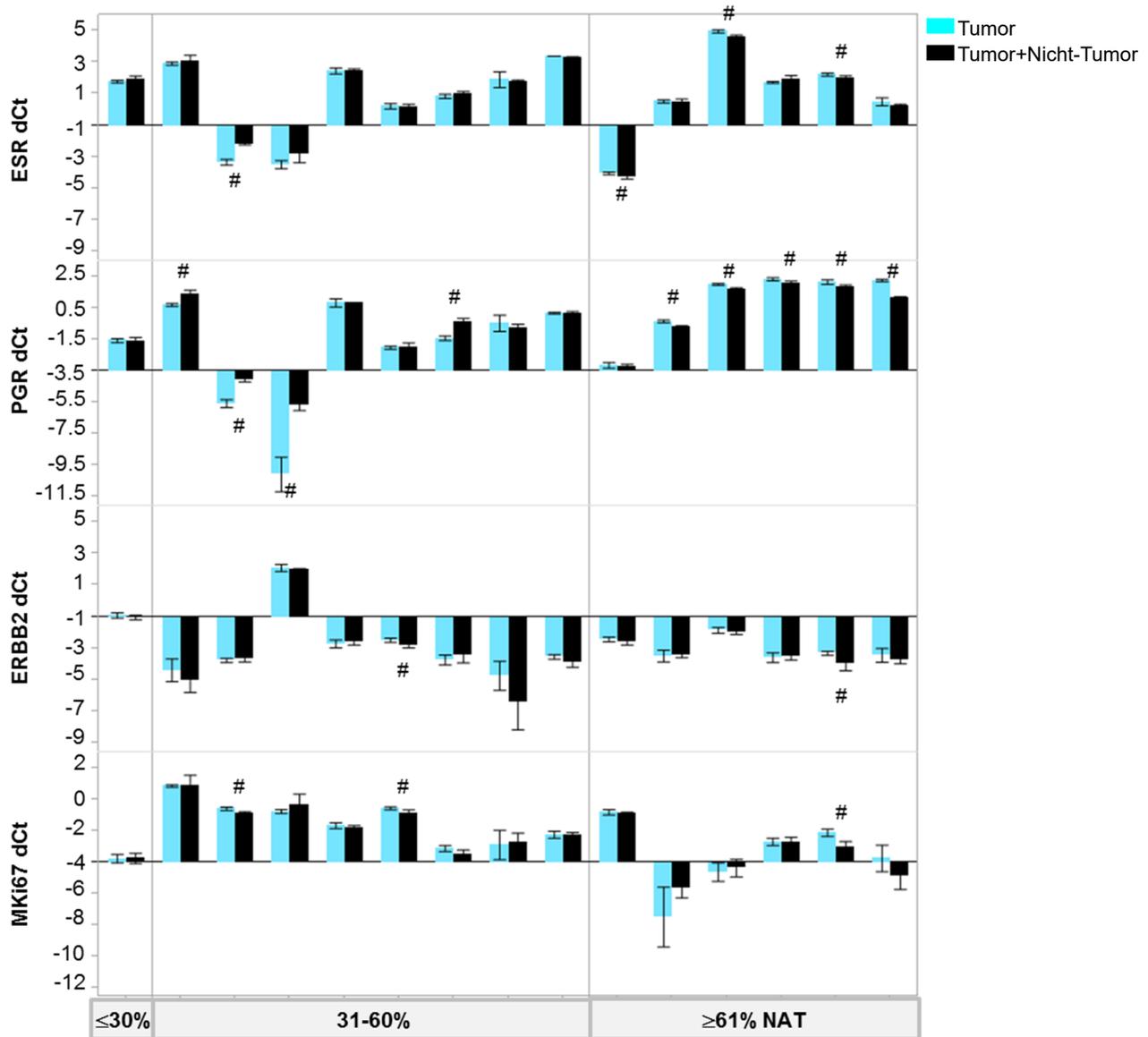
19.2 Störungstests

Benachbartes normales Gewebe/Nicht-Tumor-Gewebe

Benachbarte normale Gewebe/Nicht-Tumor-Gewebe (Normal Adjacent Tissues, NAT) sind häufig als Verunreinigungen, die potenziell den Nachweis von spezifischen Zielsequenzen stören können, in Mammakarzinom-Gewebeproben anzutreffen. In entsprechenden Fällen und im Ermessen des Pathologen kann es für den Xpert Breast Cancer STRAT4-Test erforderlich werden, einen pathologisch bestätigten Mammakarzinom-FFPE-Schnitt zu makrodissezieren, um die potenziellen Auswirkungen von Nicht-Tumor-Verunreinigungen zu minimieren. Um die Auswirkungen von benachbarten normalen Geweben/Nicht-Tumor-Geweben zu beurteilen, wurden fünfzehn (15) FFPE-Gewebeblöcke mit invasivem Mammakarzinom und einem Gehalt von 21–98 % umgebendem NAT mit und ohne Makrodissektion mit dem Xpert Breast Cancer STRAT4-Test getestet. Die Tests mit dem Xpert Breast Cancer STRAT4 wurden mit N=4 Replikaten des gleichen Lysats pro Bedingung durchgeführt. Die dCt-Werte für ESR1, PGR, ERBB2 und MKi67 für jede Gewebeprobe mit Makrodissektion (blauer Balken) oder ohne Makrodissektion (schwarzer Balken) wurden zunächst mittels einfaktorieller ANOVA bewertet, um die statistische Störung durch NAT zu ermitteln. Eine klinisch signifikante Störung durch NAT galt als gegeben, wenn der ddCt-Wert (Delta-Delta Ct) zwischen Proben mit und ohne Makrodissektion >1,0 betrug und eine Änderung des Testergebnisses vorlag. Die Studienergebnisse sind in Abbildung 6 zusammengefasst.

Die dCt-Werte für ESR1, PGR, ERBB2 und MKi67 aller 15 Proben wurden nach dem Prozentanteil von NAT ($\leq 30\%$, 31–60 % oder $\geq 61\%$) gruppiert. Die blauen und schwarzen vertikalen Balken mit SD geben jeweils den mittleren Zielsequenz-dCt-Wert von N = 4 Replikaten von FFPE-Schnitten eines invasiven Mammakarzinom-Blocks mit und ohne Makrodissektion an. Alle 15 FFPE-Blöcke (N = 1 unter 30 % NAT, N = 8 mit 31–60 % NAT und N = 6 über 60 % NAT) waren entweder ohne statistische Signifikanz bezüglich der Störung durch benachbarte normale Gewebe/Nicht-Tumor-Gewebe anhand einer einfaktoriellen ANOVA mit einem p-Wert von $\geq 0,05$ oder ohne klinische Signifikanz (markiert mit #), sofern die Schwankung der Delta-Ct-Werte für jede einzelne Zielsequenz zwischen Proben mit und ohne Makrodissektion $\leq 1,0$ betrug oder das Testergebnis für die Zielsequenz (positiv, negativ) unverändert blieb.

Abbildung 6. Störung der Zielsequenz-dCt-Werte im Xpert Breast Cancer STRAT4 durch benachbarte normale Gewebe/Nicht-Tumor-Gewebe



DCIS-, Nekrose-, Hämorrhagie-Gewebe

Um die Auswirkungen von DCIS(duktales Karzinom in situ)-, Nekrose- und Hämorrhagie-Gewebe zu beurteilen, wurden insgesamt 9 FFPE-Mammakarzinom-Proben (3 FFPE-Mammakarzinom-Blöcke mit 3–61 % DCIS, 3 FFPE-Blöcke mit 10–65 % Nekrose-Gewebe und 3 FFPE-Blöcke mit 15–41 % Hämorrhagie-Gewebe) mit und ohne Makrodissektion mit dem Xpert Breast Cancer STRAT4-Test getestet. Die Tests mit dem Xpert Breast Cancer STRAT4 wurden mit N = 4 Replikaten des gleichen Lysats pro Bedingung durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass alle Testbedingungen entweder keine statistische oder keine klinisch signifikante Wirkung durch variierende Verunreinigungen mit DCIS-, Nekrose- und Hämorrhagie-Gewebe im Xpert Breast Cancer STRAT4-Test erfuhren (grafische Daten nicht abgebildet).

Humane genomische DNA (hgDNA)

Der Xpert Breast Cancer STRAT4-Test verwendet hoch spezifische Primer und Sonden, um aus einem Pool genomischer Nukleinsäuren (humane genomische DNA = hgDNA) wirksam mit den mRNA-Vorlagen der Zielsequenzen ESR1, PGR, ERBB2 und MKI67 zu hybridisieren. Um die Auswirkungen von hgDNA auf den Xpert Breast Cancer STRAT4-Test zu beurteilen, wurden 10 FFPE-Mammakarzinom-Blöcke mit einem variierenden Anteil an invasiven duktalem Karzinomzellen makrodisseziert und mit und ohne Zugabe von 25 ng hgDNA zu den FFPE-Probenlysaten mit dem Xpert Breast Cancer

STRAT4-Test in N = 4 Replikaten des gleichen Lysats pro Bedingung getestet. Es konnte gezeigt werden, dass alle Testbedingungen entweder keine statistische oder keine klinisch signifikante Wirkung durch die hgDNA-Störung erfuhren (grafische Daten nicht abgebildet).

19.3 Kontamination durch Verschleppung

Es wurde eine Studie durchgeführt, um nachzuweisen, dass die abgeschlossenen GeneXpert-Einwegkartuschen eine Kontamination durch Verschleppung bei negativen Proben, die im Anschluss an sehr hoch positive Proben im gleichen GeneXpert-Modul bearbeitet werden, minimieren. Die Studie bestand aus einer negativen Probe, die unmittelbar im Anschluss an eine hoch ESR1/PGR/ERBB2/MKi67-positive Probe im gleichen GeneXpert-Modul bearbeitet wurde. Die negative Probe bestand aus *in-vitro*-transkribierter (IVT) RNA mit einem Gehalt an CYFIP1-Transkript von 5×10^4 Kopien, um sicherzustellen, dass eine Referenzgen-Zielsequenz vorhanden war. Die hoch positive Probe bestand aus IVT-RNA mit einem Gehalt an CYFIP1-Transkript von 5×10^5 Kopien und IVT-RNA mit einem Gehalt an ESR1-, PGR-, ERBB2- und MKi67-Transkripten von 5×10^6 Kopien, die als FFPE-Lysat vorbereitet wurde. Dieses Testschema wurde 41-mal auf einem einzigen GeneXpert-Modul mit insgesamt 20 hoch positiven und 21 negativen Proben wiederholt. Alle 20 hoch positiven Proben wurden korrekt als ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 POSITIV (POSITIVE) und alle 21 negativen Proben wurden korrekt als ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 NEGATIV (NEGATIVE) ausgegeben.

19.4 Reproduzierbarkeit und Genauigkeit des Assays

Die Reproduzierbarkeit des Xpert Breast Cancer STRAT4 wurde anhand eines aus fünf Lysatproben bestehenden Panels bewertet.

Drei Panelproben wurden angesetzt, indem *In-vitro*-Transkript(IVT)-RNA innerhalb von ~ 2 dCt-Werten der dCt-Grenzwerte für ESR1 (1-IVT-RNA), PGR (2-IVT-RNA) und ERBB2 (3-IVT-RNA) zu FFPE-Lysepuffer zugesetzt wurde, wobei der CYFIP1-Ct-Wert $\sim 2-3$ Ct-Werte über dem mindestens erforderlichen Assaymaterial lag.

Zwei Panelproben (klinische FFPE-Probe 4 und klinische FFPE-Probe 5) wurden aus gepoolten klinischen FFPE-Proben in FFPE-Lysepuffer gewonnen, die CYFIP1-Ct-Werte nahe am mindestens erforderlichen Assaymaterial erzeugen und Delta-Ct-Grenzwerte für alle Zielsequenzen über den gesamten Ausgabebereich sowie, so weit möglich, nahe an den Delta-Ct-Grenzwerten des Assays aufweisen sollten.

Zwei Bediener an jedem der drei Prüfzentren testeten pro Tag zwei Panels aus fünf Proben über sechs Testtage (fünf Proben x sechs Tage x zwei Bediener x zwei Replikate x drei Prüfzentren). Insgesamt 72 Replikate pro Probe wurden getestet. An jedem der drei Testzentren wurden drei Chargen der Xpert Breast Cancer STRAT4-Kartuschen verwendet. Der Xpert Breast Cancer STRAT4-Test wurde gemäß dem Verfahren in der vorliegenden Gebrauchsanweisung durchgeführt.

Die Reproduzierbarkeit des Xpert Breast Cancer STRAT4 wurde als dCt-Wert für jede der vier Zielsequenzen und jedes Panel bewertet. Mittelwert, Standardabweichung (SD) und Variationskoeffizient (VK) zwischen Zentren, zwischen Chargen, zwischen Tagen, zwischen Bedienern und innerhalb des Assays für jede Panelprobe gehen aus Tabelle 5 hervor.

Tabelle 5. Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsdaten

Probe	Assaykanal (Analyt)	N ^a	Mittlerer dCt-Wert	Zwischen Zentren		Zwischen Chargen		Zwischen Tagen		Zwischen Bedienern		Innerhalb des Assays		Insgesamt	
				Var	VK (%)	Var	VK (%)	Var	VK (%)	Var	VK (%)	Var	VK (%)	Var	VK (%)
1-IVT-RNA	ESR1	72	0,20	0,00	0,00	0,03	29,30	0,00	0,00	0,00	1,80	0,07	68,90	0,11	0,33
	PGR	72	-0,03	0,00	0,00	0,01	14,70	0,00	2,30	0,00	0,00	0,06	83,00	0,07	0,26
	ERBB2	72	-2,42	0,00	0,00	0,04	27,90	0,02	11,40	0,00	2,60	0,08	58,10	0,13	0,36
	MKi67	70	-2,55	0,00	0,00	0,32	62,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	37,90	0,52	0,72
2-IVT-RNA	ESR1	72	-1,03	0,00	1,60	0,01	9,20	0,01	5,50	0,00	0,00	0,10	83,70	0,12	0,35
	PGR	72	-1,26	0,00	0,00	0,01	12,20	0,00	0,00	0,01	10,70	0,04	77,10	0,05	0,23
	ERBB2	72	-3,49	0,01	4,80	0,03	31,60	0,00	0,00	0,00	0,40	0,07	63,20	0,11	0,33
	MKi67	72	-3,53	0,00	0,00	0,08	49,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	51,00	0,16	0,40
3-IVT-RNA	ESR1	72	3,64	0,00	0,00	0,01	8,40	0,01	16,50	0,00	0,00	0,06	75,10	0,08	0,29
	PGR	72	3,34	0,00	3,40	0,00	0,00	0,01	9,70	0,00	5,40	0,05	81,50	0,06	0,25
	ERBB2	72	0,91	0,02	20,60	0,01	10,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	69,10	0,08	0,28

Probe	Assaykanal (Analyt)	N ^a	Mittlerer dCt-Wert	Zwischen Zentren		Zwischen Chargen		Zwischen Tagen		Zwischen Bedienern		Innerhalb des Assays		Insgesamt	
				Var	VK (%)	Var	VK (%)	Var	VK (%)	Var	VK (%)	Var	VK (%)	Var	VK (%)
	MKi67	72	1,14	0,00	0,00	0,02	15,40	0,02	18,00	0,00	0,00	0,07	66,60	0,10	0,31
4-Klinische FFPE-Probe	ESR1	72	-0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14,40	0,00	15,90	0,02	69,70	0,03	0,17
	PGR	72	-1,99	0,00	6,30	0,01	19,70	0,00	2,50	0,00	0,00	0,02	71,60	0,03	0,18
	ERBB2	72	-2,39	0,02	31,30	0,00	2,20	0,00	0,00	0,00	3,70	0,05	62,80	0,07	0,27
	MKi67	72	-0,93	0,00	0,00	0,02	36,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	63,50	0,04	0,21
5-Klinische FFPE-Probe	ESR1	72	-2,83	0,00	0,00	0,05	13,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	86,30	0,39	0,63
	PGR	72	-5,66	0,00	0,00	0,02	3,60	0,03	4,40	0,00	0,00	0,56	92,00	0,60	0,78
	ERBB2	72	1,93	0,00	2,90	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	94,20	0,03	0,17
	MKi67	72	-1,57	0,00	1,70	0,01	17,10	0,01	9,00	0,00	11,10	0,05	61,10	0,09	0,29

^a Ergebnisse (von 72) mit gültigen Delta-Ct-Werten

20 Literatur

1. American Cancer Society, Cancer Facts and Figures 2015. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2015.
2. International Agency for Research on Cancer (IARC) and World Health Organization (WHO). GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012 <http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/breast-new.asp>.
3. American Cancer Society, Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, Atlanta, GA: American Cancer Society, 2013.
4. Rose C, Thorpe SM, Lober J, Deenfeldt J, Palshof T, Mouridsen HT. Therapeutic effect of tamoxifen related to estrogen receptor level. *Recent Results Cancer Res* 1980; 71:134-41.
5. Stierer M, Rosen H, Weber R, Hanak H, Spona J, Tuchler H. Immunohistochemical and biochemical measurement of estrogen and progesterone receptors in primary breast cancer. Correlation of histopathology and prognostic factors. *Ann Surg* 1993; 218:13-21.
6. Sunderland MC, Osborne CK. Tamoxifen in premenopausal patients with metastatic breast cancer: a review. *J Clin Oncol* 1991;9:1283-1297.
7. Fisher KB, Redmond KC, Brown A, Wickerham DL, Wolmark N, Allegra J, Escher G, Lippman M, Savlov E, Wittliff J. Influence of tumor estrogen and progesterone receptor levels on the response to tamoxifen and chemotherapy in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 1983;1:227-241.
8. Press MF, Slamon DJ, Flom KJ, Park J, Zhou JY, Bernstein L. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and overexpression; comparison of frequently used assay methods in a molecularly characterized cohort of breast cancer specimens. *J Clin Oncol* 2002;20:3095-3105.
9. Kontzoglou K, Palla V, Karaolani G, Karaiskos I, Alexiou I, Pateras I, Konstantoudakis K, Stamatakos M. Correlation between Ki67 and breast cancer prognosis. *Oncology*. 2013;84:219-225.
10. Fasching PA, Heusinger K, Haerberle L, Niklos M, Hein A, Bayer CM, Rauh C, Schulz-Wendtland R, Bani MR, Schrauder M, Kahmann L, Lux MP, Strehl JD, Hartmann A, Dimmler A, Beckmann MW, Wachter DL. Ki67, chemotherapy response, and prognosis in breast cancer patients receiving neoadjuvant treatment. *BMC Cancer*. 2011 Nov 14; 11:486. doi: 10.1186/1471-2407-11-486.
11. Stuart-Harris R, Caldas C, Pinder SE, Pharoah P. Proliferation markers and survival in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. *Breast*. 2008 Aug;17(4):323-34.
12. de Matos LL, Trufelli DC, Luongo de Matos MG, da Silva Pinhal MA. Immunohistochemistry as an Important Tool in Biomarkers Detection and Clinical Practice. *Biomarker Insights* 2010;5, 9-20
13. Roepman P, Horlings HM, Krijgsman O, Kok M, Bueno-de-Mesquita JM, Bender R, Linn SC, Glas AM, van de Vijver MJ. Microarray-Based Determination of Estrogen Receptor, Progesterone Receptor, and HER2 Receptor Status in Breast Cancer *Clin Cancer Res* 2009; 15(22) 7003-11.
14. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Bayde S, Fitzgibbons PL, Francis G, Goldstein NS, Hayes M, Hicks DG, Lester S, Love R, Magnu PB, McShane L, Miller K, Osborne CK, Paik S, Perlmutter J, Rhodes A, Sasano H, Schwartz JN, Sweep FC, Taube S, Torlakovic EE, Valenstein P, Viale G, Visscher D, Wheeler T, Williams RB, Wittliff JL, Wolff AC, American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2010; 134:907-922.

15. Wolff AC, Hammond EH, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol* 2013; 31(31): 3997-4013.
16. VERORDNUNG (EG) NR. 1272/2008 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Liste der Sicherheitshinweise, Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG (Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006).
17. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
18. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, Fitzgibbons PL, Francis G, Goldstein NS, Hayes M, Hicks DG, Lester S, Love R, Mangu PB, McShane L, Miller K, Osborne CK, Paik S, Perlmutter J, Rhodes A, Sasano H, Schwartz JN, Sweep FC, Taube S, Torlakovic EE, Valenstein P, Viale G, Visscher D, Wheeler T, Williams RB, Wittliff JL, Wolff AC., American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2010 (134).
19. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF; American Society of Clinical Oncology; College of American Pathologists. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2014 (138), 241-256.

21 Standorte der Cepheid-Zentralen

Konzernzentrale

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Konzernzentrale in Europa

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Technische Unterstützung

Halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit, wenn Sie den technischen Kundendienst von Cepheid kontaktieren:

- Produktname
- Chargenbezeichnung
- Seriennummer des Instruments
- Fehlermeldungen (falls vorhanden)
- Software-Version und gegebenenfalls „Service-Kennnummer“ (Service Tag) des Computers

Vereinigte Staaten von Amerika

Telefon: + 1 888 838 3222
E-Mail: techsupport@cepheid.com

Frankreich

Telefon: + 33 563 825 319
E-Mail: support@cepheideurope.com

Die Kontaktinformationen aller Vertretungen des technischen Kundendienstes von Cepheid finden Sie auf unserer Website:
www.cepheid.com/en/support/contact-us

23 Symbolerklärung

Symbol	Bedeutung
	Bestellnummer
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	CE-Kennzeichnung – Einhaltung der EU-Richtlinien

Symbol	Bedeutung
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Nicht wiederverwenden
	Chargencode
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsicht
	Hersteller
	Herstellungsland
	Inhalt reicht aus für n Tests
	Kontrolle
	Verfallsdatum
	Temperaturbegrenzung
	Biologische Risiken
	Bevollmächtigter in der Schweiz
	Importeur



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



24 Revisionsverlauf

Abschnitt	Beschreibung der Änderung
Symbolerklärung	Symbole „CH REP“ und „Importeur“ sowie die entsprechenden Definitionen zur Symbolerklärung hinzugefügt. Angaben zum CH REP und Importeur mit Adresse für die Schweiz hinzugefügt.
Revisionsverlauf	Tabelle mit Revisionsverlauf aktualisiert.