

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4

REF GXBCSTRAT4-CE-10

Упатство за употреба



Заштитен знак, патенти и изјави за авторски права

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2017—2025 Cepheid.

Cepheid®, логото на Cepheid, GeneXpert®, и Xpert® се заштитни знаци на Cepheid, регистрирани во САД и други земји.

Сите други заштитни знаци се сопственост на нивните соодветни сопственици.

КУПУВАЊЕТО НА ОВОЈ ПРОИЗВОД МУ ПРЕНЕСУВА НА КУПУВАЧОТ НЕПРЕНОСЛИВО ПРАВО ДА ГО КОРИСТИ ВО СОГЛАСНОСТ СО ОВА УПАТСТВО ЗА УПОТРЕБА. НИКАКВИ ДРУГИ ПРАВА НЕ СЕ ПРЕНЕСУВААТ ИЗРЕЧНО, СО ПОДРАЗБИРАЊЕ ИЛИ СО СПРЕЧУВАЊЕ НА ТВРДЕЊАТА. ДОПОЛНИТЕЛНО, НЕ СЕ ДОДЕЛУВААТ НИКАКВИ ПРАВА НА ПРЕПРОДАЖБА СО КУПУВАЊЕТО НА ОВОЈ ПРОИЗВОД.

© 2017—2025 Cepheid.

За детален список на промените, погледнете во Историја на ревизии.

Xpert® Breast Cancer STRAT4

Ин vitro дијагностички медицински уред

1 Заштитено име

Xpert® Breast Cancer STRAT4

2 Вообичаено име

Xpert Breast CA STRAT4

Xpert BC STRAT4

3 Предвидена употреба

Тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 е полуквантитативна анализа заснована на полимераза верижна реакција со квалитативни гранични вредности за mRNA на рецепторот на естроген (*ESR1*), рецепторот на прогестерон (*PGR*), рецепторот на хуман епидермален фактор на раст 2 (*ERBB2/HER2*) и маркерот за пролиферација Ki-67 (*MKi67*) изолирани од ткиво на инвазивен рак на дојка фиксирано во формалин и вградено во парафин (FFPE). РНК се издвојува од област збогатена со тумор на микроскопски дел на ткиво идентификуван од патолог. Тестот треба да се користи во комбинација со други клинички и лабораториски податоци за класификација на ткива на рак на дојка во однос на статусот на нивните хормонски рецептори, статусот на рецепторот HER2 и статусот на маркерот за пролиферација. Тестот е предвиден да се користи со системот GeneXpert®, што вклучува изолација на РНК од ткиво FFPE, како и засилување и откривање на целни секвенци во рамките на патронот.

Тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 не е предвиден како:

- Показател за сериозноста на болеста
- Самостоен уред за дијагностичко тестирање за рак на дојка
- Предзнак за повторно појавување на болеста

Индикации за употреба: Тестот е предвиден за употреба кај процена на нивоата на mRNA на *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKi67* кај ткива на инвазивен рак на дојка добиени од пациенти и подготвени како примероци FFPE и како помош во клиничката процена заедно со други лабораториски податоци.

4 Резиме и објаснување

Ракот на дојка е еден од најчестите карциноми кај жените ширум светот, со приближно 1,7 милиони нови случаи на рак на дојка секоја година.¹ Во Европа, приближно 494.000 нови случаи се дијагностицираат секоја година и 143.000 пациенти умираат од болеста. Во САД, приближно 200.000 нови случаи на инвазивен рак на дојка беа дијагностицирани во 2015.² Ракот на дојка е најчеста причина за смртност од рак меѓу жените во земјите во развој и втора најчеста причина за смртност од рак (по ракот на белите дробови) меѓу жените во развиените земји.²

Кај жените, ракот на дојка е најчесто дијагностицираниот карцином и водечка причина за смрт од рак.¹ Смртноста од рак на дојка се намалила за 34 проценти од 1990 година главно заради подобрениот третман и раното откривање.³ Мерењата на изразеноста на протеините ER и PR се предзнаци за исходите од ракот на дојка и тие ја предвидуваат реакцијата на тамоксифен и другите хормонални терапии.^{4,5,6,7} Прекумерната изразеност на HER2 дава негативна прогноза кај жените со рак на дојка; но поважно, реакцијата на трастузумаб или други HER2-наочени терапии се предвидува со прекумерната изразеност на протеинот HER2 (*ERBB2*) или со засилувањето на генот HER2.⁸ Маркерот за пролиферација Ki-67 (*MKi67*) опширно е проучуван во ретроспективни студии кои вклучуваат пациенти со рак на дојка⁹ и се смета за важен показател за потребата од хемотерапија.¹⁰ Мета-анализите покажаа

дека тој е поврзан со најлошите исходи од преживувањето кај раниот рак на дојка.¹¹ Со оглед на важноста на овие маркери при изборот на ефикасен режим на третман за пациент со рак на дојка, упатствата за третман на Европското друштво за медицинска онкологија (ESMO) препорачуваат тестирање на сите примарни карциноми на дојка за ER, PR, HER2 (ERBB2) и Ki67 во моментот на дијагностицирање.¹²

Имунохистохемијата (ИHC) често се користи за мерење на изразеноста на протеините ER, PR, HER2 и Ki67. За изразеноста на HER2, ИHC е вообичаено првиот тест што се изведува и резултатите се даваат на скала од 0 до 3+. Ако резултатот е несигурен за изразеноста на HER2 (2+), примерокот се рефлектира на анализа на флуоресцентна ин ситу хибридизација на HER2 (FISH), како што е флуоресцентна ин ситу хибридизација (FISH) или хромогена ин ситу хибридизација (CISH) што бара засилување на генот HER2.¹³ Прикажана е висока варијабилност на резултатите за ИHC и ISH при споредба меѓу лабораториите, главно заради разликите во антителата што се користат за ИHC како и субјективноста на методите на интерпретација.¹⁴

Тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 е ин витро дијагностички тест што се користи за одредување на нивоата на изразеност на mRNA на *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKi67* изолирани од примероци FFPE на ткиво на инвазивен рак на дојка.

Анализата се врши во самостоен патрон по краток екстерен чекор за подготовка на лизат на примерокот, за што требаат 15 минути активно време со вкупно време на обработка од помалку од 2 часа.

5 Принцип на процедурата

Тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 е анализа со полимераза верижна реакција на (PCR) за откривање mRNA на *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKi67* изолирана од ткиво на инвазивен рак на дојка фиксирано во формалин и вградено во парафин (FFPE). Анализата се спроведува на систем на инструменти Cepheid GeneXpert. Системот на инструменти GeneXpert ги автоматизираат и интегрираат прочистувањето на примероците, засилувањето на нуклеинската киселина и откривањето на целната секвенца кај едноставни или сложени примероци со користење RT-PCR во реално време. Системот се состои од инструмент, скенер на баркодери, компјутер и вчитан софтвер за извршување на тестовите и преглед на резултатите. Системот користи патрони за еднократна употреба GeneXpert кои имаат реагенси за RT-PCR и се носители на процесот RT-PCR. За целосен опис на системите, погледнете го соодветното Упатство за употреба на системот на инструменти GeneXpert.

Тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 вклучува реагенси за истовремено откривање на *ESR1*, *PGR*, *ERBB2*, *MKi67*, референтен ген на цитоплазмичен FMR1 интерактивен протеин 1 (CYFIP1), внатрешна контрола на RT-PCR (CIC) и внатрешна контрола на проверката на сондата (PCC). Референтниот ген ја потврдува адекватноста на примерокот и се користи за нормализирање на нивоата на изразеност на mRNA за *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKi67*. Внатрешната контрола на RT-PCR (CIC) се користи за потврда дека реакцијата RT-PCR поминала правилно. PCC ја потврдува рехидратацијата на зрната со реагенси, полнењето на епруветата за RT-PCR, интегритетот на сондата и стабилноста на бојата во патронот. Вкупно, анализата користи шест различни флуоресцентни канали за откривање на целта или контролата/референцата со свои параметри за гранична вредност за важност на целта/контролата/референцата.

Примероците FFPE мора прво да се третираат со комплетот за лиза Xpert® FFPE со подготовка на дел со ткиво дебел 4-5 µm (микрони) каде ткивото FFPE прво се макродисецира, ако е потребно, за да се збогати областа на инвазивниот тумор, а потоа се гребе и се става во епрувета заедно со препорачаните количини на реагенс за лиза FFPE и протеиназа K. Растворот потоа се инкубира во топлински блок на 80 °C во период од 30 минути. Потоа со примерокот се меша етанол, а препорачаната количина на подготвениот лизат на примерокот потоа директно се додава во патронот за тестирање. Патронот за тестирање се вметнува во модул на системот на инструменти GeneXpert кадешто прочистувањето на нуклеинската киселина, засилувањето и откривањето во реално време се целосно автоматизирани и целосно интегрирани од системот. Сите реагенси потребни за подготовка на примерокот во инструментот и анализа RT-PCR се однапред ставени во патронот. Нуклеинските киселини во лизатот се факаат на филтер, се мијат и се елуираат со ултразвучна бања. Прочистената нуклеинска киселина се меша со суви реагенси за RT-PCR, а растворот се пренесува во епруветата за реакција за RT-PCR и откривање. Времето до резултатот е приближно 75 минути во GeneXpert.

Граничните вредности за откривање што ги користи тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 во секој флуоресцентен канал беа утврдени за максималната позитивна, негативна и вкупна процентуална усогласеност во споредба со референтните лабораториски резултати за ИHC или ИHC/FISH за секоја цел. ИHC за ER, PR, Ki67 и HER2, како и FISH за HER2 беа обработени и оценети според упатствата во упатството за употреба. Интерпретацијата на позитивните резултати од ИHC за беше завршена според упатствата на ASCO/CAP 2013.¹⁵ Туморите беа сертифицирани како позитивни на ER или PR ИHC кога $\geq 1\%$ од клетките на инвазивниот тумор покажуваа дефинитивно обојување на нуклеусот, без оглед на интензитетот на обојувањето. Изразеноста на HER2 беше проценета со комплетот HercepTest (ИHC) (Dako) и оценета како 0, 1+, 2+ или 3+. Туморите со оценка 2+ беа рефлектирани на HER2 FISH со користење на комплетот со ДНК-сонда PathVysion HER2 (Vysis-Abbott, Чикаго, Илиноис). Случаите се сметаа за HER2-позитивни ако имаа оценка 3+ од ИHC и/или засилени од FISH (дефинирани како HER2:CEP17 (сооднос $\geq 2,0$) и/или

просечен број на копии на HER2 $\geq 6,0$ сигнали/клетка според Ажурирањето на упатството за клиничка пракса на ASCO/CAP за тестирање на HER2 кај рак на дојка од 2013 година.¹⁵ За Ki67, туморите беа класифицирани како позитивни (високо) кога ≥ 20 % од клетките на инвазивниот тумор покажуваа дефинитивно обојување на нуклеусот, без оглед на интензитетот на обојувањето.

Во случајот на контролата на референтниот ген и внатрешната контрола на RT-PCR, граничните вредности на откривањето дефинираат опсези на минимални и максимални вредности на PCR на прагот на циклусот (Ct) кои одредуваат важечки резултат, адекватен минимален внес на примерок и никаква инхибиција на PCR. Во случајот на целите на ESR1, PGR, ERBB2 и MKi67, граничните вредности на откривањето се дефинирани со вредностите на делта прагот на циклусот (dCt) (Ct на референтниот ген минус Ct на целниот ген) кои одредуваат резултати ПОЗИТИВЕН наспроти НЕГАТИВЕН за дадена цел во канал.

6 Реагенси и инструменти

6.1 Испорачан материјал

Комплетот Xpert Breast Cancer STRAT4 содржи доволно реагенси за обработка на 10 примероци за контрола на квалитетот или лизати FFPE подготвени со комплетот Xpert FFPE Lysis Kit (каталожки број GXFFPE-LYSIS-CE-10). Комплетот Xpert Breast Cancer STRAT4 ги содржи следните предмети:

Патрони Xpert Breast Cancer STRAT4 со интегрирани епрувети за реакција	10
- Зрно 1, 2 и 3 (лиофилизирани) - Реагенс за плакнење, - Реагенс за елуирање,	1 по патрон 1,0 ml по патрон 2,0 ml по патрон
CD	1 по комплет
- Датотека за дефинирање на анализата (ADF) - Упатство за употреба	

Белешка

Безбедносните листови (SDS) се достапни на www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com во картичката **ПОДДРШКА (SUPPORT)**.

Белешка

Говедскиот серум албумин (BSA) во зрната во рамките на овој производ е произведен и изработен исклучително од говедска плазма со потекло од Соединетите Американски Држави. Животните не беа хранети со преживарски протеин или друг животински протеин; животните поминаа претсмртно и посмртно тестирање. Во текот на обработката, немаше мешање на материјалот со други животински материјали.

7 Чување и постапување

- Чувајте ја содржината на комплетот Xpert Breast Cancer STRAT4 на 2 - 28 °C.
- Не отворајте го капакот на патронот сè додека не сте подготвени да го извршите тестирањето.
- Употребете го патронот во рок од 30 минути од отворањето на капакот.
- Не употребувајте патрон што протекло.

8 Потребни материјали кои не се испорачани

- Комплет за лиза Xpert FFPE (каталожки број GXFFPE-LYSIS-CE-10) за подготовка на лизат FFPE. Овој комплет се состои од реагенс за лиза FFPE, протеиназа К (ПК), епрувети од 1,5 ml и вијали од 5 ml.
- Миксер за центрифугирање.
- Пипети и врвови за пипети со филтер за аеросол погодни за пипетирање 600 μ l, 1,2 μ l и 520 μ l.
- Компјутер со лиценциран софтвер GeneXpert, верзија 4.7b или понова, Xpertise, верзија 6.4b или понова, скенер на баркод и соодветно упатство за употреба на системот на инструменти GeneXpert.
- Печатач: Ако е потребен печатач, стапете во контакт со одделот за техничка поддршка на Cepheid за да се договорите за набавка на препорачан печатач.

9 Предупредувања и мерки за претпазливост

- Само за користење во *ин витро* дијагностика.
- Сите биолошки примероци треба да се третираат како способни за пренесување заразни агенси. Сите човечки примероци треба да се третираат со стандардни мерки за претпазливост. Упатствата за постапување со примероците се достапни од Светската здравствена организација или Американските центри за контрола и спречување на болестите.
- Следете ги безбедносните процедури на вашата институција за работењето со хемикалии и постапувањето со биолошки примероци.
- Карактеристиките на резултатите од овој тест се утврдени со типот на примероците наведен во Дел 3. Не е направена промена на резултатите од оваа анализа со други типови примероци.
- Ткивото FFPE мора да се обработи со комплетот за лиза Xpert FFPE (каталoшки број GXFFPE-LYSIS-CE-10).
- Нецелосното отстранување (гребење) на областа на туморот од лабораториското стакленце за подготовка на лизат FFPE може да резултира со недоволно материјал за анализата, а со тоа и со повисока од очекуваната стапка на неодредени/неважечки резултати со тестот Xpert Breast Cancer STRAT4.
- Не отворајте го капакот на патронот Xpert Breast Cancer STRAT4 освен кога додавате подготвен лизат FFPE.
- Не употребувајте патрон што паднал по неговото вадење од пакувањето.
- Не тресете го патронот. Тресењето или испуштањето на патронот по отворањето на капакот на патронот може да даде неважечки резултати.
- Не употребувајте патрон што има оштетена епрувета за реакција.
- Секој патрон за еднакратна употреба Xpert Breast Cancer STRAT4 се користи за обработка на еден примерок. Не употребувајте ги потрошените патрони повторно.
- Не користете патрон ако изгледа влажен или ако изгледа дека запечатувањето на капакот е оштетено.
- Не ставајте ја етикетата со идентификацискиот код на примерокот на капакот на патронот или на етикетата со баркод.
- Се препорачува спроведување добри лабораториски практики и промена на ракавиците меѓу ракувањето со примероците на пациентите за да се избегне контаминација на примероците или реагенсите.
- Консултирајте се со персоналот за еколошки отпад на вашата институција за правилно фрлање на употребените патрони и неупотребените реагенси. Проверете ги регионалните, територијалните или локалните прописи бидејќи тие може да се разликуваат од националните прописи за фрлање. Материјалот може да покаже карактеристики на опасен отпад за којшто се потребни специфични барања за фрлање. Институциите треба да ги проверат нивните барања за фрлање опасен отпад.

10 Хемиски опасности^{16,17}

Според Глобално хармонизираниот систем за класификација и означување (GHS), овој материјал не се смета за опасен.

11 Земање, транспорт и чување на примероците

- Користете го само со примероци FFPE обработени со комплетот Xpert FFPE Lysis Kit (каталoшки број GXFFPE-LYSIS-CE-10). Следете ги упатствата на ASCO/CAP¹⁵ за подготовка на ткиво FFPE.
- Лизатот на FFPE треба да се подготви од блокаторот на туморот FFPE со најголемата област на активен карцином на дојка (најмалку 30 % целуларност на туморот) и треба да се изведе макродисекција, ако е потребно, пред тестирањето со тестот Xpert Breast Cancer STRAT4. За примероци на тумор помали од 10 mm² со помалку од 30 % тумор, можеби ќе треба да се користи постапката со концентриран лизат или повеќе од еден дел од 4 - 5 µm за добивање важечки резултати.
- Лизатот FFPE треба да се транспортира до лабораторијата на 2 - 8 °C.
- Лизатот FFPE е стабилен до 1 седмица на 2 - 8 °C или 4 седмици на ≤ -20 °C пред тестирањето со Xpert Breast Cancer STRAT4. За долготрајно чување, чувајте го на -80 °C. Не се препорачува повеќе од 1 замрзнување-одмрзнување. При одмрзнувањето, одмрзнете го на собна температура и центрифугирајте го лизатот FFPE 15 секунди пред употребата.

12 Процедура

Важно Употребата на патронот Xpert Breast Cancer STRAT4 бара подготовка на лизат со користење на комплетот за лиза Xpert FFPE (каталожки број GXFFPE-LYSIS-CE-10).

Важно Започнете ја анализата во рок од 30 минути од додавањето на подготвениот примерок во патронот.

12.1 Подготовка на лизатот FFPE

Подгответе го лизатот FFPE според упатството за употреба на комплетот за лиза FFPE.

12.2 Подготовка на патронот

1. Извадете го патронот од картонското пакување.
2. Подгответе го лизатот FFPE со центрифугирање 15 секунди пред употребата.
3. Отворете го капакот на патронот.
4. Со користење пипета, пренесете 520 µl од лизатот FFPE во комората за примероци на патронот. (Белешка: може да има мала количина талог што не влијае на резултатите од анализата).

Задржете го преостанатиот лизат FFPE на 2 - 8 °C или ≤ -20 °C во случај на повторно тестирање.



Слика 1. Патрон Xpert Breast Cancer STRAT4 (поглед одозгора)

5. Затворете го капакот на патронот. Погрижете се капакот цврсто да чкрапне на место.

12.3 Почнување на тестот

Важно Пред почнувањето на тестот, погрижете се да ја увезете точната датотека за дефинирање на анализата (ADF) Xpert Breast Cancer STRAT4 во софтверот.

Во овој дел се наведени стандардните чекори за работа со системот на GeneXpert. За детални упатства, видете го *Упатството за употреба на системот GeneXpert Dx* или *Упатството за употреба на системот GeneXpert Infinity*, во зависност од инструментот што се користи.

Белешка Чекорите што ги следите може да се разликуваат ако администраторот на системот го променил стандардниот работен процес на системот.

1. Вклучете го инструментот GeneXpert:
 - Ако го користите инструментот GeneXpert Dx, прво вклучете го инструментот GeneXpert Dx, а потоа вклучете го компјутерот. Софтверот GeneXpert ќе се активира автоматски или можеби ќе треба да кликнете двапати на иконата на софтверот GeneXpert Dx на работната површина на Windows®.

или

- Ако го користите инструментот GeneXpert Infinity, вклучете го инструментот. Софтверот Xpertise ќе се активира автоматски или можеби ќе треба да кликнете двапати на иконата за софтверот Xpertise на работната површина на Windows.
- 2. Најавете се на софтверот на системот на инструменти GeneXpert со користење на вашето корисничко име и лозинка. Во прозорецот на системот GeneXpert, кликнете на **Создај тест (Create Test)** (GeneXpert Dx) или кликнете на **Нарачки (Orders)** и **Нарачај тест (Order Test)** (Infinity). Се отвора прозорецот Создај тест (Create Test)
- 3. Скенирајте го или внесете го Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID). Ако го внесувате Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID), погрижете се правилно да го внесете Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID). Идентификацискиот код на примерокот (Sample ID) е поврзан со резултатите од тестот и е прикажан во прозорецот Преглед на резултатите (View Results) и во сите извештаи. Се појавува полето за дијалог Скенирај патрон (Scan Cartridge).
- 4. Скенирајте го баркодот на патронот Xpert Breast Cancer STRAT4. Се појавува прозорецот Создај тест (Create Test). Со користење на информациите од баркодот, софтверот автоматски ги исполнува полињата за следните ставки: Избери анализа (Select Assay), Идентификациски код на серијата реагенси (Reagent Lot ID), Сериски број на патронот (Cartridge SN).
- 5. Кликнете на **Започни тест (Start Test)** (GeneXpert Dx) или **Поднеси (Submit)** (Infinity). Внесете ја вашата лозинка, ако се бара.
- 6. За инструментот GeneXpert Dx:
 - a) Отворете ја вратата на модулот на инструментот со зелената светилка што трепка и вчитајте го патронот.
 - b) Затворете ја вратата. Тестот започнува и зелената светилка престанува да трепка. Кога ќе заврши тестот, светилката се исклучува.
 - c) Почекајте системот да ја отклучи бравата на вратата пред да ја отворите вратата на модулот. Извадете го патронот.
 - d) Фрлете ги искористените патрони во соодветните садови за отпадни примероци според стандардните практики на вашата институција. Видете Дел 9.

или

За системот GeneXpert Infinity, ставете го патронот на подвижната лента. Патронот ќе се вчита автоматски, тестот ќе се изврши, а искористениот патрон ќе биде ставен во садот за отпад.

13 Преглед и печатење на резултатите

Во овој дел се наведени основните чекори за преглед и печатење на резултатите. За подетални упатства во однос на начинот на преглед и печатење на резултатите, видете во *Упатството за употреба на системот GeneXpert Dx* или *Упатството за употреба на системот GeneXpert Infinity*, во зависност од инструментот што се користи.

1. Кликнете на иконата **Преглед на резултатите (View Results)** за преглед на резултатите.
2. По завршувањето на тестот, кликнете на **копчето Извештај (Report)** на екранот Преглед на резултати (View Results) за преглед и/или генерирање датотека за извештај во формат PDF.

14 Контрола на квалитет

Секој тест содржи контрола на референтниот ген (*CYFIP1*) и контрола за проверка на сондата (PCC).

- **Контрола на *CYFIP1*:** Овој референтен ген се користи за нормализирање на нивоата на изразеност за *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKI67*. Тој, исто така, служи како контрола за адекватност на примерокот (SAC) гарантирајќи дека примерокот содржи доволно РНК. Потребен е минимален сигнал за *CYFIP1* за важечки резултат од тестот. Сигнал за *CYFIP1* под минималната количина или негативен сигнал покажува дека примерокот не содржи доволно РНК.
- **Алтернативен *CYFIP1*:** Ова е контрола за двоен *CYFIP1* што се користи во алгоритмот кога делта прагот на циклусот (dCt) на PGR или *MKI67* е под поставката на граничната вредност на анализата. За овие цели, потребен е дополнителен минимален сигнал за алтернативен *CYFIP1* за да се гарантира важечки резултат од тестот.
- **Контрола за проверка на сондата (PCC):** Пред почетокот на PCR, системот на инструменти GeneXpert го мери флуоресцентниот сигнал од сондите за да ја следи рехидратацијата на зрната, полнењето на епруветата

за реакција, интегритетот на сондата и стабилноста на бојата. PPC е успешна ако ги исполнува потврдените критериуми за прифатливост.

- **Надворешни контроли (не се испорачани):** Надворешните контроли треба да се користат во согласност со барањата на локалните, државните и сојузните организации за акредитација, доколку е применливо.

15 Интерпретирање на резултатите

Резултатите автоматски се интерпретираат од системот на инструменти GeneXpert од измерените флуоресцентни сигнали и вградените алгоритми за пресметка и јасно се прикажуваат во прозорецот Преглед на резултати (View Results) и на картичките Резултати од тестот (Test Results) и Резултат за аналитот (Analyte Result). Резултат од тестот (Test Result) и Резултати за аналитот (Analyte Results) се, исто така, прикажани во Извештај за тестот (Test Report). Можните резултати се прикажани во Табела 1 и Табела 2.

Табела 1. Сите можни резултати за тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 Test

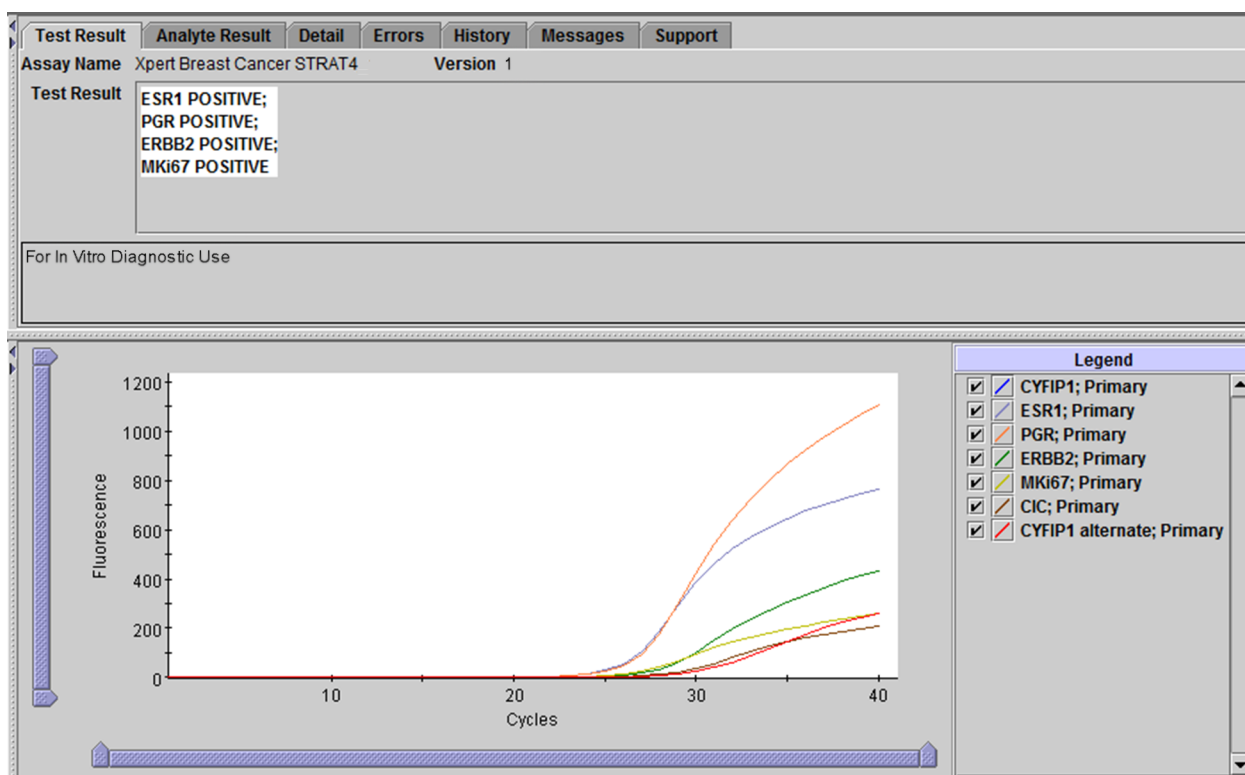
Прикажан резултат	CYFIP1	Алтернативен CYFIP1	CIS
ПОЗИТИВЕН НА <i>ESR1</i> (ESR1 POSITIVE)	УСПЕШНО (PASS)	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН
НЕГАТИВЕН НА <i>ESR1</i> (ESR1 NEGATIVE)	УСПЕШНО (PASS)	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН
ПОЗИТИВЕН НА <i>PGR</i> (PGR POSITIVE)	УСПЕШНО (PASS)	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН
НЕГАТИВЕН НА <i>PGR</i> (PGR NEGATIVE)	УСПЕШНО (PASS)	ПОЗИТИВЕН	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН
ПОЗИТИВЕН НА <i>ERBB2</i> (ERBB2 POSITIVE)	УСПЕШНО (PASS)	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН
НЕГАТИВЕН НА <i>ERBB2</i> (ERBB2 NEGATIVE)	УСПЕШНО (PASS)	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН
ПОЗИТИВЕН НА <i>MKi67</i> (MKi67 POSITIVE)	УСПЕШНО (PASS)	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН
НЕГАТИВЕН НА <i>MKi67</i> (MKi67 NEGATIVE)	УСПЕШНО (PASS)	ПОЗИТИВЕН	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН
НЕОДРЕДЕН НА <i>PGR</i> (PGR INDETERMINATE)	УСПЕШНО (PASS)	НЕГАТИВЕН	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН
НЕОДРЕДЕН НА <i>MKi67</i> (MKi67 INDETERMINATE)	УСПЕШНО (PASS)	НЕГАТИВЕН	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН
ПОВТОРИ ГО ТЕСТОТ (REPEAT TEST)	УСПЕШНО (PASS)	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН	НЕГАТИВЕН
НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)	НЕУСПЕШНО (FAIL)	НЕГАТИВЕН	ПОЗИТИВЕН или НЕГАТИВЕН
ГРЕШКА (ERROR)	НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)
НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)

Табела 2. Репрезентативни резултати и интерпретација на Xpert Breast Cancer STRAT4

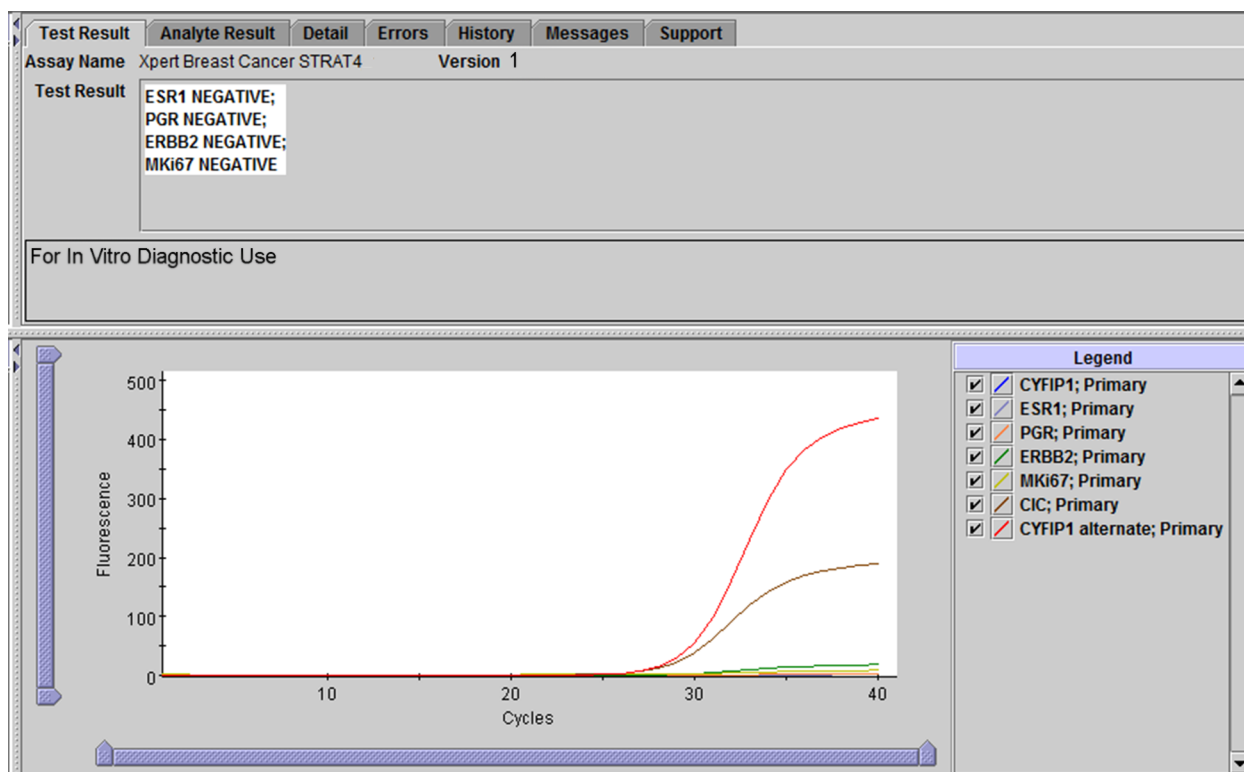
Резултат	Интерпретација
ПОЗИТИВЕН НА ESR1 (ESR1 POSITIVE) Видете Слика 2.	- Транскриптот на mRNA на <i>ESR1</i> е прекумерно изразен и има делта праг на циклусот (dCt) над поставката на граничната вредност. <i>CYFIP1</i> - УСПЕШНО (PASS); Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i> и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
ПОЗИТИВЕН НА PGR (PGR POSITIVE) Видете Слика 2.	- Транскриптот на mRNA на <i>PGR</i> е прекумерно изразен и има делта праг на циклусот (dCt) над поставката на граничната вредност. <i>CYFIP1</i> - УСПЕШНО (PASS); Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i> и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
ПОЗИТИВЕН НА ERBB2 (ERBB2 POSITIVE) Видете Слика 2.	- Транскриптот на mRNA на <i>ERBB2</i> е прекумерно изразен и има делта праг на циклусот (dCt) над поставката на граничната вредност. <i>CYFIP1</i> - УСПЕШНО (PASS); Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i> и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
ПОЗИТИВЕН НА MKI67 (MKI67 POSITIVE) Видете Слика 2.	- Транскриптот на mRNA на <i>MKI67</i> е прекумерно изразен и има делта праг на циклусот (dCt) над поставката на граничната вредност. <i>CYFIP1</i> - УСПЕШНО (PASS); Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i> и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
НЕГАТИВЕН НА ESR1 (ESR1 NEGATIVE) Видете Слика 3.	- Транскриптот на mRNA на <i>ESR1</i> не е прекумерно изразен и има делта праг на циклусот (dCt) под поставката на граничната вредност. <i>CYFIP1</i> - УСПЕШНО (PASS); Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i> и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
НЕГАТИВЕН НА PGR (PGR NEGATIVE) Видете Слика 3.	- Транскриптот на mRNA на <i>PGR</i> не е прекумерно изразен и има делта праг на циклусот (dCt) под поставката на граничната вредност. <i>CYFIP1</i> - УСПЕШНО (PASS); Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i> и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Алтернативен <i>CYFIP1</i> - ПОЗИТИВЕН; <i>CYFIP1</i> има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.

Резултат	Интерпретација
НЕГАТИВЕН НА ERBB2 (ERBB2 NEGATIVE) Видете Слика 3.	- Транскриптот на mRNA на <i>ERBB2</i> не е прекумерно изразен и има делта праг на циклусот (dCt) под поставката на граничната вредност. <i>CYFIP1</i> - УСПЕШНО (PASS); Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i> и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
НЕГАТИВЕН НА MKi67 (MKi67 NEGATIVE) Видете Слика 3.	- Транскриптот на mRNA на <i>MKi67</i> не е прекумерно изразен и има делта праг на циклусот (dCt) под поставката на граничната вредност. <i>CYFIP1</i> - УСПЕШНО (PASS); Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i> и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Алтернативен <i>CYFIP1</i> - ПОЗИТИВЕН; <i>CYFIP1</i> има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
Неодреден на PGR (PGR Indeterminate) Видете Слика 4.	- Нивото на изразеност на mRNA на <i>PGR</i> не може да се одреди заради тоа што примерокот содржи недоволно материјал. Повторете го тестот со користење поконцентриран лизат. <i>CYFIP1</i> - УСПЕШНО (PASS); Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i> и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Алтернативен <i>CYFIP1</i> - НЕГАТИВЕН; Прагот на циклусот (Ct) на <i>CYFIP1</i> не беше во рамките на важечкиот опсег или крајната точка беше под поставката на прагот неопходна за одредување на статусот на PGR. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
Неодреден на MKi67 (MKi67 Indeterminate) Видете Слика 4.	- Нивото на изразеност на mRNA на <i>MKi67</i> не може да се одреди заради тоа што примерокот содржи недоволно материјал. Повторете го тестот со користење поконцентриран лизат. <i>CYFIP1</i> - УСПЕШНО (PASS); Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i> и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Алтернативен <i>CYFIP1</i> - НЕГАТИВЕН; Прагот на циклусот (Ct) на <i>CYFIP1</i> не беше во рамките на важечкиот опсег или крајната точка беше под поставката на прагот неопходна за одредување на статусот на MKi67. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
ПОВТОРИ ГО ТЕСТОТ (REPEAT TEST) Видете Слика 5.	- Нивоата на изразеност на mRNA на <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> не може да се одредат. Повторете го тестот со користење аликувта од задржаниот лизат на примерок FFPE. <i>CYFIP1</i> - УСПЕШНО (PASS); Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i> и има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - Алтернативен <i>CYFIP1</i> - ПОЗИТИВЕН/НЕГАТИВЕН; Откриен е транскрипт на mRNA на <i>CYFIP1</i>. Транскриптот може, но не мора да има праг на циклусот (Ct) во рамките на важечкиот опсег и крајна точка над поставката на прагот. - CIC - НЕГАТИВЕН; внатрешната контрола има праг на циклусот (Ct) надвор од важечкиот опсег. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.

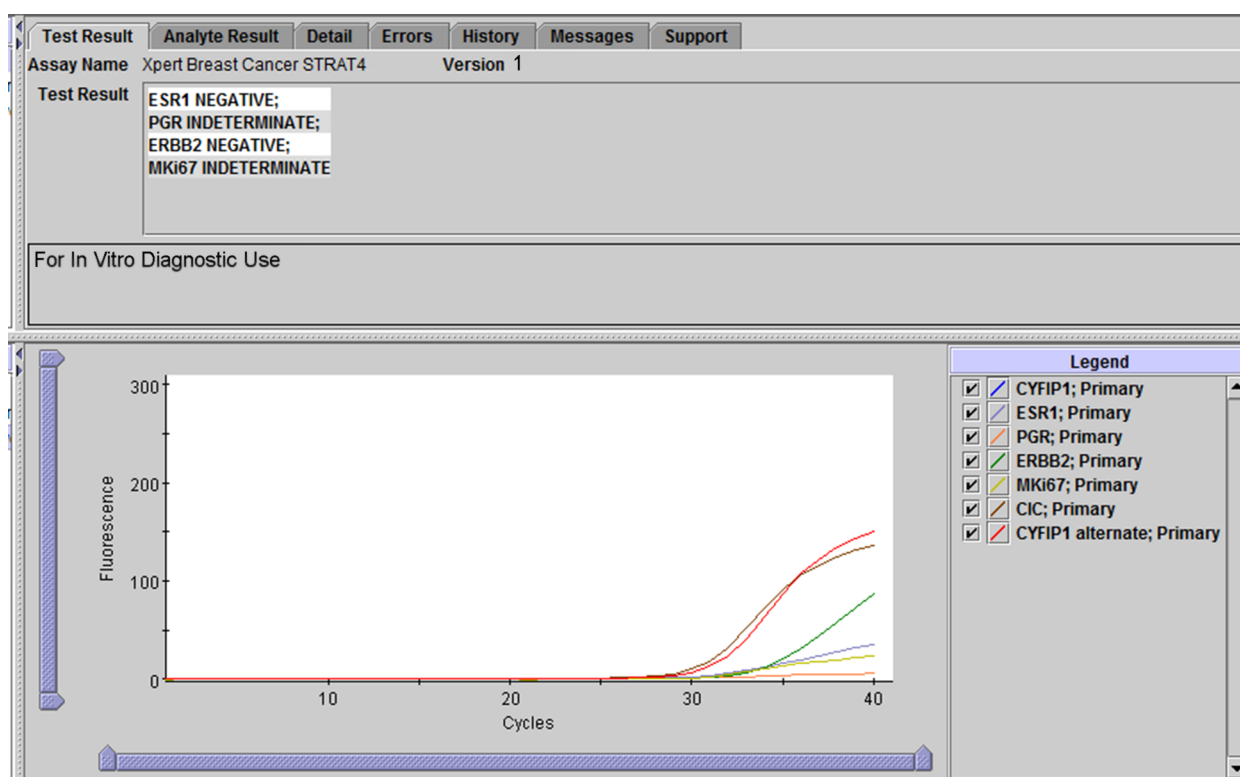
Резултат	Интерпретација
НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)	- НЕВАЖЕЧКИ (INVALID) - Нивоата на изразеност на mRNA на <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> не може да се одредат заради тоа што примерокот содржи недоволно материјал. Повторете го тестот со користење поконцентриран лизат. <i>CYFIP1</i> - НЕУСПЕШНО (FAIL); Прагот на циклусот (Ct) на <i>CYFIP1</i> не беше во рамките на важечкиот опсег или крајната точка беше под поставката на прагот. - Алтернативен <i>CYFIP1</i> - НЕГАТИВЕН; Прагот на циклусот (Ct) на <i>CYFIP1</i> не беше во рамките на важечкиот опсег или крајната точка беше под поставката на прагот. - Проверка на сондата - УСПЕШНО (PASS); сите резултати од проверките на сондите се успешни.
ГРЕШКА (ERROR)	- Нивоата на изразеност на mRNA на <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> не може да се одредат. Повторете го тестот со користење аликвота од задржаниот лизат на примерок FFPE. <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> - НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) - Алтернативен <i>CYFIP1/CYFIP1</i> - НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) - Проверка на сондата - УСПЕШНО*/НЕУСПЕШНО (PASS*/FAIL); сите или еден од резултатите од проверките на сондите се неуспешни. * Доколку проверката на сондата е успешна, грешката била предизвикана од надминување на прифатливиот опсег на максималното ограничување на притисокот, од грешка во совпаѓањето на кривата или од дефект на системска компонента.
НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	- Нивоата на изразеност на mRNA на <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> не може да се одредат. Собрани се недоволно податоци за да се произведе резултат од тестот. На пример, до ова може да дојде ако операторот запрел тест што бил во тек. Повторете го тестот со користење на задржаниот лизат на примерок FFPE. <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> - НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) - Алтернативен <i>CYFIP1/CYFIP1</i> - НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) - Проверка на сондата – НП (NA) (не е применливо)



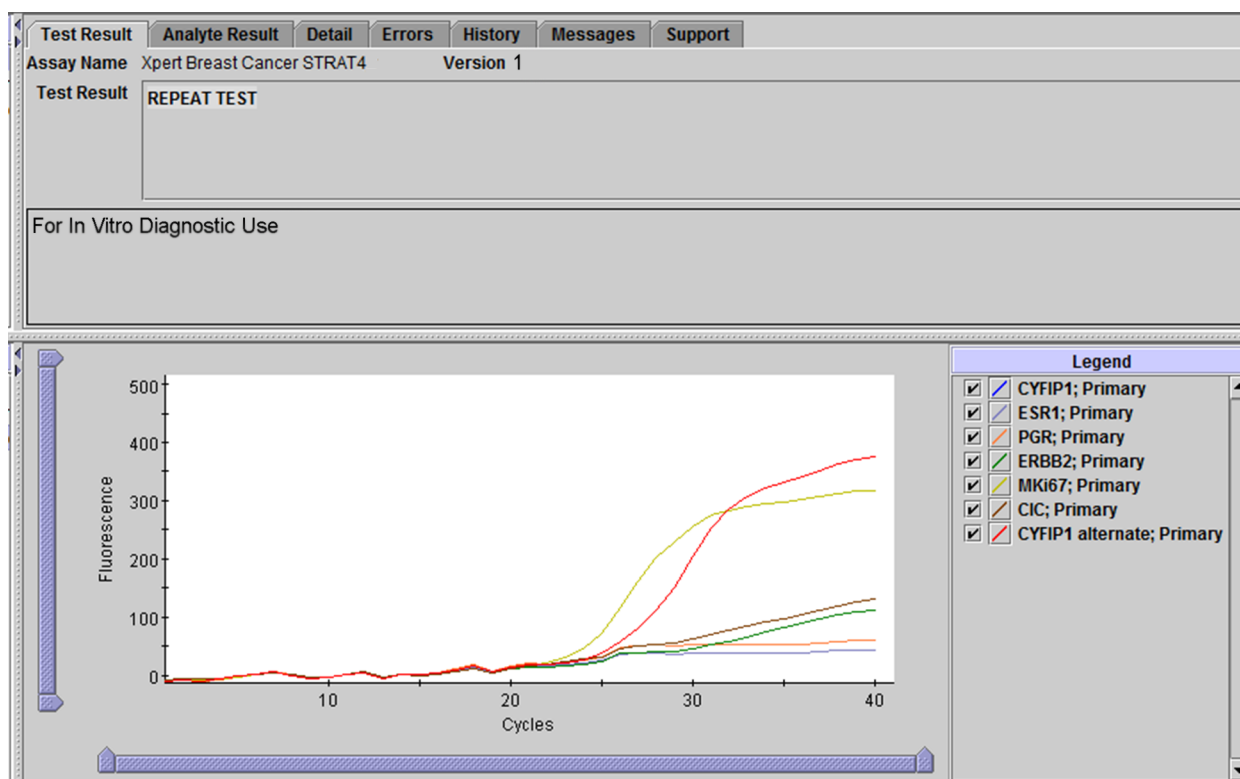
Слика 2. Прозорец за преглед на резултати на GeneXpert Dx: ПОЗИТИВЕН НА ESR1/PGR/ERBB2/MKI67



Слика 3. Прозорец за преглед на резултати на GeneXpert Dx: НЕГАТИВЕН НА ESR1/PGR/ERBB2/MKI67



Слика 4. Прозорец за преглед на резултати на GeneXpert Dx: НЕОДРЕДЕН НА PGR/MKI67



Слика 5. Прозорец за преглед на резултати на GeneXpert Dx: ПОВТОРИ ГО ТЕСТОТ (REPEAT TEST)

16 Причини за повторување на тестот

Повторете го тестот со користење нов патрон (не употребувајте го патронот повторно) и нови реагенси.

- Резултат **ПОВТОРЕН ТЕСТ (REPEAT TEST)** укажува на тоа дека внатрешната контрола не успеала. Примерокот не бил правилно обработен. Во овој случај, повторете го тестот со користење нова аликувота од 520 µl од истиот лизат FFPE.
- **НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)** резултат укажува на тоа дека референтната контрола не успеала. Примерокот не бил правилно обработен, PCR била инхибирана или квалитетот на РНК во анализираниот тумор бил неадекватен. Во овој случај, повторете го тестот со поконцентриран лизат FFPE според упатствата во упатството за употреба на комплетот за лиза FFPE.
- Резултат **ГРЕШКА (ERROR)** укажува на тоа дека контролата за проверка на сондата била неуспешна и анализата била прекината веројатно поради неправилно наполнета епрувета за реакција, бидејќи бил откриен проблем со интегритетот на сондата за реагенси, бидејќи биле надминати максималните ограничувања за притисокот или бидејќи била откриена грешка во позиционирањето на вентилот. Во овој случај, повторете го тестот со користење нова аликувота од 520 µl од истиот лизат FFPE.
- **НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)** укажува на тоа дека се собрани недоволно податоци. На пример, операторот запрел тест што бил во тек или дошло до прекин во напојувањето со електрична енергија. Во овој случај, повторете го тестот со користење нова аликувота од 520 µl од истиот лизат FFPE.
- Ако надворешната контрола на квалитетот не даде резултати според очекувањето, повторете го тестот за надворешна контрола и/или контактирајте со Cepheid за помош.

17 Ограничувања

- Менувањето на овие постапки може да ги промени резултатите од тестот. Резултатите од тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 треба да се интерпретираат заедно со други лабораториски и клинички податоци кои му се достапни на лекарот.
- Резултатите од Xpert Breast Cancer STRAT4 се потврдени со користење постапки дадени само во ова упатство за употреба и со користење примероци FFPE кои беа стари пет до десет години.
- Резултатите од Xpert Breast Cancer STRAT4 се потврдени со користење постапки дадени само во ова упатство за употреба.
- Може да се појават погрешни резултати од тестот од неправилно земање, ракување, чување на примероците или мешање на примероците. Неопходно е внимателно почитување на упатствата во ова упатство за употреба за да се избегнат погрешни резултати.
- Карактеристиките на резултатите не беа утврдени за пациенти помлади од 25 години.
- Мутациите или полиморфизмите во регионите на поврзување на прајмерите или сондите може да доведат до погрешни, но реалистични резултати за *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKi67*.

18 Карактеристики на резултатите

18.1 Клинички резултати

Карактеристиките на резултатите за тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 беа проценети во однос на резултатите од IHC за ER, PR, HER2 и Ki67 и во однос на флуоресцентната *ин ситу* хибридизација (FISH) за засилувањето на генот HER2 во центрите во САД и ЕУ. На почетокот, вкупно 211 деидентификувани преостанати примероци FFPE од примарни тумори на инвазивен рак на дојка од САД и ЕУ беа вклучени во оваа студија. Десет примероци беа исклучени бидејќи не беше достапен доволно тумор за тестирањето, а еден примерок беше исклучен поради повлечена согласност. На тој начин, вкупно 200 примероци беа достапни за вклучување во анализите на податоците. За секој примерок FFPE, беа подготвени повеќе лабораториски стакленца за тестирање со Xpert; за тестирање IHC на ER, PR, HER2 и Ki67; и за тестирање FISH на засилувањето на генот HER2.

Вкупно, Xpert Breast Cancer STRAT4 даде важечки резултати при првиот обид за тестирање за 99,5 % (199/200) од студиските примероци. Еден примерок што на почетокот даваше неодреден резултат (**ГРЕШКА (ERROR)**, **НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)** или **НЕМА РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)**) даде резултат од тестот по едно повторно тестирање. Вкупната стапка на успешност на анализата беше 100,0 % (200/200).

Од 200-те примероци со важечки резултати од тестот Xpert, ESR1 и ERBB2 дадоа важечки позитивен или негативен резултат од тестот 100 % од времето (200/200). За PGR и MKi67, Xpert даде важечки позитивен или негативен резултат од тестот во 98,5 % (197/200) и 97,0 % (194/200) од случаите, соодветно. Седумте примероци со неодредени резултати од Xpert за PGR и/или MKi67 беа повторно тестирани со користење метод на концентриран лизат FFPE. И почетните (прв обид) и резултатите од повторното тестирање се прикажани во Табела 3.

За целата збирка на податоци, вклучувајќи ги и резултатите од повторното тестирање, Xpert Breast Cancer STRAT4 покажа позитивна процентуална усогласеност (PPA) од 97,2 %, негативна процентуална усогласеност (NPA) од 95,0 % и вкупна процентуална усогласеност (OPA) од 97,0 % за ESR1 во однос на IHC;¹⁸ PPA од 88,4 %, NPA од 90,7 % и OPA од 88,9 % за PGR во однос на IHC;¹⁸ PPA од 100,0 %, NPA од 92,4 % и OPA од 93,3 % за ERBB2 во однос на IHC;¹⁹ и PPA од 100 %, NPA од 92,0 % и OPA од 93,3 % за ERBB2 во однос на HER2 FISH.¹⁹ За MKi67, PPA од 88,8 %, NPA од 100 % и OPA од 90,7 % со праг на IHC поставен на >20 % за позитивна и <10 % за негативна. Интермедијарните примероци на MKi67 од IHC (10 % - 20 % праг, вклучително) беа исклучени од анализата. Вкупните PPA, NPA и OPA за секоја цел се прикажани во Табела 3.

Табела 3. Клинички резултати

Споредба	Збирка на податоци ^a	Вкупно (n) ^b	PPA	95 % CI	NPA	95 % CI	OPA	95 % CI
ESR1/ER Xpert наспроти IHC	Почетен	199	97,2 % (174/179)	93,6 - 98,8	100 % (20/20)	83,9 - 100	97,5 % (194/199)	94,3 - 98,9
	Повторно тестирање	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 наспроти IHC	Почетен	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
	Повторно тестирање	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 наспроти IHC	Почетен	180	100 % (22/22)	85,1 - 100	92,4 % (146/158)	87,2 - 95,6	93,3 % (168/180)	88,7 - 96,1
	Повторно тестирање	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 наспроти FISH	Почетен	178	100 % (28/28)	87,9 - 100	92,0 % (138/150)	86,5 - 95,4	93,3 % (166/178)	88,6 - 96,1
	Повторно тестирање	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 наспроти IHC + FISH	Почетен	197	100 % (27/27)	87,5 - 100	91,2 % (155/170)	86,0 - 94,6	92,4 % (182/197)	87,8 - 95,3
	Повторно тестирање	197	100 % (27/27)	87,5 - 100	91,2 % (155/170)	86,0 - 94,6	92,4 % (182/197)	87,8 - 95,3
MKi67/Ki67 Xpert наспроти IHC	Почетен	148	88,7 % (110/124)	81,9 - 93,2	100 % (24/24)	86,2 - 100	90,5 % (134/148)	84,7 - 94,3
	Повторно тестирање	151	88,8 % (111/125)	82,1 - 93,2	100 % (26/26)	87,1 - 100	90,7 % (137/151)	85,0 - 94,4

^a Почетен = 1X лизат според упатствата во упатството за употреба; Повторен тест = резултат од повторното тестирање на 4X концентриран лизат во случаи каде почетниот примерок (1X лизат) даде неодреден резултат за PGR и/или MKi67.

^b Примероците со не-одредени или неодредени резултати од Xpert, примероците со несигурни или неодредени резултати од IHC, примероците со неуспешна IHC и неуспешна FISH се исклучени.

19 Аналитичка ефикасност

19.1 Аналитичка чувствителност/Минимален внес на анализа

Минималниот внес на анализата беше одреден со процена на максималниот праг на циклусот на CYFIP1 (референтен ген) којшто точно го одредува внесот на примерокот потребен за цврст резултат од анализата. Овој внес на примерокот обезбедува добивање важечки резултати кај повеќето тестирани клинички примероци FFPE. Примероците со вредност на прагот на циклусот на CYFIP1 поголем од дозволеният ќе генерираат **НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)** резултат.

Аналитичката чувствителност или минималниот внес на анализата за тестот Xpert Breast Cancer STRAT4, дефинирани како максимален праг на циклусот на CYFIP1 што резултира со $\geq 95\%$ важечки резултати, беа утврдени со користење раствори на лизати на клинички примероци FFPE за преиспитување на прагот на циклусот на CYFIP1. За процена на чувствителноста на прагот на циклусот на CYFIP1, сериски беше разреден и тестиран лизат на клинички примерок FFPE со $N = 20$ копии по ниво на разреденост во период од 3 дена сè додека не беа важечки $\leq 95\%$ од резултатите од тестот. Нивоата на разреденост вклучуваа еден примерок со очекуваниот минимален внес на анализата, две нивоа под тоа и две нивоа над. Тестирањето беше извршено на две серии патрони Xpert Breast Cancer STRAT4.

Пред започнувањето на студијата, беше извршено тестирање на границата на бланко примероци со $N = 60$ копии со користење две независни серии патрони Xpert Breast Cancer STRAT4. Границата на бланко примероци се состоеше од бланко парафински дел (без примерок од ткиво) и сите резултати од тестот ги покажаа очекуваните предвидувања за резултати НЕВАЖЕЧКИ (**НЕВАЖЕЧКИ (INVALID)**). Сериските разрежувања на внесот на клиничкиот примерок од ткиво FFPE при 1/1000 дадоа 20/20 важечки прагови на циклусот на CYFIP1 со среден праг на циклусот = 33,4 и 0,6 стандардна девијација од серијата 1 на тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 и среден праг на циклусот = 33,6 и 0,5 стандардна девијација од серијата 2. Дополнителните разрежувања со последните вредности на прагот на циклусот на CYFIP1 не успеаја да го задоволат условот од $\geq 95\%$ важечки резултати потребен за студијата. Табела 4 го сумира бројот на циклуси на важечки тестови при секое ниво на внес на сериски разреден примерок како релативно разрежување или како среден праг на циклусот на CYFIP1. Аналитичката чувствителност со користење две серии патрони за тестирање Xpert Breast Cancer STRAT4 го покажа барањето за минимален внес на анализата за праг на циклусот = 33,4 на CYFIP1. Оваа вредност, комбинирана со варијабилноста на анализата, би овозможила поставување на горната граница на прагот на циклусот = 35 на CYFIP1 за тестот Xpert Breast Cancer STRAT4.

Табела 4. Минимален внес на анализата кај Xpert Breast Cancer STRAT4

Комплет	Внес на примерок (релативно разрежување)	Среден праг на циклусот на CYFIP1	SD	N важечки циклус (Ct ≤ 35)
00801 (серија 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	нп	нп	0/20
00903 (серија 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	нп	нп	0/20

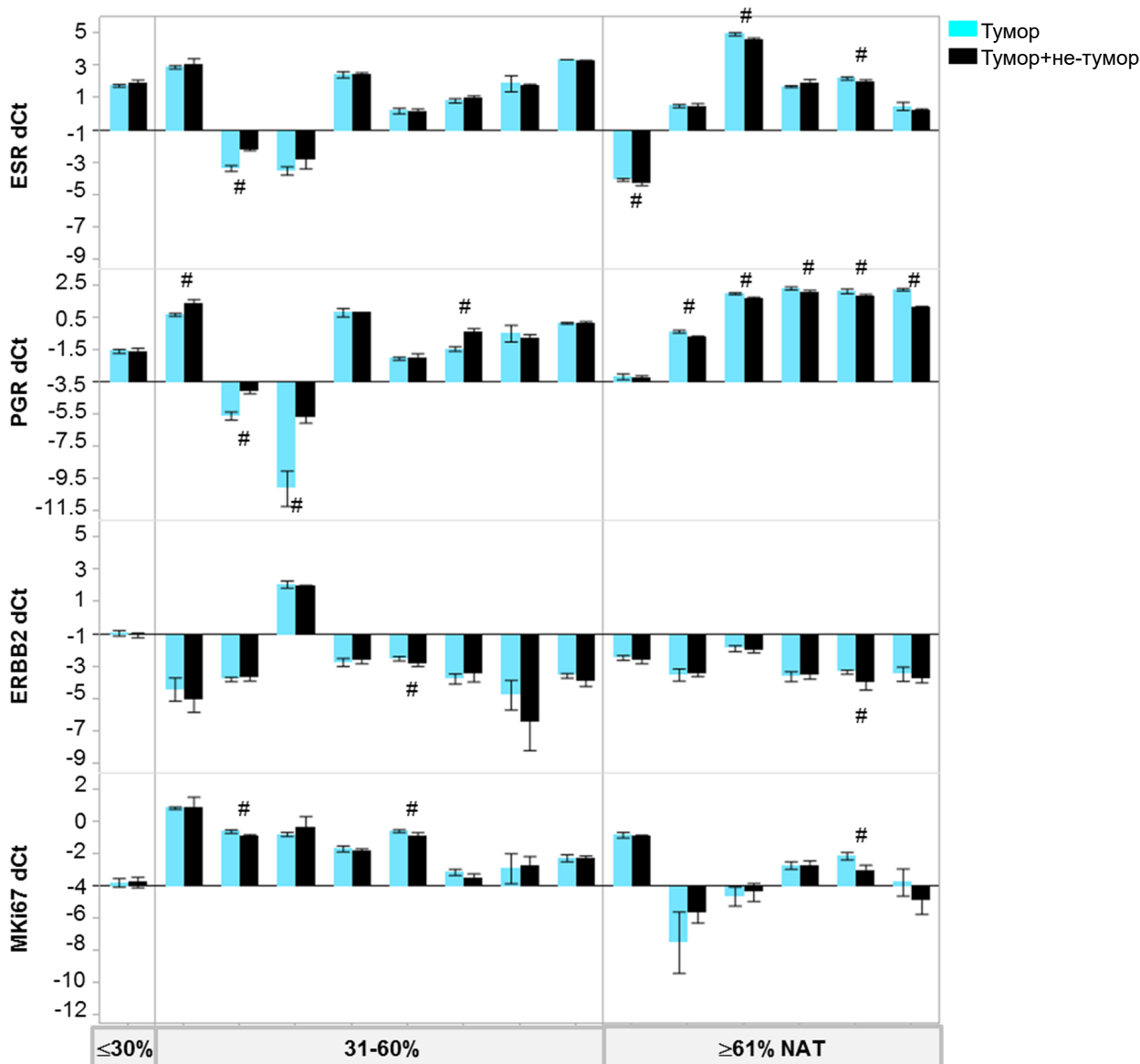
19.2 Тестирање на интерференцијата

Околно нормално/нетуморско ткиво

Нормалните околни (нетуморски) ткива (NAT) се често присутни меѓу примероците на ткиво на рак на дојка како контаминанти кои потенцијално интерферираат со откривањето на одредена цел. Тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 може да бара дисекција на патолошки потврден дел на тумор на дојка FFPE за да се сведат на минимум потенцијалните ефекти од нетуморските контаминанти кај важечки случаи утврдени од патолог. За да се процени ефектот од околните нормални/нетуморски ткива, петнаесет (15) блокатори на ткиво FFPE со инвазивен карцином на дојка со содржина од 21 - 98 % околу NAT беа тестирани со тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 со или без макродисекција. Тестирањето Xpert Breast Cancer STRAT4 беше извршено со N = 4 копии од истиот лизат по состојба. Делта праговите на циклусот на ESR1, PGR, ERBB2 и MKi67 за секој примерок од ткиво со макродисекција (графикон со ленти во сино) или без макродисекција (графикон со ленти во црно) први беа проценети преку еднонасочна анализа на варијансата (ANOVA) за да се утврди статистичката интерференција на NAT. Се сметаше дека има присуство на клинички значителна интерференција од NAT кога ddCt (делта-делта праг на циклусот) меѓу макро и не-макродисекцираните примероци беше >1,0 и имаше промена во резултатот од тестот. Резултатите од студијата се сумирани во Слика 6.

Делта праговите на циклусот на ESR1, PGR, ERBB2 и MKi67 на сите 15 примероци беа групирани врз основа на % NAT ($\leq 30\%$, 31 - 60 % или $\geq 61\%$). Графиконите со сини и црни вертикални ленти со SD ги претставуваат средните целни делта прагови на циклусот од N = 4 копии на макро и не-макродисекцираните делови FFPE на блокатор на инвазивен рак на дојка FFPE. Сите 15 блокатори FFPE (N = 1 под 30 % NAT, N = 8 со 31 - 60 % NAT и N = 6 над 60 % NAT) не прикажаа статистичка значителност на интерференцијата на околното нормално/нетуморско ткиво врз основа на анализи на еднонасочна ANOVA со p-вредност $\geq 0,05$; или не прикажаа клиничка значителност (обележано како #) ако варијацијата на вредностите на делта прагот на циклусот на секоја цел меѓу макродисекцираните и не-макродисекцираните примероци беше $\leq 1,0$ или кога резултатите од тестот на целта (позитивен, негативен) останаа незасегнати.

Слика 6. Интерференција на околното нормално/нетуморско ткиво со целните делта прагови на циклусот на Xpert Breast Cancer STRAT4



Дуктален карцином ин ситу (DCIS), некротично, хеморагично ткиво

За да се процени ефектот на дукталниот карцином ин ситу (DCIS), некротичните и хеморагичните ткива, вкупно 9 примероци на рак на дојка FFPE (3 блокатори на рак на дојка FFPE што содржат 3 - 61 % DCIS, 3 блокатори FFPE што содржат 10 - 65 % некротично ткиво и 3 блокатори FFPE што содржат 15 - 41 % хеморагично ткиво) беа тестираны со тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 со и без макродисекција. Тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 беше извршен со N = 4 копии од истиот лизат по состојба. Беше утврдено дека сите состојби немаат статистичко или клиничко значително влијание од променливите контаминации на DCIS, некротичното и хеморагичното ткиво со користење на тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 (не се прикажани графички податоци).

Хумана геномска ДНК (hgDNA)

Тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 користи високоспецифични прајмери и сонди за ефикасна хибридизација со целните шаблони на mRNA на ESR1, PGR, ERBB2 и MKI67 од група на геномски нуклеински киселини (хумана геномска ДНК = hgDNA). За процена на ефектот на hgDNA врз тестот Xpert Breast Cancer STRAT4, 10 блокатори на рак на дојка FFPE со променлива содржина на клетки на инвазивен дуктален карцином беа макродисекцирани и тестираны со и без додавање 25 ng hgDNA во лизатите на примерокот FFPE со користење на тестот Xpert Breast

Cancer STRAT4 во N = 4 копии од истиот лизат по состојба. Беше утврдено дека сите состојби на тестот немаат статистичко или клиничко значително влијание врз интерференцијата на hgDNA (не се прикажани графички податоци).

19.3 Вкрстена контаминација

Направена е студија за да се покаже дека вградените патрони за еднократна употреба GeneXpert ја сведуваат на минимум вкрстената контаминација од многу високопозитивни примероци во последователен циклус на негативни примероци во истиот модул на GeneXpert. Студијата се состоеше од негативен примерок обработен во истиот модул на GeneXpert веднаш по високопозитивен примерок на ESR1/PGR/ERBB2/MKi67. Негативниот примерок се состоеше од *ин витро*-транскрибирана (IVT) PHK со содржина на транскрипт на CYFIP1 во 5×10^4 копии за да се осигура присуството на целта на референтниот ген. Високопозитивниот примерок се состоеше од IVT PHK со содржина на транскрипт на CYFIP1 во 5×10^5 копии и IVT PHK со содржина на транскрипти на ESR1, PGR, ERBB2 и MKi67 во 5×10^6 копии, подготвени како лизат FFPE. Шемата на тестирање беше повторена 41 пат со користење единечен модул на GeneXpert за вкупно 20 високопозитивни и 21 негативни примероци. Сите 20 високопозитивни примероци беа правилно дадени како ПОЗИТИВЕН на ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 (ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 POSITIVE) и сите 21 негативни примероци беа правилно дадени како НЕГАТИВЕН на ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 (ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 NEGATIVE).

19.4 Репродуцибилност и прецизност на анализата

Репродуцибилноста на Xpert Breast Cancer STRAT4 беше проценета со користење панел од пет примероци на лизати.

Три членови на панелот беа подготвени со додавање *ин витро* транскрибирана (IVT) PHK во пуфер за лиза на FFPE спикунан во рамките на ~ 2 делта прагови на циклус на граничните вредности на делта прагот на циклусот за ESR1 (1 IVT PHK), PGR (2 IVT PHK) и ERBB2 (3 IVT PHK) и со вредности на прагот на циклусот на CYFIP1 од ~ 2 - 3 прагови на циклусот од нивото на минималниот внес на анализата.

Два члена на панелот (4 клинички примерок FFPE и 5 клинички примерок FFPE) беа создадени од групирани клинички примероци FFPE во пуфер за лиза FFPE за генерирање вредности на прагот на циклусот на CYFIP1 блиску до минималниот внес на анализата и за добивање гранични вредности на делта прагот на циклусот за сите цели ширум прагот за известување и, доколку е можно, блиску до граничните вредности на делта прагот на циклусот на анализата.

Два оператори во секој од трите студиски центри тестираа два панели од шест примероци на ден во период од шест дена за тестирање (пет примероци x шест дена x два оператори x две копии x три центри). Вкупно беа тестирани 72 копии по примерок. Беа употребени три серии патрони Xpert Breast Cancer STRAT4 во секој од трите центри за тестирање. Тестот Xpert Breast Cancer STRAT4 беше извршен според постапката во ова упатство за употреба.

Репродуцибилноста на Xpert Breast Cancer STRAT4 беше проценета во смисол на делта прагот на циклусот за секоја од четирите цели за секој панел. Средната вредност, стандардната девијација (SD) и коефициентот на варијација (CV) меѓу-центри, меѓу-сериите, меѓу-деновите, меѓу-операторите и во рамки на-анализите за секој член на панелот се претставени во Табела 5.

Табела 5. Резиме на податоците за репродукцибилноста

Примерок	Канал на анализа (аналит)	N ^a	Среден делта праг на циклусот	Меѓу-центар		Меѓу-серија		Меѓу-ден		Меѓу-оператор		Во рамки на-анализа		Вкупно	
				Варијанса	CV (%)	Варијанса	CV (%)	Варијанса	CV (%)	Варијанса	CV (%)	Варијанса	CV (%)	Варијанса	CV (%)
1-IVT PHK	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 PHK	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 PHK	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

Примерок	Канал на анализа (аналит)	N ^a	Среден делта праг на циклусот	Меѓу-центар		Меѓу-серија		Меѓу-ден		Меѓу-оператор		Во рамки на-анализа		Вкупно	
				Варијанса	CV (%)	Варијанса	CV (%)	Варијанса	CV (%)	Варијанса	CV (%)	Варијанса	CV (%)	Варијанса	CV (%)
	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
	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- Клинички примерок FFPE	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- Клинички примерок FFPE	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 Резултати со важечки вредности на делта прагот на циклусот од 72

20 Референци

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, Karaïskos I, Alexiou I, Pateras I, Konstantoudakis K, Stamatakis M. Correlation between Ki67 and breast cancer prognosis. Oncology. 2013;84:219-225.
10. Fasching PA, Heusinger K, Haeberle 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. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 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 Локации на корпоративните седишта на Cepheid

Корпоративно седиште

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европско седиште

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Техничка помош

Соберете ги следните информации пред да стапите во контакт со одделот за техничка поддршка на Cepheid:

- Име на производот
- Број на серијата
- Сериски број на инструментот
- Пораки за грешка (ако има)
- Верзија на софтверот и, ако е применливо, број на ознаката за сервис на компјутерот

Соединети Држави

Телефон: + 1 888 838 3222

Е-пошта: techsupport@cepheid.com

Франција

Телефон: + 33 563 825 319

Е-пошта: support@cepheideurope.com

Информациите за контакт за сите канцеларии за техничка поддршка на Cepheid се достапни на нашата интернет-страница: www.cepheid.com/en/support/contact-us

23 Табела на симболи

Симбол	Значење
	Каталошки број
	<i>In vitro</i> дијагностички медицински уред
	Ознака CE – Европска сообразност
	Овластен претставник на Европската заедница
	Да не се употребува повторно
	Код на серијата
	Видете го упатството за употреба
	Внимание
	Производител
	Земја на производство
	Содржи доволно за <i>n</i> тестови
	Контрола
	Рок на траење
	Ограничување на температурата
	Биолошки ризици
	Овластен претставник во Швајцарија

Симбол	Значење
	Увозник



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 Историја на ревизии

Дел	Опис на промената
Низ целиот документ	Избришани се референците за софтверот ONCore.