

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4

REF GXBCSTRAT4-CE-10

Инструкция по эксплуатации



Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

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[®], логотип Cepheid, GeneXpert[®] и Xpert[®] являются товарными знаками компании Cepheid, зарегистрированными в США и других странах.

Все остальные товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

© 2017—2025 Cepheid.

Изменения в документе описаны в разделе «История изменений».

Xpert® Breast Cancer STRAT4

Медицинское изделие для диагностики *in vitro*

1 Патентованное название

Xpert® Breast Cancer STRAT4

2 Общепринятое или распространенное наименование

Xpert Breast CA STRAT4

Xpert BC STRAT4

3 Целевое использование

Xpert Breast Cancer STRAT4 является основанным на полимеразной цепной реакции полуколичественным тестом с качественными значениями порога для мРНК эстрогенового рецептора (*ESR1*), прогестеронового рецептора (*PGR*), рецептора 2 эпидермального фактора роста человека (*ERBB2/HER2*) и маркера пролиферации Ki-67 (*MKi67*), выделенной из фиксированной формалином парафинизированной ткани (ФФПТ) инвазивного рака молочной железы. Эта РНК выделена из определенной патогистологом богатой опухолевыми клетками области микропрепарата среза ткани. Этот тест следует использовать в сочетании с другими клиническими и лабораторными данными для классификации тканей рака молочной железы по их статусу гормональных рецепторов, рецепторов HER2 и маркера пролиферации. Этот тест предназначен для применения с системой GeneXpert®, которая включает выделение РНК из ткани, обработанной методом ФФПТ, а также амплификацию и обнаружение целевых последовательностей в картридже.

Тест Xpert Breast Cancer STRAT4 не предназначен для применения в качестве:

- фактора прогноза тяжести заболевания
- самостоятельного изделия для диагностического исследования на рак молочной железы
- фактора прогноза рецидива заболевания

Показания к применению: этот тест предназначен для определения уровней мРНК *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKi67* в тканях инвазивного рака молочной железы, полученных у пациентов и приготовленных по методу ФФПТ, а также в качестве вспомогательного средства клинической оценки в сочетании с другими данными лабораторных исследований.

4 Краткие сведения и разъяснения

Рак молочной железы является одним из наиболее распространенных видов рака у женщин во всем мире. Ежегодно регистрируют примерно 1,7 миллиона новых случаев рака молочной железы.¹ В Европе ежегодно диагностируют примерно 494 000 новых случаев, и 143 000 пациентов умирают от этого заболевания. В США было диагностировано 200,000 примерно новых случаев инвазивного рака молочной железы в 2015.² Рак молочной железы является самой частой причиной смерти от рака у женщин в развивающихся странах и стоит на втором месте (после рака легких) по смертности от рака у женщин в развитых странах.²

У женщин рак груди является наиболее часто диагностируемым раком и ведущей причиной смерти от рака.¹ Смертность от рака молочной железы снизилась на 34 процента с 1990 г. в основном в связи с улучшением лечения и ранним выявлением.³ Измерения экспрессии белков ER и PR дают основания для прогноза исходов рака молочной железы и прогноза ответа на тамоксифен и другие гормональные препараты.^{4,5,6,7} Избыточная экспрессия HER2 коррелирует с неблагоприятным прогнозом у женщин с раком молочной железы. Однако еще более важно то, что

избыточная экспрессия белка HER2 (ERBB2) или амплификация гена HER2 являются факторами прогноза ответа на лечение трастузумабом и другими препаратами, действие которых направлено на HER2.⁸ Маркер пролиферации Ki-67 (MKi67) был тщательно изучен в ретроспективных исследованиях пациентов с раком молочной железы⁹ и считается важным индикатором потребности в химиотерапии.¹⁰ Метаанализы показали, что он связан с худшими исходами в отношении выживаемости на ранних стадиях рака молочной железы.¹¹ С учетом важности этих факторов для выбора эффективного метода лечения пациентов с раком молочной железы лечебные указания Европейского общества медицинской онкологии (European Society for Medical Oncology, ESMO) рекомендуют исследование всех первичных карцином молочной железы на ER, PR, HER2 (ERBB2) и Ki67 при постановке диагноза.¹²

Для измерения экспрессии белков ER, PR, HER2 и Ki67 обычно применяют методы иммуногистохимии (ИГХ). Для экспрессии HER2 первым тестом обычно является ИГХ анализ, результаты которого оценивают по шкале от 0 до 3+. При получении сомнительного (2+) результата определения экспрессии HER2 образец дополнительно исследуют на HER2 методом гибридизации *in situ* (ISH), например, методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) или хромогенной гибридизации *in situ* (CISH), которая определяет амплификацию гена HER2.¹³ Методы ИГХ и ISH характеризуются значительной вариабельностью результатов, полученных в разных лабораториях, в основном из-за различий используемых для ИГХ антител и субъективных методов интерпретации.¹⁴

Тест Xpert Breast Cancer STRAT4 является диагностическим тестом *in vitro*, применяемым для определения уровней экспрессии мРНК *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKi67*, изолированной из образцов ФФПТ молочной железы, полученных у пациентов с инвазивной формой рака молочной железы.

Этот тест выполняется в автономном картридже после кратковременного этапа приготовления лизата вне прибора, что требует менее 15 минут рабочего времени с общим временем выполнения теста менее 2 часов.

5 Принципы проведения процедуры

Тест Xpert Breast Cancer STRAT4 – это тест, выполняемый методом полимеразной цепной реакции с (ПЦР) в режиме реального времени для обнаружения мРНК *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKi67*, выделенных из формалин-фиксированной парафинизированной ткани (ФФПТ) инвазивного рака молочной железы. Этот тест выполняют на системе приборов Cepheid GeneXpert. В системе приборов GeneXpert объединены и автоматически выполняются процессы очистки образцов, амплификации нуклеиновых кислот и выявления целевой последовательности в простых и сложных образцах с использованием методов ОТ-ПЦР. Система состоит из прибора, сканера штрихкодов, компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. В этих системах применяются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реактивы для ОТ-ПЦР и в которых происходит процесс ОТ-ПЦР. Полное описание систем приведено в руководствах оператора соответствующих приборов системы GeneXpert.

В комплект теста Xpert Breast Cancer STRAT4 входят реагенты для одновременного обнаружения *ESR1*, *PGR*, *ERBB2*, *MKi67*, референсного гена взаимодействующего с FMR1 цитоплазматического белка 1 (CYFIP1), внутренний контроль ОТ-ПЦР (CIC) и внутренний контроль зондов (Probe Check Control, PCC). Референсный ген служит для проверки правильности обработки образца и используется для нормализации уровней экспрессии мРНК *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKi67*. Внутренний контроль ОТ-ПЦР (CIC) применяется как свидетельство правильности протекания ОТ-ПЦР. PCC проверяет регидратацию гранул реактива, заполнение пробирки ОТ-ПЦР, целостность зонда и стабильность красителя в картридже. В целом этот тест использует шесть отдельных флуоресцентных каналов для обнаружения целевых последовательностей или контроля/референсного гена со своими собственными параметрами порогов для определения валидности целевых последовательностей/контроля/референсного гена.

Подготовленные методом ФФПТ образцы следует сначала обработать лизирующим набором Xpert® FFPE Lysis Kit путем приготовления среза ткани толщиной 4–5 мкм (микронов) с предварительным макроскопическим иссечением ФФПТ, если это необходимо для обогащения области инвазивной опухоли. Затем выполняют соскоб и помещают материал в пробирку с рекомендованным объемом лизирующего реагента для ФФПТ и протеиназой К. После чего этот раствор инкубируют в нагревательном блоке при 80 °C в течение 30 минут. После этого к образцу добавляют этанол и рекомендованный объем приготовленного лизата образца вносят непосредственно в аналитический картридж. Аналитический картридж устанавливают в модуль системы приборов GeneXpert, где выполняются полностью автоматизированные и объединенные системой процессы очистки нуклеиновых кислот, амплификации и обнаружения в реальном времени. В картридж заранее загружены все реактивы, необходимые для подготовки образца в приборе и ОТ-ПЦР анализа. Содержащиеся в лизате нуклеиновые кислоты задерживаются фильтром, отмываются и элюируются с ультразвуковой обработкой. Очищенные нуклеиновые кислоты смешивают с сухими реагентами для ОТ-ПЦР, и полученный раствор переносят в реакционную пробирку для проведения ОТ-ПЦР и детектирования. Продолжительность теста GeneXpert до получения результата составляет примерно 75 минут.

Пороговые значения детекции, применяемые в каждом флуоресцентном канале теста Xpert Breast Cancer STRAT4, установлены для достижения максимального положительного, отрицательного и общего процентного совпадения по сравнению с референсными результатами ИГХ или ИГХ/FISH в лаборатории для каждой целевой последовательности. Процедуры выполнения и оценки ИГХ для ER, PR, Ki67 и HER2, а также FISH для HER2 проведены в соответствии с указаниями инструкций по применению. Интерпретация результатов была выполнена в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP 2013.¹⁵ Опухоли классифицировали как ER- или PR ИHC-положительные при условии, что ≥ 1 % клеток инвазивной опухоли имели несомненное окрашивание ядер, независимо от его интенсивности. Экспрессию HER2 оценивали с применением ИГХ набора HercepTest (Dako) по шкале 0, 1+, 2+ или 3+. Опухоли с оценкой 2+ дополнительно исследовали методом HER2 FISH с применением набора зондов ДНК PathVysion HER2 (Vysis-Abbott, Chicago, IL). Ткани классифицировали как HER2-положительные при наличии оценки 3+ методом ИГХ и (или) амплификации методом FISH по показателю HER2:CEP17 (отношение $\geq 2,0$) и (или) среднему числу копий HER2 $\geq 6,0$ сигналов на 1 клетку в соответствии с обновленными клиническими рекомендациями ASCO/CAP 2013 г. в отношении тестирования рака молочной железы по HER2.¹⁵ Классификацию опухолей в отношении Ki67 считали положительной (высокое содержание), если несомненное окрашивание ядер обнаруживали в ≥ 20 % клеток инвазивной опухоли, независимо от его интенсивности.

Для случаев контроля референсного гена и внутреннего контроля ОТ-ПЦР пороговые значения детекции соответствовали диапазонам минимального и максимального пороговых циклов (Ct) ПЦР, определяющих действительный результат, достаточный минимальный вход образца и отсутствие подавления ПЦР. Для целевых последовательностей ESR1, PGR, ERBB2 и MKi67 пороги детекции были заданы по дельте порогового цикла (dCt) (Ct референсного гена минус Ct целевого гена), которые определяют результаты ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (POSITIVE) или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE) для данной целевой последовательности в канале.

6 Реагенты и приборы

6.1 Комплект поставки

Набор Xpert Breast Cancer STRAT4 содержит достаточное количество реактивов для обработки 10 образцов контроля качества для ФФПТ лизатов, приготовленных с Xpert FFPE Lysis Kit (каталожный № GXFFPE-LYSIS-CE-10). Набор Xpert Breast Cancer STRAT4 содержит следующее:

Картриджи Xpert Breast Cancer STRAT4 со встроенными реакционными пробирками	10
Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные)	1 в каждом картридже
Ополаскивающий реагент,	1,0 мл в каждом картридже
Элюирующий реагент,	2,0 мл в одном картридже
Компакт-диск	1 в каждом наборе
- Файл описания теста (ADF) - Инструкция по применению	

Примечание

Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке ПОДДЕРЖКА (SUPPORT).

Примечание

Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

7 Хранение и обращение

- Содержимое набора Xpert Breast Cancer STRAT4 следует хранить при температуре 2–28 °C.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.
- Используйте картридж в течение 30 минут, после того как была открыта крышка.
- Не используйте картриджи с признаками утечки.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Лизирующий набор Xpert FFPE (каталожный № GXFFPE-LYSIS-CE-10) для приготовления лизата FFPE. Этот набор содержит лизирующий реагент FFPE, протеиназу К (ПК), пробирки вместимостью 1,5 мл и флаконы вместимостью 5 мл.
- Вихревая мешалка.
- Пипетки и наконечники с аэрозольным фильтром, подходящие для дозирования 600 мкл, 1,2 мкл и 520 мкл.
- Компьютер с патентованным программным обеспечением GeneXpert версии 4.7b или выше, либо Xpertise версии 6.4b или выше, сканер штрих-кодов и соответствующее руководство оператора системы приборов GeneXpert.
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.

9 Предупреждения и меры предосторожности

- Только для диагностических тестов *in vitro*.
- При работе со всеми биологическими образцами следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. При работе со всеми образцами, полученными у человека, требуется соблюдать стандартные меры предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами можно получить во Всемирной организации здравоохранения или в Центрах по контролю и профилактике заболеваний США.

- Следуйте принятым в учреждении правилам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Функциональные характеристики этого теста установлены только для типов образцов, перечисленных в Раздел 3. Функциональные характеристики этого теста для других образцов или типов образцов не определены.
- Ткань FFPE следует обрабатывать лизирующим набором Xpert FFPE (каталожный № GXFFPE-LYSIS-CE-10).
- Неполное удаление (соскоб) области опухоли со слайда для приготовления лизата ФФПТ может привести к получению недостаточного количества материала для теста и, в связи с этим, к более высокому по сравнению с ожидаемым проценту неопределенного результата или результата НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) в тесте Xpert Breast Cancer STRAT4.
- Открывайте крышку картриджа Xpert Breast Cancer STRAT4 только для добавления лизата FFPE.
- Не используйте картридж, если он упал после извлечения из упаковки.
- Не встряхивайте картридж. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению недействительных результатов.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Каждый одноразовый картридж Xpert Breast Cancer STRAT4 применяется для проведения одного анализа. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- Не используйте картридж с влажной поверхностью или с предположительно нарушенной герметичностью крышки.
- Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на этикетке со штрих-кодом.
- Во избежание контаминации образцов и реагентов рекомендуется следовать принципам надлежащей лабораторной практики, включая правило смены перчаток перед началом работы с образцом каждого следующего пациента.
- По вопросам надлежащего удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов проконсультируйтесь с лицами, ответственными за обращение с отходами в вашей организации. Ознакомьтесь с местными, территориальными или региональными нормативами, поскольку они могут отличаться от федеральных нормативов по утилизации отходов. Некоторые материалы могут быть определены как «опасные отходы», на которые распространяются особые требования по утилизации отходов. Учреждениям следует соблюдать требования по удалению опасных отходов.

10 Опасные химические факторы^{16,17}

В соответствии с согласованной на глобальном уровне системой классификации опасности и маркировки химической продукции (Globally Harmonized System for Classification and Labeling, GHS) данный материал не считается опасным.

11 Взятие, транспортировка и хранение образцов

- Используйте только образцы ФФПТ, обработанные Xpert FFPE Lysis Kit (каталожный № GXFFPE-LYSIS-CE-10). При приготовлении ткани ФФПТ выполняйте указания ASCO/CAP¹⁵.
- Лизат следует готовить из опухолевого блока ФФПТ с наибольшим участком жизнеспособной карциномы молочной железы (не менее 30 % опухолевых клеток); при необходимости перед выполнением теста Xpert Breast Cancer STRAT4 следует выполнить ручное макроскопическое иссечение препаратов. Для получения действительных результатов исследования образцов опухоли менее 10 мм², содержащих менее 30 % опухоли, может потребоваться процедура с концентрированным лизатом или анализ более одного среза толщиной 4–5 мкм.
- Лизат ФФПТ следует транспортировать в лабораторию при температуре 2–8 °С.
- Лизат ФФПТ стабилен в течение до 1 недели при 2–8 °С или 4 недель при ≤ -20 °С перед выполнением теста Xpert Breast Cancer STRAT4. Длительное хранение возможно при температуре -80 °С. Рекомендуется не более 1 цикла замораживания-оттаивания. При оттаивании доведите температуру лизата ФФПТ до комнатной и перед использованием обработайте его на вихревой мешалке в течение 15 секунд.

12 Процедура

Важно! Для применения в картридже Xpert Breast Cancer STRAT4 лизат должен быть приготовлен с применением лизирующего набора Xpert FFPE (каталожный номер GXFFPE-LYSIS-CE-10).

Важно! Тест следует начать не позднее чем через 30 минут после введения приготовленного образца в картридж.

12.1 Приготовление лизата FFPE

Подготовьте лизат ФФПТ в соответствии с инструкциями по применению лизирующего набора ФФПТ.

12.2 Подготовка картриджа

1. Извлеките картридж из картонной упаковки.
2. Перед использованием лизата FFPE обработайте его на вихревой мешалке в течение 15 секунд.
3. Откройте крышку картриджа.
4. Пипеткой перенесите 520 мкл лизата FFPE в камеру для образца картриджа. (Примечание: возможно наличие небольшого количества осадка, который не влияет на функциональные параметры теста).

Храните остаток лизата FFPE при 2–8 °C или ≤ -20 °C на случай необходимости повторения теста.



Рисунок 1. Картридж Xpert Breast Cancer STRAT4 (вид сверху)

5. Закройте крышку картриджа. Убедитесь, что крышка надежно защелкнулась на месте.

12.3 Запуск теста

Важно! Перед началом теста убедитесь, что файл с описанием теста (assay definition file, ADF) Xpert Breast Cancer STRAT4 импортирован в программное обеспечение.

В данном разделе описаны требуемые по умолчанию действия для работы с прибором GeneXpert. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемого прибора.

Примечание Выполняемые действия могут быть другими, если системный администратор изменит установленную по умолчанию рабочую последовательность системы.

1. Включите прибор GeneXpert:
 - При использовании прибора GeneXpert Dx следует сначала включить прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx на рабочем столе Windows®.
 - или
 - При использовании прибора GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически или после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения Xpertise, находящегося на рабочем столе Windows.
2. Войдите в программное обеспечение приборной системы GeneXpert, используя свое имя пользователя и пароль. В окне системы GeneXpert щелкните **Создать анализ (Create Test)** (GeneXpert Dx) или щелкните **Orders**

(Команды) и Order Test (Задать команду на проведение анализа) (Infinity). Откроется окно «Создать анализ» («Create Test»).

3. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. Идентификационный номер образца связывается с результатами теста и указывается в окне «Просмотр результатов» (View Results) и во всех отчетах. Открывается диалоговое окно «Сканирование картриджа» (Scan Cartridge).
4. Выполните сканирование штрих-кода картриджа Xpert Breast Cancer STRAT4. Открывается диалоговое окно «Создание теста» (Create Test). На основе информации, считанной со штрихкода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN).
5. Щелкните **Start Test (Начать тест)** (GeneXpert Dx) или **Отправить** (Infinity). При необходимости введите пароль.
6. Для прибора GeneXpert Dx:
 - а) Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
 - б) Закройте дверцу. После этого начинается тест, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса теста индикаторная лампа выключается.
 - в) Прежде чем открывать дверцу модуля, дождитесь разблокирования системой замка дверцы. Извлеките картридж.
 - г) Удаляйте в отходы использованные картриджи в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении. См. Раздел 9.

или

При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

13 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечислены основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов даны в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемого прибора.

1. Щелкните по **Просмотр результатов** значку, чтобы просмотреть результаты.
2. По завершении теста нажмите кнопку **Report (Отчет)** в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и (или) генерирования отчета в формате PDF.

14 Контроль качества

Каждый тест включает контроль референсного гена (*CYFIP1*) и контроль зонда (PCC).

- **Контроль CYFIP1:** Этот референсный ген служит для нормализации уровней экспрессии *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKi67*. Он также служит контролем достаточности образца (Sample Adequacy Control, SAC), обеспечивая достаточное количество РНК в образце. Для получения действительного результата теста требуется минимальный сигнал *CYFIP1*. Сигнал *CYFIP1* ниже минимального уровня или отрицательный указывает на недостаточность количества РНК в образце.
- **Дополнительный CYFIP1:** Это повтор контроля *CYFIP1*, используемый в алгоритме в случаях, когда значения дельты порогового цикла (dCt) *PGR* или *MKi67* ниже установленного порогового значения теста. Эти целевые последовательности требуют дополнительного минимального сигнала *CYFIP1* для обеспечения действительного результата теста.
- **Контроль зондов (PCC):** Перед запуском ПЦР приборная система GeneXpert измеряет флуоресцентный сигнал зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости.
- **Внешние контроли (не входят в комплект поставки):** Внешние контроли могут использоваться в порядке, установленном применимыми требованиями местных, региональных и федеральных уполномоченных организаций.

15 Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются системой приборов GeneXpert System автоматически на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета и четко отображаются во вкладке «Результаты анализов» (Test Results) окна «Просмотреть результаты» (View Results). Результаты анализа и результаты по анализируемым веществам также отображаются в отчете по анализам. Возможные результаты показаны в Таблица 1 и Таблица 2.

Таблица 1. Все возможные окончательные результаты теста Xpert Breast Cancer STRAT4

Отображаемый результат	CYFIP1	Дополнительный CYFIP1	CIC
<i>ESR1</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (ESR1 POSITIVE)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
<i>ESR1</i> ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (ESR1 NEGATIVE)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
<i>PGR</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (PGR POSITIVE)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
<i>PGR</i> ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (PGR NEGATIVE)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖ.	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
<i>ERBB2</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (ERBB2 POSITIVE)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
<i>ERBB2</i> ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (ERBB2 NEGATIVE)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
<i>MKi67</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MKi67 POSITIVE)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
<i>MKi67</i> ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MKi67 NEGATIVE)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖ.	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
<i>PGR</i> НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (PGR INDETERMINATE)	ПРОЙДЕН (PASS)	ОТРИЦ.	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
<i>MKi67</i> НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (MKi67 INDETERMINATE)	ПРОЙДЕН (PASS)	ОТРИЦ.	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
ПОВТОРИТЕ АНАЛИЗ (REPEAT TEST)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ	ОТРИЦ.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	ОТРИЦ.	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ или ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
ОШИБКА (ERROR)	НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)

Таблица 2. Репрезентативные результаты теста Xpert Breast Cancer STRAT4 и их интерпретация

Результат	Интерпретация
ESR1 ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (ESR1 POSITIVE) См. Рисунок 2.	- Повышенная транскрипция мРНК <i>ESR1</i> со значением дельты порогового цикла (dCt) выше установленного значения отсечки. <i>CYFIP1</i> — ПРОЙДЕН (PASS); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i> с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
PGR ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (PGR POSITIVE) См. Рисунок 2.	- Повышенная транскрипция мРНК <i>PGR</i> с дельтой порогового цикла (dCt) выше установленного значения отсечки. <i>CYFIP1</i> — ПРОЙДЕН (PASS); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i> с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
ERBB2 ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (ERBB2 POSITIVE) См. Рисунок 2.	- Обнаружена повышенная транскрипция мРНК <i>ERBB2</i> с дельтой порогового цикла (dCt) выше установленного значения отсечки. <i>CYFIP1</i> — ПРОЙДЕН (PASS); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i> с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
MKi67 ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MKi67 POSITIVE) См. Рисунок 2.	- Повышенная транскрипция мРНК <i>MKi67</i> с дельтой порогового цикла (dCt) выше установленного значения отсечки. <i>CYFIP1</i> — ПРОЙДЕН (PASS); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i> с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
ESR1 ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (ESR1 NEGATIVE) См. Рисунок 3.	- Отсутствие повышения транскрипции мРНК <i>ESR1</i> с дельтой порогового цикла (dCt) ниже установленного значения отсечки. <i>CYFIP1</i> — ПРОЙДЕН (PASS); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i> с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
PGR ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (PGR NEGATIVE) См. Рисунок 3.	- Отсутствие повышения транскрипции мРНК <i>PGR</i> с дельтой порогового цикла (dCt) ниже установленного значения отсечки. <i>CYFIP1</i> — ПРОЙДЕН (PASS); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i> с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. <i>CYFIP1</i> дополнительный — ПОЛОЖ.; <i>CYFIP1</i> имеет пороговый цикл (Ct) в пределах действительного диапазона и конечную точку выше установленного порога. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.

Результат	Интерпретация
ERBB2 ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (ERBB2 NEGATIVE) См. Рисунок 3.	- Отсутствие повышения транскрипции мРНК <i>ERBB2</i> с дельтой порогового цикла (dCt) ниже установленного значения отсечки. <i>CYFIP1</i> — ПРОЙДЕН (PASS); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i> с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
MKi67 ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MKi67 NEGATIVE) См. Рисунок 3.	- Отсутствие повышения транскрипции мРНК <i>MKi67</i> с дельтой порогового цикла (dCt) ниже установленного значения отсечки. <i>CYFIP1</i> — ПРОЙДЕН (PASS); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i> с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. <i>CYFIP1</i> дополнительный — ПОЛОЖ.; <i>CYFIP1</i> имеет пороговый цикл (Ct) в пределах действительного диапазона и конечную точку выше установленного порога. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
PGR неопределенный (PGR Indeterminate) См. Рисунок 4.	- Невозможно определить уровень экспрессии мРНК <i>PGR</i> из-за недостаточного количества материала в образце. Повторите анализ с более концентрированным лизатом. <i>CYFIP1</i> — ПРОЙДЕН (PASS); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i> с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. <i>CYFIP1</i> дополнительный — ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; <i>CYFIP1</i> имеет пороговый цикл (Ct) за пределами действительного диапазона или конечную точку ниже установленного порога, необходимого для определения статуса PGR. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
MKi67 неопределенный (MKi67 Indeterminate) См. Рисунок 4.	- Невозможно определить уровень экспрессии мРНК <i>MKi67</i> из-за недостаточного количества материала в образце. Повторите анализ с более концентрированным лизатом. <i>CYFIP1</i> — ПРОЙДЕН (PASS); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i> с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. <i>CYFIP1</i> дополнительный — ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; <i>CYFIP1</i> имеет пороговый цикл (Ct) за пределами действительного диапазона или конечную точку ниже установленного порога, необходимого для определения статуса MKi67. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.

Результат	Интерпретация
ПОВТОРИТЕ АНАЛИЗ (REPEAT TEST) См. Рисунок 5.	- Невозможно определить уровни экспрессии мРНК <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i>. Повторите анализ с применением аликвоты сохраненного лизата образца FFPE. <i>CYFIP1</i> — ПРОЙДЕН (PASS); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i> с пороговым циклом Ct в пределах действительного диапазона и с конечной точкой выше установленного порога. <i>CYFIP1</i> дополнительный — ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ/ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (POS/NEG); обнаружена транскрипция мРНК <i>CYFIP1</i>. Этот транскрипт может иметь пороговый цикл (Ct) в пределах или за пределами действительного диапазона и конечную точку выше порогового значения. - СIC — ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; внутренний контроль имеет пороговый цикл за пределами действительного диапазона. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	- НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) — невозможно определить уровень экспрессии мРНК <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> из-за недостаточного количества материала в образце. Повторите анализ с более концентрированным лизатом. <i>CYFIP1</i> — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); <i>CYFIP1</i> имеет пороговый цикл (Ct) за пределами действительного диапазона или конечную точку ниже установленного порога. <i>CYFIP1</i> дополнительный — ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; <i>CYFIP1</i> имеет пороговый цикл (Ct) за пределами действительного диапазона или конечную точку ниже установленного порога. - Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
ОШИБКА (ERROR)	- Невозможно определить уровни экспрессии мРНК <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i>. Повторите анализ с применением аликвоты сохраненного лизата образца FFPE. <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) <i>CYFIP1/CYFIP1</i> дополнительный — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) - Контроль зондов — ПРОЙДЕН*/НЕ ПРОЙДЕН; все или одна из процедур контроля зондов не пройдены. * Если контроль зондов пройден, ошибка вызвана выходом предельного максимального давления за границы приемлемого диапазона, ошибкой формы кривой или отказом компонента системы.
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	- Невозможно определить уровни экспрессии мРНК <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i>. Для получения результата теста было собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если оператор прервал текущий процесс теста. Повторите анализ с применением сохраненного лизата образца FFPE. <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) <i>CYFIP1/CYFIP1</i> дополнительный — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) - Контроль зондов — неприменимо [NA (not applicable)]

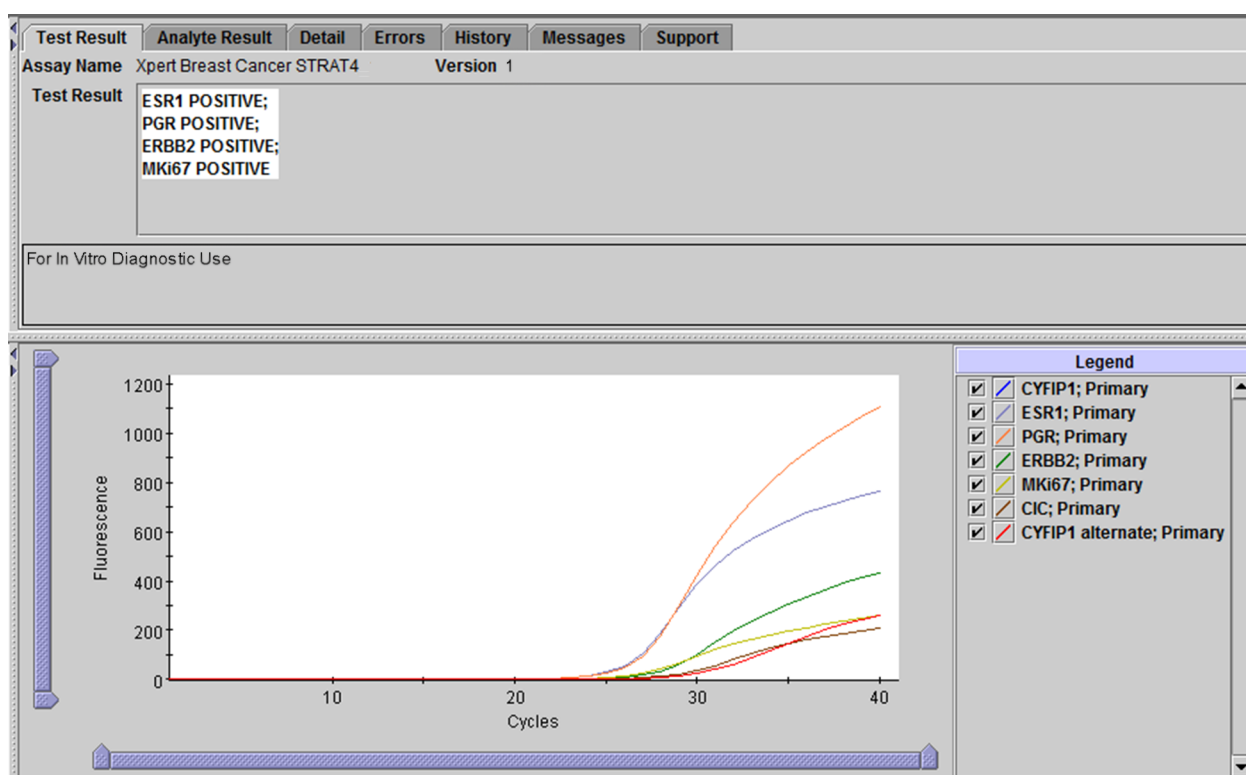


Рисунок 2. Окно «Просмотреть результаты» (View Results) системы GeneXpert Dx:
ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 POSITIVE)

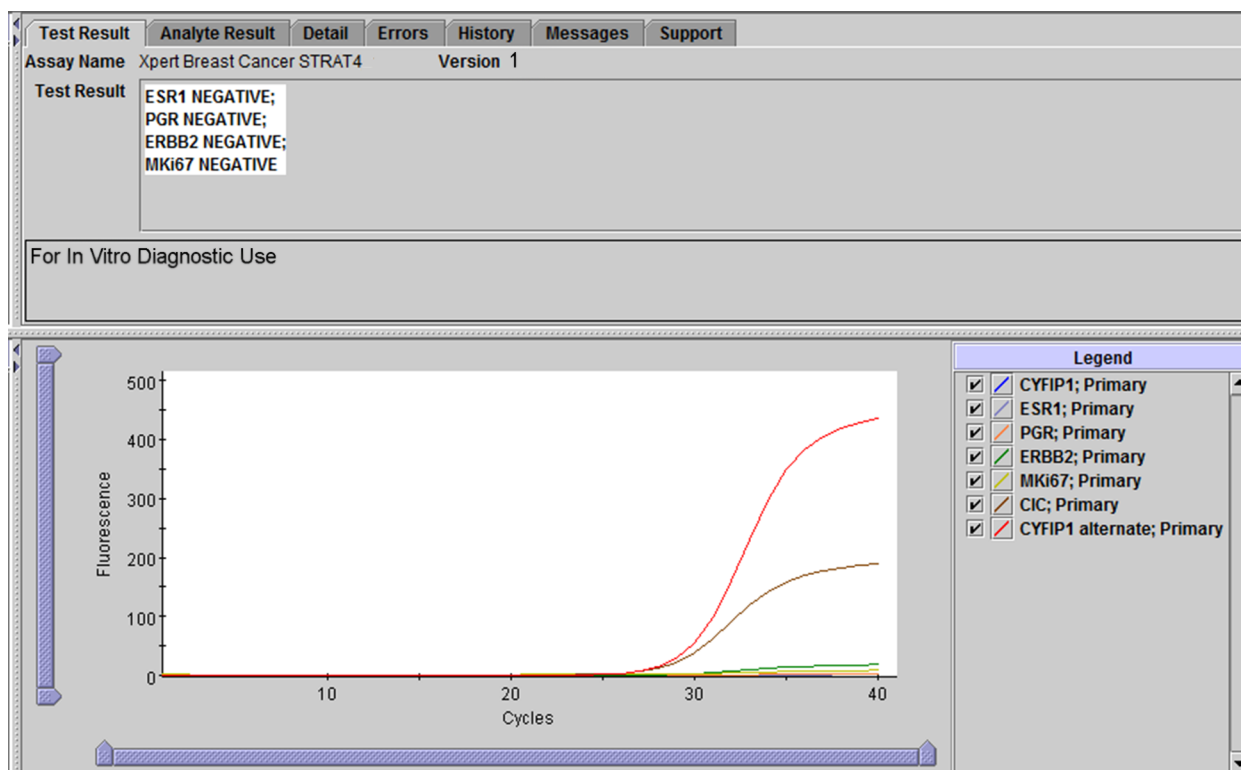


Рисунок 3. Окно «Просмотреть результаты» (View Results) системы GeneXpert Dx:
ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 NEGATIVE)

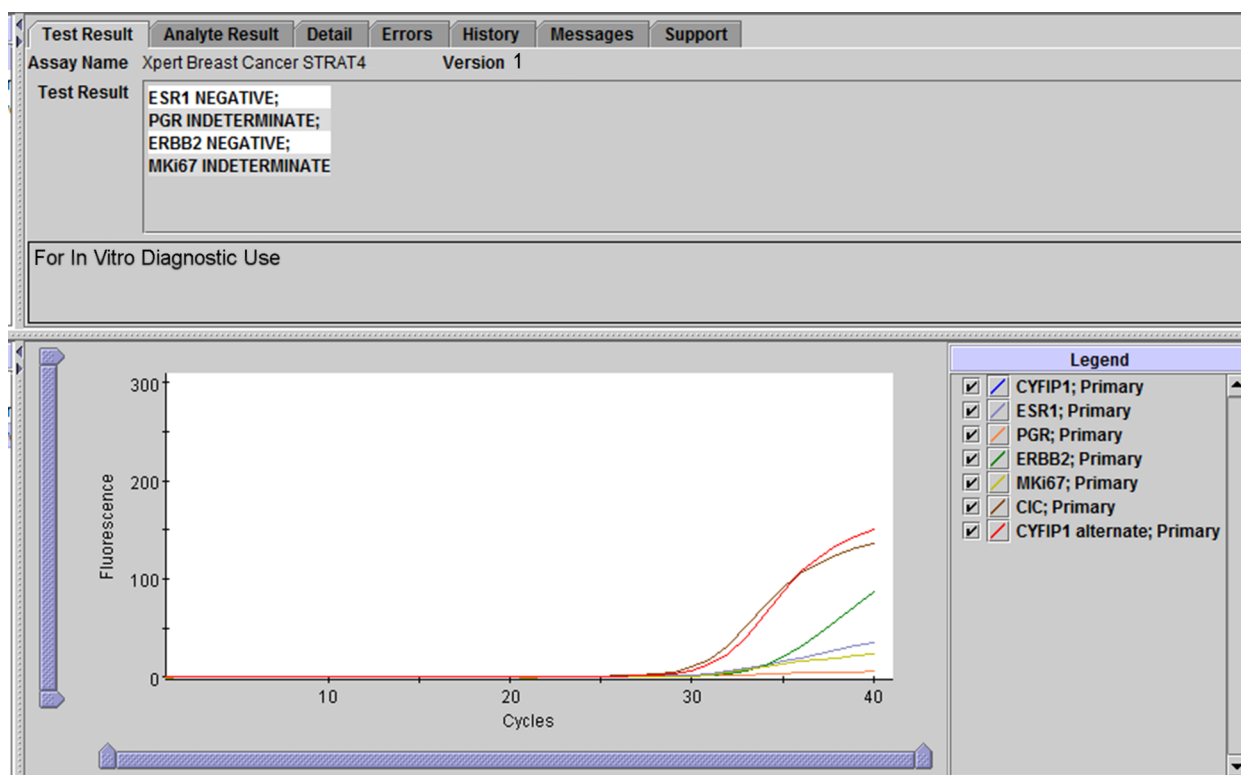


Рисунок 4. Окно «Просмотреть результаты» (View Results) системы GeneXpert
 Dx: PGR/МКi67 НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (PGR/MKI67 INDETERMINATE)

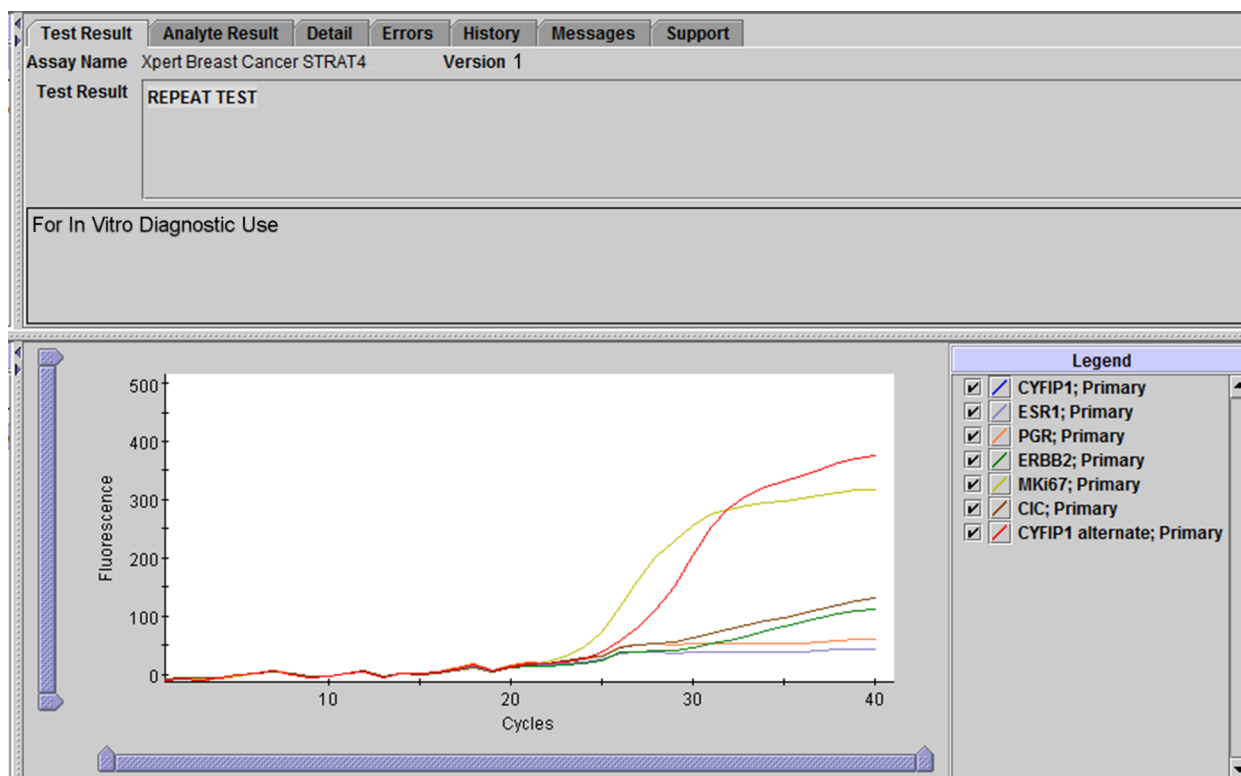


Рисунок 5. Окно «Просмотреть результаты» (View Results)
 системы GeneXpert Dx: ПОВТОРИТЕ АНАЛИЗ (REPEAT TEST)

16 Причины повторного выполнения теста

Повторите анализ с новым картриджем (не используйте картридж повторно).

- Результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** означает, что не пройден внутренний контроль. Образец не был обработан надлежащим образом. В этом случае повторите анализ с применением новой аликвоты 520 мкл того же лизата FFPE.
- Результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** означает, что не пройден контроль референсного образца. Образец не был обработан надлежащим образом, имело место ингибирование ПЦР или качество РНК в исследованной опухоли не соответствовало требованиям. В этом случае повторите тест с более концентрированным лизатом ФФПТ в соответствии с указаниями инструкции лизирующего набора ФФПТ.
- Результат **ОШИБКА** означает, что не пройден контроль РСС и анализ был прерван по следующим возможным причинам: ненадлежащим образом была заполнена реакционная пробирка, выявлено нарушение целостности зонда, превышено максимально допустимое давление или обнаружена ошибка позиционирования клапана. В этом случае повторите анализ с применением новой аликвоты 520 мкл того же лизата FFPE.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, если оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии. В этом случае повторите анализ с применением новой аликвоты 520 мкл того же лизата FFPE.
- Если внешний контроль качества не выполнен ожидаемым образом, повторите анализ с внешним контролем и (или) обратитесь за помощью в компанию Cepheid.

17 Ограничения

- Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста. Результаты теста Xpert Breast Cancer STRAT4 следует интерпретировать с учетом других лабораторных и клинических данных, имеющихся у врача.
- Функциональные характеристики теста Xpert Breast Cancer STRAT4 валидированы с применением процедур, указанных в этой инструкции и с образцами ФФПТ, давность которых составляла от пяти до десяти лет.
- Функциональные характеристики теста Xpert Breast Cancer STRAT4 валидированы только с применением процедур, указанных в этой инструкции.
- Ошибочные результаты теста могут быть связаны с неправильным сбором образца, ненадлежащим обращением с образцом и его хранением, либо с перемешиванием образцов. Чтобы избежать получения ошибочных результатов необходимо тщательно соблюдать данные инструкции.
- Функциональные характеристики не определялись для пациентов в возрасте до 25 лет.
- Мутации или полиморфизм в участках связывания праймеров или зондов могут привести к возникновению ошибочных, но правдоподобных результатов определения *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* и *MKi67*.

18 Функциональные характеристики

18.1 Клинические функциональные характеристики

Функциональные характеристики теста Xpert Breast Cancer STRAT4 были оценены в сравнении с результатами ИГХ тестов на ER, PR, HER2 и Ki67 и с флуоресцентной *in situ* гибридизацией (FISH) для амплификации гена HER2 в центрах США и ЕС. Первоначально в это исследование было включено всего 211 обезличенных оставшихся образцов ФФПТ первичных инвазивных опухолей пациентов с диагностированным раком молочной железы из США и ЕС. 10 образцов были исключены из-за того, что для тестирования в наличии было недостаточно материала опухоли, и один образец был исключен из-за отзыва согласия. Таким образом, для включения в анализ данных были доступны 200 образцов. Из каждого образца FFPE были приготовлены несколько слайдов для анализа Xpert; методом ИГХ на ER, PR, HER2 и Ki67, а также для обнаружения амплификации гена HER2 методом FISH.

В целом анализ Xpert Breast Cancer STRAT4 дал действительные результаты при первой попытке в 99,5 % (199/200) исследованных образцов. Один образец, в котором был первоначально получен непригодный для определения результат (**ОШИБКА (ERROR)**, **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)**), дал результат при однократном повторном анализе. В целом доля успешных попыток составила 100,0 % (200/200).

Из 200 образцов с действительными результатами теста Xpert положительные или отрицательные результаты при выявлении ESR1 и ERBB2 были действительными в 100 % случаев (200/200). Действительные положительные или отрицательные результаты тестов на PGR и MKi67 были получены соответственно в 98,5 % (197/200) и 97,0 %

(194/200) случаев. Семь образцов с неопределенными результатами теста Xpert на PGR и (или) MKi67 были исследованы повторно с применением концентрированного лизата FFPE. Первоначальные (при первой попытке) и повторные результаты тестов показаны в Таблица 3.

В объединенном массиве данных, включающем результаты повторных тестов, Xpert Breast Cancer STRAT4 показал процент совпадения положительных результатов (Positive Percent Agreement, PPA) 97,2 %, процент совпадения отрицательных результатов (Negative Percent Agreement, NPA) 95,0 % и общий процент совпадения результатов (Overall Percent Agreement, OPA) 97,0 % при выявлении ESR1 по сравнению с ИГХ;¹⁸ PPA 88,4 %, NPA 90,7 % и OPA 88,9 % при выявлении PGR по сравнению с ИГХ;¹⁸ PPA 100,0 %, NPA 92,4 % и OPA 93,3 % при выявлении ERBB2 по сравнению с ИГХ;¹⁹ и PPA 100 %, NPA 92,0 % и OPA 93,3 % при выявлении ERBB2 по сравнению с HER2 FISH.¹⁹ При выявлении MKi67: PPA 88,8 %, NPA 100 % и OPA 90,7 % при установке порога ИГХ >20 % для положительных результатов и <10 % для отрицательных. Образцы с промежуточными значениями ИГХ MKi67 (порог 10–20 % включительно) были исключены из анализа. Общие показатели PPA, NPA и OPA для каждой целевой последовательности представлены в Таблица 3.

Таблица 3. Клинические функциональные характеристики

Сравнение	Массив данных ^a	Всего (n) ^b	PPA	95% ДИ	NPA	95% ДИ	OPA	95% ДИ
ESR1/ER Xpert по сравнению с ИГХ	Первоначальный	199	97,2 % (174/179)	93,6–98,8	100 % (20/20)	83,9–100	97,5 % (194/199)	94,3–98,9
	Повторный	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 по сравнению с ИГХ	Первоначальный	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
	Повторный	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 по сравнению с ИГХ	Первоначальный	180	100 % (22/22)	85,1–100	92,4 % (146/158)	87,2–95,6	93,3 % (168/180)	88,7–96,1
	Повторный	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 по сравнению с FISH	Первоначальный	178	100 % (28/28)	87,9–100	92,0 % (138/150)	86,5–95,4	93,3 % (166/178)	88,6–96,1
	Повторный	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 по сравнению с ИГХ + FISH	Первоначальный	197	100 % (27/27)	87,5–100	91,2 % (155/170)	86,0–94,6	92,4 % (182/197)	87,8–95,3
	Повторный	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 по сравнению с ИГХ	Первоначальный	148	88,7 % (110/124)	81,9–93,2	100 % (24/24)	86,2–100	90,5 % (134/148)	84,7–94,3
	Повторный	151	88,8 % (111/125)	82,1–93,2	100 % (26/26)	87,1–100	90,7 % (137/151)	85,0–94,4

^a Первоначальный = однократный концентрат лизата в соответствии с указаниями инструкции; повторный = результат теста с лизатом в четырехкратной концентрации, если первоначальный образец (однократный концентрат лизата) дал неопределенный результат в отношении PGR и (или) MKi67.

^b Образцы с непригодными для определения или неопределенными результатами теста Xpert, образцы с сомнительными или неопределенными результатами ИГХ, образцы с непройденными тестами ИГХ и FISH были исключены.

19 Аналитические функциональные характеристики

19.1 Аналитическая чувствительность или минимальный вход

Минимальный вход был определен путем оценки максимума Ct CYFIP1 (референсного гена), который точно определяет вход образца для надежного протекания теста. Этот вход образца обеспечивает получение действительных результатов при анализе большинства клинических образцов FFPE. Образцы со значением Ct CYFIP1 выше разрешенного дадут результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**.

Аналитическую чувствительность или минимальный вход Xpert Breast Cancer STRAT4, определенный как максимум Ct CYFIP1, при котором тест дает ≥ 95 % действительных результатов, определяли путем разведения лизатов клинических образцов формалин-фиксированных парафинизированных тканей (ФФПТ) для изменения Ct CYFIP1. Для оценки чувствительности Ct CYFIP1 готовили серию разведений лизата клинического образца FFPE и выполняли анализ в N=20 повторях на каждый уровень разведения на протяжении 3 дней до получения ≤ 95 % действительных результатов. К числу уровней разведения относились один образец при ожидаемом значении минимального входа теста, два уровня ниже и два уровня выше этого уровня. Исследование было выполнено на двух партиях картриджей Xpert Breast Cancer STRAT4.

Перед началом исследования определяли предел анализа холостого образца в N=60 повторях в двух независимых партиях картриджей Xpert Breast Cancer STRAT4. Для определения предела холостого образца использовался холостой срез парафина (без образца ткани), и все тесты имели ожидаемый результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**. Серийные разведения полученного в клинике образца ткани ФФПТ в соотношении 1/1000 давали 20/20 действительных значений Ct CYFIP1 со средним значением Ct = 33,4 и CO 0,6 в партии 1 теста Xpert Breast Cancer STRAT4 и средним значением Ct = 33,6 и CO 0,5 в партии 2. Дальнейшие разведения с более поздними значениями Ct CYFIP1 не давали требуемый в данном исследовании уровень ≥ 95 % действительных результатов. В Таблица 4 дана сводка значений числа действительных циклов теста для каждого уровня серийного разведения введенного образца как относительное разведение или среднее значение Ct CYFIP1. Определение аналитической чувствительности с двумя партиями картриджей теста Xpert Breast Cancer STRAT4 выявило минимальное требуемое значение входа Ct CYFIP1 = 33,4. Это значение с учетом вариативности теста позволяет установить для теста Xpert Breast Cancer STRAT4 предельное значение Ct CYFIP1 = 35.

Таблица 4. Минимальный вход в тест Breast Cancer STRAT4

Партия набора	Вход образца (относительное разведение)	Среднее значение Ct CYFIP1	CO	К-во действительных циклов (Ct $\leq$ 35)
00801 (партия 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	неприменимо	неприменимо	0/20
00903 (партия 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	неприменимо	неприменимо	0/20

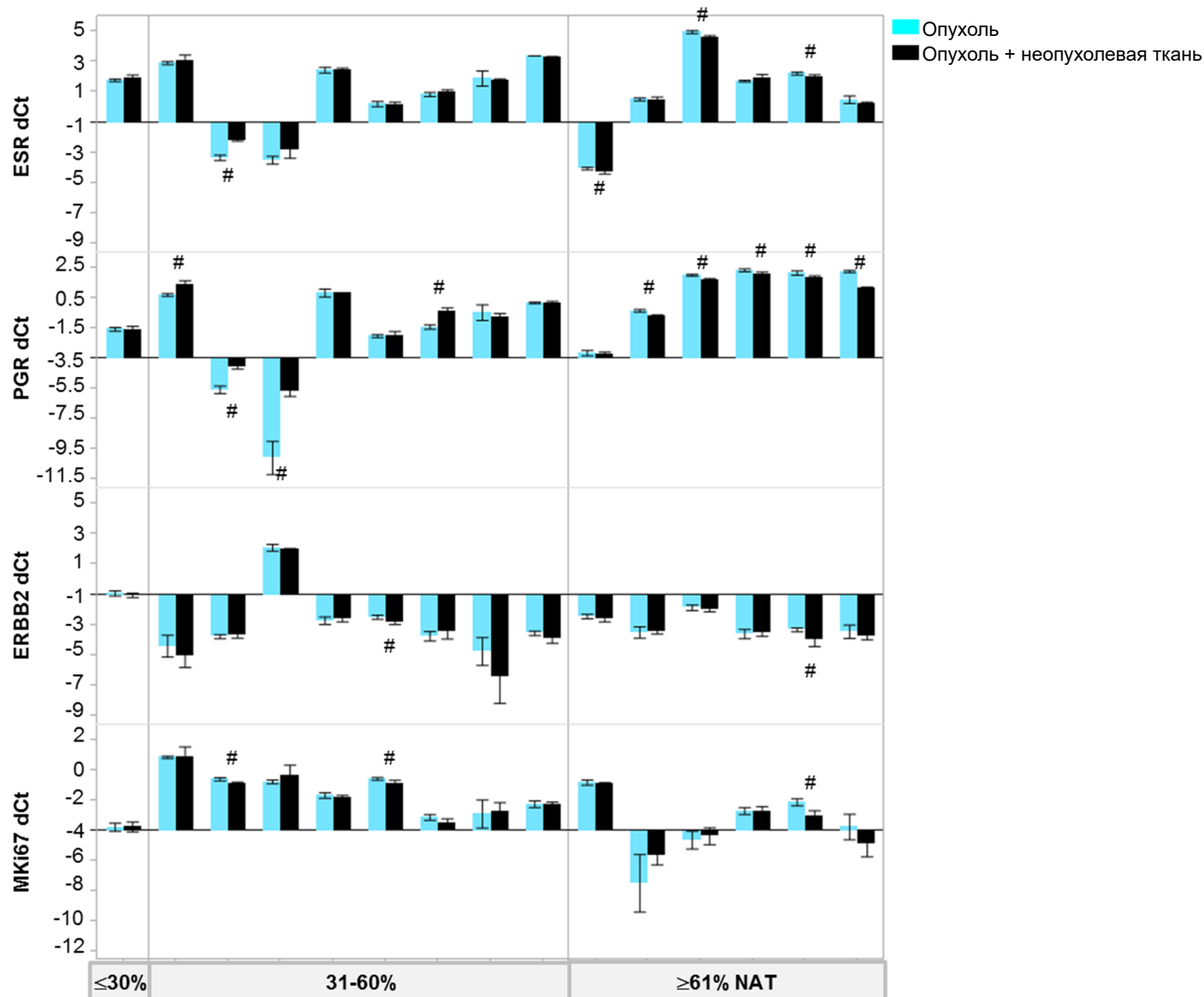
19.2 Исследование факторов, влияющих на анализ

Прилежащая здоровая или неопухолевая ткань

Здоровые (неопухолевые) прилежащие ткани (ЗПТ) обычно присутствуют в образцах тканей рака молочной железы в качестве примесей, влияющих на детекцию конкретных целевых последовательностей. Тест Xpert Breast Cancer STRAT4 может потребовать применения среза ткани ФФПТ, прошедшего патогистологическую проверку и подвергнутого макроскопическому иссечению для минимизации возможного влияния неопухолевых примесей, если эти процедуры необходимы по заключению патогистолога. Для оценки влияния прилежащих здоровых (неопухолевых) тканей был выполнен анализ пятнадцати (15) блоков ткани ФФПТ с инвазивной карциномой молочной железы, содержащих 21–98 % ЗПТ, в тесте Xpert Breast Cancer STRAT4 с предшествующим макроскопическим иссечением и без него. Тесты Xpert Breast Cancer STRAT4 были выполнены в N=4 повторях того же лизата для каждого условия. Оценку результатов определения dCt ESR1, PGR, ERBB2 и MKi67 для каждого образца ткани с макроскопическим иссечением (синие столбцы диаграммы) и без макроскопического иссечения (черные столбцы диаграммы) сначала выполняли методом однофакторного дисперсионного анализа с целью выявления статистического влияния ЗПТ. Клинически значимое влияние ЗПТ было признано существующим, если значение ddCt (дельта-дельта Ct) между прошедшими и не прошедшими макроскопическое иссечение образцами составляло $>1,0$ и было обнаружено изменение результата теста. Результаты этого исследования обобщены на Рисунок 6.

Значения dCt для ESR1, PGR, ERBB2 и MKi67 всех 15 образцов группировали на основании % ЗПТ (≤ 30 %, 31–60 % или ≥ 61 %). Диаграммы с синими и черными вертикальными столбцами с CO представляют средние значения dCt целевых последовательностей из N=4 повторов срезов образцов обработанных методом ФФПТ блоков инвазивного рака молочной железы, подвергнутых и не подвергнутых макроскопическому иссечению. Во всех 15 блоках ФФПТ (N=1 менее 30 % ЗПТ, N=8 с 31–60 % ЗПТ, N=6 более 60 % ЗПТ) выявлено либо отсутствие статистически достоверного влияния прилегающей здоровой (неопухолевой) ткани в однофакторном дисперсионном анализе при уровне достоверности $p \geq 0,05$, либо отсутствие клинического значения (отмечено как #), если вариабельность значений дельта Ct каждой целевой последовательности между образцами, подвергнутыми и не подвергнутыми макроскопическому иссечению, была $\leq 1,0$ или если результат (положительный или отрицательный) теста на целевую последовательность оставался неизменным.

Рисунок 6. Влияние прилежащей здоровой (неопухолевой) ткани на dCt целевых последовательностей в Xpert Breast Cancer STRAT4



ПКИС, некротизированные ткани и кровоизлияния

Для оценки влияния протоковой карциномы in situ (ПКИС), некротизированных тканей и кровоизлияний были исследованы в общей сложности 9 образцов ФПТ рака молочной железы (3 блока ФПТ опухоли молочной железы с 3–61 % ПКИС, 3 блока ФПТ опухоли молочной железы с 10–65 % некротизированных тканей и 3 блока ФПТ опухоли молочной железы с 15–41 % тканей с кровоизлияниями) в тесте Xpert Breast Cancer STRAT4 с предшествующим макроскопическим иссечением и без него. Тест Xpert Breast Cancer STRAT4 был выполнен в N=4 повторениях того же лизата для каждого условия. Все условия теста не имели либо статистического, либо клинического влияния на результаты теста Xpert Breast Cancer STRAT4 при разных уровнях присутствия ПКИС, некроза и кровоизлияний (графические данные не представлены).

Геномная ДНК человека (гчДНК)

Тест Xpert Breast Cancer STRAT4 применяет высокочувствительные специфические праймеры и зонды для эффективной гибридизации с целевыми матрицами РНК ESR1, PGR, ERBB2 и MKI67 из пула геномных нуклеиновых кислот (геномная ДНК человека = гчДНК). Для оценки влияния гчДНК на тест Xpert Breast Cancer STRAT4 10 блоков ФПТ опухоли молочной железы с разным содержанием клеток инвазивной протоковой карциномы были подвергнуты макроскопическому иссечению и исследованы с добавлением и без добавления 25 нг

гЧДНК к лизатам образцов ФФПТ в тесте Xpert Breast Cancer STRAT4 с применением N=4 повторов одного и того же лизата для каждого условия. Все условия теста не имели либо статистического, либо клинического влияния на воздействие гЧДНК (графические данные не представлены).

19.3 Контаминация продуктами предыдущей реакции

Исследование проводилось с целью показать, что применение одноразовых автономных картриджей GeneXpert позволяет минимизировать контаминацию из высокоположительных образцов проб в последующие отрицательные образцы, исследуемые в том же модуле GeneXpert. Суть данного исследования состояла в том, что после анализа образца, высокоположительного в отношении ESR1/PGR/ERBB2/MKi67, в том же модуле GeneXpert обрабатывали отрицательный образец. В качестве отрицательного образца использовали транскрибированную *in vitro* (IVT) РНК, содержащую транскрипт CYFIP1 в количестве 5×10^4 копий для обеспечения присутствия последовательности референсного гена. В качестве высокоположительного образца использовали IVT РНК, содержащую транскрипт CYFIP1 в количестве 5×10^5 копий и IVT РНК, содержащую транскрипты ESR1, PGR, ERBB2 и MKi67 в количестве 5×10^6 копий, приготовленную как лизат FFPE. Схему анализа повторяли 41 раз в одном модуле GeneXpert с применением 20 высокоположительных и 21 отрицательного образца. Все 20 высокоположительных образцов были правильно определены как ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (POSITIVE), и все из 21 отрицательного образца были правильно определены как ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE).

19.4 Воспроизводимость и прецизионность теста

Воспроизводимость теста Xpert Breast Cancer STRAT4 оценивали с использованием панели из пяти лизатов образцов.

Три компонента панели готовили добавлением *in vitro* транскрипта (IVT) РНК к буферу лизиса FFPE с добавлением ~2dCt пороговых по dCt ESR1 (1-я IVT РНК), PGR (2-я IVT РНК) и ERBB2 (3-я IVT РНК), имеющих значения Ct CYFIP1 ~2–3 Ct от минимального уровня входа в тест.

Два компонента панели (4-й клинический образец FFPE и 5-й клинический образец FFPE) были созданы из объединенного клинического образца FFPE в буфере лизиса FFPE с целью создания значений Ct CYFIP1, близких к минимальному входу в тест, и для получения пороговых значений dCt всех целевых последовательностей по всему регистрируемому диапазону и, по мере возможности, вблизи порогов dCt теста.

Два оператора в каждом из трех исследовательских центров тестировали по две панели в день в течение шести дней (5 образцов x 6 дней x 2 оператора x 2 повтор x 3 центра). Были исследованы в общей сложности 72 повтор каждого образца. В каждом из 3 центров использовали три партии картриджей теста Xpert Breast Cancer STRAT4. Тест Xpert Breast Cancer STRAT4 выполняли согласно процедуре, описанной в данной инструкции по применению.

Воспроизводимость теста Xpert Breast Cancer STRAT4 оценивали по dCt для каждой из четырех целевых последовательностей каждой панели. Средние значения, стандартное отклонение (CO) и коэффициент вариации (KB) между центрами, партиями, днями и операторами, а также в пределах анализа для каждого компонента панели представлены в Таблица 5.

Таблица 5. Сводные данные по воспроизводимости

Образец	Канал теста (анализируемое вещество)	К-во ^a	Средн. dCt	Между центрами		Между партиями		Между днями		Между операторами		В пределах теста		Всего	
				Вар	KB (%)	Вар	KB (%)	Вар	KB (%)	Вар	KB (%)	Вар	KB (%)	Вар	KB (%)
1-IVT РНК	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 РНК	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 РНК	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

Образец	Канал теста (анализируемое вещество)	К-во ^a	Средн. dCt	Между центрами		Между партиями		Между днями		Между операторами		В пределах теста		Всего	
				Вар	КВ (%)	Вар	КВ (%)	Вар	КВ (%)	Вар	КВ (%)	Вар	КВ (%)	Вар	КВ (%)
	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- Клинический образец ФФПТ	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- Клинический образец ФФПТ	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 Результаты с действительными значениями дельта Ct из 72

20 Литература

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, Tschler 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, Karaikos 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, 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. 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 Расположение штаб-квартиры Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

22 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

США

Телефон: + 1 888 838 3222

Электронный адрес: techsupport@cepheid.com

Франция

Телефон: + 33 563 825 319

Электронный адрес: support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/support/contact-us

23 Условные обозначения

Символ	Значение
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Маркировка CE — соответствие требованиям Европейского союза
	Уполномоченный представитель в Европейском сообществе
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкциям по применению
	Осторожно
	Производитель
	Место производства
	Содержимого достаточно для проведения <i>n</i> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Уполномоченный представитель в Швейцарии

Символ	Значение
	Импортер



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA



Cepheid Europe SAS
Vira Soleih
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 История изменений

Раздел	Описание изменения
Во всем документе	Удалены ссылки на программное обеспечение ONCore.