

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4

REF GXBCSTRAT4-CE-10

Οδηγίες χρήσης

IVD CE



Εμπορικό σήμα, διπλώματα ευρεσιτεχνίας και δηλώσεις πνευματικών δικαιωμάτων

Cerheid[®], το λογότυπο της Cerheid, το GeneXpert[®] και το Xpert[®] είναι εμπορικά σήματα της Cerheid, κατατεθέντα στις Η.Π.Α. και άλλες χώρες.

Όλα τα υπόλοιπα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους.

Η ΑΓΟΡΑ ΑΥΤΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ ΜΕΤΑΒΙΒΑΖΕΙ ΣΤΟΝ ΑΓΟΡΑΣΤΗ ΤΟ ΜΗ ΜΕΤΑΒΙΒΑΣΙΜΟ ΔΙΚΑΙΩΜΑ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΑΥΤΕΣ ΤΙΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ. ΔΕΝ ΜΕΤΑΒΙΒΑΖΕΤΑΙ ΚΑΝΕΝΑ ΑΛΛΟ ΔΙΚΑΙΩΜΑ ΡΗΤΑ, ΕΜΜΕΣΑ Ή ΩΣ ΚΕΚΤΗΜΕΝΟ. ΕΠΙΠΛΕΟΝ, ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΕΤΑΙ ΚΑΝΕΝΑ ΔΙΚΑΙΩΜΑ ΕΠΑΝΑΠΩΛΗΣΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΑΓΟΡΑ ΑΥΤΟΥ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ.

© 2017-2023 Cerheid.

Βλ. Ιστορικό αναθεωρήσεων για περιγραφή των αλλαγών.

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4

Ιατροτεχνολογικό προϊόν για *in vitro* διαγνωστική χρήση

1 Κατοχυρωμένη ονομασία

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4

2 Κοινή ή συνήθης ονομασία

Xpert Breast Cancer STRAT4

Xpert BC STRAT4

3 Προβλεπόμενη χρήση

Η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 είναι ένας ημιποσοτικός προσδιορισμός αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης με ποιοτικές τιμές αποκοπής για mRNA υποδοχέα οιστρογόνων (*ESR1*), υποδοχέα προγεστερόνης (*PGR*), ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (*ERBB2/HER2*) και δείκτη πολλαπλασιασμού Ki-67 (*MKi67*) απομονωμένα από ιστό διηθητικού καρκίνου του μαστού καθηλωμένου σε φορμόλη και εγκλεισμένου σε παραφίνη (FFPE). Το RNA εκχυλίζεται από μια περιοχή εμπλουτισμένη με όγκο του ιστού του μικροσκοπίου, όπως αναγνωρίζεται από έναν παθολογοανατόμο. Η εξέταση πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλα κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα για την ταξινόμηση ιστών καρκίνου του μαστού σχετικά με την κατάσταση των υποδοχέων ορμονών, την κατάσταση των υποδοχέων HER2 και την κατάσταση των δεικτών πολλαπλασιασμού. Η εξέταση προορίζεται για χρήση με το σύστημα GeneXpert[®], το οποίο περιλαμβάνει την απομόνωση του RNA από ιστό FFPE, καθώς επίσης και την ενίσχυση και την ανίχνευση αλληλουχιών-στόχων εντός της φύσιγγας.

Η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 δεν προορίζεται ως:

- Πρόγνωση βαρύτητας της νόσου
- Αυτόνομη συσκευή για διαγνωστική εξέταση για καρκίνο του μαστού
- Προγνωστικός δείκτης για τυχόν υποτροπή της νόσου

Ενδείξεις χρήσης: Αυτή η εξέταση προορίζεται για χρήση στην αξιολόγηση των επιπέδων mRNA των *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* και *MKi67* σε ιστούς διηθητικού καρκίνου του μαστού που λαμβάνονται από ασθενείς και παρασκευάζονται ως δείγματα FFPE, καθώς και ως βοήθημα στην κλινική αξιολόγηση σε συνδυασμό με άλλα εργαστηριακά δεδομένα.

4 Περίληψη και επεξήγηση

Ο καρκίνος του μαστού είναι ένας από τους πιο συχνούς καρκίνους στις γυναίκες παγκοσμίως, με περίπου 1,7 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις καρκίνου του μαστού κάθε χρόνο.¹ Στην Ευρώπη, περίπου 494.000 νέα περιστατικά διαγιγνώσκονται κάθε χρόνο και 143.000 ασθενείς θα πεθάνουν από τη νόσο τους. Στις Η.Π.Α, περίπου 200.000 νέες περιπτώσεις διηθητικού καρκίνου του μαστού διαγνώστηκαν το 2015.² Ο καρκίνος του μαστού είναι η πιο συχνή αιτία θνησιμότητας από καρκίνο μεταξύ των γυναικών στις αναπτυσσόμενες χώρες και η δεύτερη πιο συχνή αιτία θνησιμότητας από καρκίνο (μετά τον καρκίνο του μαστού) μεταξύ των γυναικών στις ανεπτυγμένες χώρες.²

Στις γυναίκες, ο καρκίνος του μαστού είναι ο πιο συχνά διαγνωσμένος καρκίνος και η κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο.¹ Η θνησιμότητα από καρκίνο του μαστού έχει μειωθεί κατά 34 τοις εκατό από το 1990, κυρίως λόγω της βελτιωμένης θεραπείας και της πρώιμης ανίχνευσης.³ Οι μετρήσεις της έκφρασης των πρωτεϊνών ER και PR είναι προγνωστικές για τις εκβάσεις του καρκίνου του μαστού και προβλέπουν την ανταπόκριση στην ταμοξιφαίνη και άλλες ορμονικές θεραπείες.^{4,5,6,7} Η υπερέκφραση του HER2 εκφράζει ανεπιθύμητη πρόγνωση σε γυναίκες με καρκίνο του μαστού, αλλά πιο σημαντικά, την ανταπόκριση στην τραστουζουμάμπη ή άλλες στοχευμένες θεραπείες κατά του HER2 προβλέπεται

από την υπερέκφραση στην πρωτεΐνη HER2 (ERBB2) ή την ενίσχυση του γονιδίου HER2.⁸ Ο δείκτης πολλαπλασιασμού Ki-67 (MKi67) έχει μελετηθεί ευρέως σε αναδρομικές μελέτες που περιλαμβάνουν ασθενείς με καρκίνο του μαστού⁹ και θεωρείται σημαντικός δείκτης της ανάγκης για χημειοθεραπεία.¹⁰ Οι μετα-ανάλυσεις έχουν καταδείξει ότι σχετίζεται με χειρότερες εκβάσεις για την επιβίωση σε πρώιμο καρκίνο του μαστού.¹¹ Δεδομένης της σημασίας αυτών των δεικτών στην επιλογή ενός αποτελεσματικού σχήματος θεραπείας για έναν ασθενή με καρκίνο του μαστού, οι κατευθυντήριες οδηγίες θεραπείας της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Ιατρικής Ογκολογίας (ESMO) συνιστούν όλα τα πρωτοπαθή καρκινώματα του μαστού να ελέγχονται για ER, PR, HER2 (ERBB2) και Ki67 κατά τον χρόνο της διάγνωσης.¹²

Η ανοσοϊστοχημεία (IHC) χρησιμοποιείται συχνά για τη μέτρηση της έκφρασης των πρωτεϊνών ER, PR, HER2 και Ki67. Για την έκφραση του HER2, η IHC τυπικά είναι η πρώτη εξέταση που πραγματοποιείται και τα αποτελέσματα αναφέρονται σε μια κλίμακα από 0 έως 3+. Εάν το αποτέλεσμα είναι αμφίβολο για την έκφραση HER2 (2+), το δείγμα επανεξετάζεται αυτόματα με έναν προσδιορισμό HER2 in situ υβριδισμού (ISH), όπως in situ υβριδισμός με φθορισμό (FISH) ή χρωμογόνο in situ υβριδισμό (CISH) που αναζητά την ενίσχυση του γονιδίου HER2.¹³ Ένας υψηλός βαθμός διακύμανσης στα αποτελέσματα έχει καταδειχθεί για IHC και ISH κατά τη σύγκριση μεταξύ εργαστηρίων, σε μεγάλο βαθμό λόγω διαφορών στα αντισώματα που χρησιμοποιούνται για την IHC, καθώς και λόγω της υποκειμενικότητας των μεθόδων ερμηνείας.¹⁴

Η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 είναι μια in vitro διαγνωστική εξέταση που χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει τα επίπεδα έκφρασης του mRNA των *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* και *MKi67* που έχουν απομονωθεί από δείγματα FFPE ιστού διηθητικού καρκίνου του μαστού.

Ο προσδιορισμός πραγματοποιείται σε μια αυτόνομη φύσιγγα μετά από ένα σύντομο βήμα παρασκευής υλικού λύσης δείγματος εκτός του αναλυτή, που απαιτεί λιγότερα από 15 λεπτά χρόνο ενεργής διαχείρισης με συνολικό χρόνο διεκπεραίωσης μικρότερο από 2 ώρες.

5 Αρχή της διαδικασίας

Η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 είναι ένας προσδιορισμός αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) για την ανίχνευση των mRNA των *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* και *MKi67* που έχουν απομονωθεί από ιστό διηθητικού καρκίνου του μαστού απομονωμένου καθηλωμένου σε φορμόλη και εγκλεισμένου σε παραφίνη (FFPE). Ο προσδιορισμός εκτελείται σε συστήματα αναλυτών GeneXpert της Cepheid. Τα συστήματα αναλυτών GeneXpert αυτοματοποιούν και ενοποιούν την προετοιμασία των δειγμάτων, την ενίσχυση των νουκλεϊκών οξέων και την ανίχνευση αλληλουχίας-στόχου σε απλά ή σύνθετα δείγματα, χρησιμοποιώντας RT-PCR πραγματικού χρόνου. Το σύστημα αποτελείται από έναν αναλυτή, μια συσκευή σάρωσης γραμμωτών κωδικών, έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή και προφορτωμένο λογισμικό για την πραγματοποίηση εξετάσεων και την προβολή των αποτελεσμάτων. Το σύστημα χρησιμοποιεί αναλώσιμες φύσιγγες GeneXpert μίας χρήσης που συγκρατούν τα αντιδραστήρια RT-PCR και φιλοξενούν τις διαδικασίες RT-PCR. Για μια πλήρη περιγραφή των συστημάτων, ανατρέξτε στο αντίστοιχο εγχειρίδιο χρήστη του συστήματος αναλυτών GeneXpert.

Η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 περιλαμβάνει αντιδραστήρια για την ταυτόχρονη ανίχνευση *ESR1*, *PGR*, *ERBB2*, *MKi67*, ενός γονιδίου αναφοράς της κυτταροπλασματικής πρωτεΐνης αλληλεπίδρασης 1 του FMR1 (*CYFIP1*), ενός εσωτερικού μάρτυρα RT-PCR (*CIC*) και ενός εσωτερικού μάρτυρα ελέγχου ανιχνευτή (*PCC*). Το γονίδιο αναφοράς επικυρώνει την επάρκεια του δείγματος και χρησιμοποιείται για την ομαλοποίηση των επιπέδων έκφρασης mRNA για *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* και *MKi67*. Ο εσωτερικός μάρτυρας RT-PCR (*CIC*) χρησιμοποιείται για να επιβεβαιώσει ότι η αντίδραση RT-PCR πραγματοποιήθηκε σωστά. Ο *PCC* επιβεβαιώνει την επανυδάτωση του αντιδραστηρίου, την πλήρωση του σωληναρίου RT-PCR, την ακεραιότητα του ανιχνευτή και τη σταθερότητα της χρωστικής στη φύσιγγα. Συνολικά, ο προσδιορισμός χρησιμοποιεί έξι διακριτά κανάλια φθορισμού για την ανίχνευση του στόχου ή του μάρτυρα/της αναφοράς με τις δικές τους παραμέτρους αποκοπής για την εγκυρότητα του στόχου/του μάρτυρα/της αναφοράς.

Τα δείγματα FFPE πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία με το kit του υλικού λύσης Xpert® FFPE με την προετοιμασία τομής ιστούς πάχους 4-5 μm (μικρόμετρα) όπου ο ιστός FFPE υποβάλλεται αρχικά σε μικροτεμαχισμό, εάν απαιτείται, για τον εμπλουτισμό της περιοχής του διηθητικού όγκου, και κατόπιν σε υποβάλλεται σε απόξεση και τοποθετείται σε σωληνάριο μαζί με τους συνιστώμενους όγκους του αντιδραστηρίου λύσης FFPE και της πρωτεΐνης K. Στη συνέχεια, το διάλυμα επωάζεται σε ένα μπλοκ θέρμανσης στους 80 °C για 30 λεπτά. Στη συνέχεια, η αιθανόλη αναμειγνύεται με το δείγμα και κατόπιν ο συνιστώμενος όγκος του παρασκευασμένου υλικού λύσης του δείγματος προστίθεται απευθείας σε μια φύσιγγα εξέτασης. Αυτή η φύσιγγα εξέτασης εισάγεται σε μια μονάδα του συστήματος αναλυτών GeneXpert όπου ο καθαρισμός και η ενίσχυση νουκλεϊκών οξέων και η ανίχνευση σε πραγματικό χρόνο είναι πλήρως αυτοματοποιημένα και ενοποιημένα πλήρως στο σύστημα. Όλα τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για την προετοιμασία του δείγματος στον αναλυτή και την ανάλυση RT-PCR είναι προφορτωμένα στη φύσιγγα. Τα νουκλεϊκά οξέα στο υλικό λύσης συλλαμβάνονται σε ένα φίλτρο, πλένονται και εκλύονται με υπερήχους. Το κεκαθαρισμένο νουκλεϊκό οξύ αναμειγνύεται με ξηρά αντιδραστήρια RT-PCR και το διάλυμα μεταφέρεται στο σωληνάριο αντίδρασης για την RT-PCR και την ανίχνευση. Ο χρόνος έως το αποτέλεσμα είναι περίπου 75 λεπτά στο GeneXpert.

Η ανίχνευση των τιμών αποκοπής που χρησιμοποιεί η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 σε κάθε κανάλι φθορισμού καθορίστηκαν για να ελαχιστοποιηθεί η μέγιστη θετική, αρνητική και συνολική ποσοστιαία συμφωνία συγκριτικά με τα αποτελέσματα IHC ή IHC/FISH του εργαστηρίου αναφοράς για κάθε στόχο. IHC για ER, PR, Ki67 και HER2 καθώς επίσης και FISH για HER2 υποβλήθηκαν σε επεξεργασία και βαθμολογήθηκαν σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες ASCO/CAP 2013.¹⁵ Οι όγκοι ταξινομήθηκαν ως θετικοί για ER ή PR/IHC όταν $\geq 1\%$ των κυττάρων του διηθητικού όγκου κατέδειξαν οριστική πυρηνική χρώση, ανεξάρτητα από την ένταση της χρώσης. Η έκφραση HER2 αξιολογήθηκε με το kit HercepTest (IHC) (Dako) και βαθμολογήθηκε ως 0, 1+, 2+, ή 3+. Σε όγκους με βαθμολογία 2+ έγινε αυτόματη εξέταση HER2 FISH με τη χρήση του kit ανιχνευτών PathVysion HER2 DNA (Vysis-Abbott, Chicago, IL). Οι περιπτώσεις θεωρήθηκαν HER2-θετικές εάν έχουν βαθμολογία 3+ με IHC ή/και με ενίσχυση με FISH (καθορίζονται ως HER2:CEP17 (αναλογία $\geq 2,0$) ή/και μέσο αριθμό αντιγράφων HER2 $\geq 6,0$ σήματα/κύτταρο, σύμφωνα με την ενημέρωση της κατευθυντήριας οδηγίας κλινικής πρακτικής ASCO/CAP του 2013 για εξέταση HER2 στον καρκίνο του μαστού.¹⁵ Για το Ki67, οι όγκοι ταξινομήθηκαν ως θετικοί (υψηλοί) όταν $\geq 20\%$ των διηθητικών κυττάρων του όγκου κατέδειξε οριστική πυρηνική χρώση, ανεξάρτητα από την ένταση της χρώσης.

Σε περίπτωση του μάρτυρα του γονιδίου αναφοράς και τον εσωτερικό μάρτυρα RT-PCR, οι τιμές αποκοπής ανίχνευσης καθορίζουν τα εύρη των τιμών PCR των ευρών των ουδών ελάχιστου και μέγιστου κύκλου (Ct) που καθορίζουν ένα έγκυρο αποτέλεσμα, μια επαρκή ελάχιστη εισαγωγή δείγματος και χωρίς αναστολή PCR. Σε περίπτωση των στόχων ESR1, PGR, ERBB2 και MKi67, οι τιμές αποκοπής ανίχνευσης καθορίζονται από τις τιμές ουδού του κύκλου δέλτα (dCt) (Ct γονιδίου αναφοράς μείον Ct γονιδίου στόχου) που προσδιορίζουν τα ΘΕΤΙΚΑ (POSITIVE) έναντι των ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ (NEGATIVE) αποτελεσμάτων για έναν δεδομένο στόχο σε ένα κανάλι.

6 Αντιδραστήρια και αναλυτές

6.1 Υλικά που παρέχονται

Το kit της εξέτασης Xpert Breast Cancer STRAT4 περιέχει επαρκή ποσότητα αντιδραστηρίων για την επεξεργασία 10 δειγμάτων ποιοτικού ελέγχου ή υλικού λύσης FFPE παρασκευασμένων με το kit Xpert FFPE Lysis Kit (αρ. καταλόγου GXFFPE-LYSIS-CE-10). Το kit Xpert Breast Cancer STRAT4 περιέχει τα παρακάτω αντικείμενα:

Φύσιγγες Xpert Breast Cancer STRAT4 με ενσωματωμένα σωληνάρια αντίδρασης	10
<ul style="list-style-type: none"> • Σφαιρίδιο 1, 2 και 3 (λυοφιλοποιημένα) • Αντιδραστήριο έκπλυσης, • Αντιδραστήριο έκλουσης, 	1 ανά φύσιγγα 1,0 ml ανά φύσιγγα 2,0 ml ανά φύσιγγα
CD	1 ανά kit
<ul style="list-style-type: none"> • Αρχείο ορισμού προσδιορισμού (ADF) • Οδηγίες χρήσης • Αρχεία αναφοράς ONCore 	

Σημείωση

Είναι διαθέσιμα δελτία δεδομένων ασφαλείας (Safety Data Sheets, SDS) στη διεύθυνση www.cepheid.com ή www.cepheidinternational.com, στην καρτέλα **ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ (SUPPORT)**.

Σημείωση

Η αλβουμίνη βόειου ορού (bovine serum albumin, BSA) στα σφαιρίδια αυτού του προϊόντος παράγεται και παρασκευάζεται αποκλειστικά από βόειο πλάσμα που παράγεται στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Τα ζώα δεν είχαν τραφεί με πρωτεΐνη μηρυκαστικών ή άλλες ζωικές πρωτεΐνες. Τα ζώα πέρασαν από προθανάτιο και μεταθανάτιο έλεγχο. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, δεν προκλήθηκε ανάμειξη του υλικού με άλλα ζωικά υλικά.

7 Χειρισμός και αποθήκευση

- Φυλάσσετε τα περιεχόμενα του kit Xpert Breast Cancer STRAT4 σε θερμοκρασία 2–28 °C.
- Μην ανοίγετε το καπάκι της φύσιγγας μέχρι να είστε έτοιμοι για την πραγματοποίηση της εξέτασης.
- Χρησιμοποιείτε τη φύσιγγα εντός 30 λεπτών μετά το άνοιγμα του κατακτιού.
- Μη χρησιμοποιείτε φύσιγγα που παρουσιάζει διαρροή.

8 Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Κιτ λύσης Xpert FFPE (αρ. καταλόγου GXFFPE-LYSIS-CE-10) για την προετοιμασία του υλικού λύσης FFPE. Αυτό το κιτ αποτελείται από αντιδραστήριο υλικού λύσης FFPE, πρωτεΐνωση K (PK), σωληνάρια 1.5 ml και φιαλίδια 5 ml.
- Αναδευτήρας τύπου vortex.
- Πιπέτες και ρύγξη πιπέτας φίλτρου αερολύματος κατάλληλα για τη μεταφορά με πιπέτα 600 ul, 1,2 ml και 520 ml.
- Υπολογιστής με ιδιόκτητο λογισμικό GeneXpert έκδοσης 4.7b ή μεταγενέστερης ή Xpertise έκδοσης 6.4b ή μεταγενέστερης, σαρωτή γραμμωτών κωδικών και κατάλληλο εγχειρίδιο χρήστη του συστήματος αναλυτών GeneXpert.
- Εκτυπωτής: Εάν απαιτείται εκτυπωτής, επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Cepheid για να κανονίσετε την αγορά ενός συνιστώμενου εκτυπωτή.

9 Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση μόνο.
- Όλα τα βιολογικά δείγματα θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως ικανά να μεταδώσουν μολυσματικούς παράγοντες. Όλα τα ανθρώπινα δείγματα θα πρέπει να αντιμετωπίζονται με τις τυπικές προφυλάξεις. Οι κατευθυντήριες οδηγίες για τον χειρισμό των δειγμάτων είναι διαθέσιμες από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας ή των Κέντρων Πρόληψης και Ελέγχου Νόσων των Η.Π.Α.
- Να ακολουθείτε τις διαδικασίες ασφάλειας του ιδρύματός σας κατά την εργασία με χημικές ουσίες και κατά τον χειρισμό βιολογικών δειγμάτων.
- Τα χαρακτηριστικά απόδοσης αυτής της εξέτασης έχουν καθοριστεί με τον τύπο δειγμάτων που παρατίθενται στην Ενότητα 3. Η απόδοση αυτού του προσδιορισμού με άλλους τύπους δειγμάτων δεν έχει αξιολογηθεί.
- Ο ιστός FFPE πρέπει να υποβάλλεται σε επεξεργασία με το κιτ λύσης Xpert FFPE (αρ. καταλόγου GXFFPE-LYSIS-CE-10).
- Η ατελής αφαίρεση (απόξεση) της περιοχής του όγκου από την αντικειμενοφόρο πλάκα για την παρασκευή του υλικού λύσης FFPE μπορεί να προκαλέσει ανεπαρκές υλικό για τον προσδιορισμό και συνεπώς υψηλότερο από το αναμενόμενο ποσοστό απροσδιόριστων/μη έγκυρων αποτελεσμάτων με την εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4.
- Μην ανοίγετε το καπάκι της φύσιγγας Xpert Breast Cancer STRAT4 κατά την προσθήκη παρασκευασμένου υλικού λύσης FFPE.
- Μη χρησιμοποιείτε μια φύσιγγα που έχει πέσει κάτω μετά την αφαίρεση από τη συσκευασία.
- Μην ανακινείτε τη φύσιγγα. Η ανακίνηση ή η πτώση της φύσιγγας μετά το άνοιγμα του καπακιού της μπορεί να προκαλέσει μη έγκυρα αποτελέσματα.
- Μη χρησιμοποιείτε φύσιγγα με σωληνάριο αντίδρασης που έχει υποστεί ζημιά.
- Κάθε φύσιγγα της εξέτασης Xpert Breast Cancer STRAT4 μίας χρήσης χρησιμοποιείται για την επεξεργασία μίας εξέτασης. Μην επαναχρησιμοποιείτε φύσιγγες που έχουν χρησιμοποιηθεί.
- Μη χρησιμοποιείτε μια φύσιγγα εάν σας φαίνεται υγρή ή εάν το σφράγισμα του καπακιού φαίνεται να έχει σπάσει.
- Μην τοποθετείτε την ετικέτα αναγνωριστικού του δείγματος στο καπάκι της φύσιγγας ή στην ετικέτα γραμμωτού κωδικού.
- Οι ορθές εργαστηριακές πρακτικές, όπως η αλλαγή γαντιών μετά από τον χειρισμό ενός δείγματος και πριν τον χειρισμό του επόμενου, συνιστώνται για την αποτροπή της μόλυνσης των δειγμάτων ή των αντιδραστηρίων.
- Για τη σωστή απόρριψη των χρησιμοποιημένων φυσιγγών και των αχρησιμοποίητων αντιδραστηρίων, συμβουλευτείτε το προσωπικό περιβαλλοντικών αποβλήτων του ιδρύματός σας για τα απόβλητα. Ελέγξτε τους πολιτειακούς, περιφερειακούς και τοπικούς κανονισμούς, καθώς μπορεί να διαφέρουν από τους ομοσπονδιακούς κανονισμούς διάθεσης. Τα εγχειρίδια μπορεί να παρουσιάσει χαρακτηριστικά χημικά επικίνδυνων αποβλήτων που απαιτούν ειδική απόρριψη. Τα ιδρύματα θα πρέπει να ελέγχουν τις τοπικές απαιτήσεις διάθεσης επικίνδυνων αποβλήτων.

10 Χημικοί κίνδυνοι^{16,17}

Σύμφωνα με το Παγκοσμίως Εναρμονισμένο Σύστημα Ταξινόμησης και Επισήμανσης (GHS), αυτό το υλικό δεν θεωρείται επικίνδυνο.

11 Συλλογή, μεταφορά και αποθήκευση δειγμάτων

- Χρησιμοποιείτε μόνο με δείγματα FFPE που έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία με το κιτ Xpert FFPE Lysis Kit (αρ. καταλόγου GXFFPE-LYSIS-CE-10). Ακολουθήστε τις κατευθυντήριες οδηγίες της ASCO/CAP¹⁵ για την προετοιμασία του ιστού FFPE.
- Το υλικό λύσης FFPE θα πρέπει να παρασκευάζεται από τεμάχιο FFPE ιστού όγκου με το μεγαλύτερο εμβαδόν βιώσιμου καρκίνου του μαστού (τουλάχιστον 30% κυτταρικήτητα του όγκου) και θα πρέπει να πραγματοποιείτε μακροτεμαχισμό, εάν απαιτείται, πριν από την εξέταση με την εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4. Για δείγματα όγκου μικρότερα από 10 mm² με λιγότερο από το 30% όγκου, απαιτείται η χρήση της διαδικασίας συμπυκνωμένου υλικού λύσης ή παραπάνω από μία τομές 4-5 μm για έγκυρα αποτελέσματα.
- Το υλικό λύσης FFPE θα πρέπει να μεταφέρεται στο εργαστήριο σε θερμοκρασία 2–8 °C.
- Το υλικό λύσης FFPE είναι σταθερό έως και 1 εβδομάδα σε θερμοκρασία 2–8 °C ή σε 4 εβδομάδες ≤ -20 °C πριν από την εξέταση με το Xpert Breast Cancer STRAT4. Για μακροχρόνια φύλαξη, φυλάσσετε σε θερμοκρασία -80 °C. Δεν συνιστάται πάνω από 1 κατάψυξη-απόψυξη. Κατά την απόψυξη, αποψύξτε σε θερμοκρασία δωματίου και αναμείξτε σε αναδευτήρα τύπου vortex το υλικό λύσης FFPE για 15 δευτερόλεπτα πριν από τη χρήση.

12 Διαδικασία

Σημαντικό

Η χρήση της φύσιγγας Xpert Breast Cancer STRAT4 απαιτεί προετοιμασία ενός υλικού λύσης με τη χρήση του κιτ λύσης Xpert FFPE (αρ. καταλόγου GXFFPE-LYSIS-CE-10).

Σημαντικό

Ξεκινήστε τον προσδιορισμό εντός 30 λεπτών από την προσθήκη του παρασκευασμένου δείγματος στη φύσιγγα.

12.1 Προετοιμασία του υλικού λύσης FFPE

Προετοιμάστε το υλικό λύσης FFPE σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του κιτ λύσης FFPE.

12.2 Προετοιμασία της φύσιγγας

1. Αφαιρέστε τη φύσιγγα από τη χάρτινη συσκευασία.
2. Αναμείξτε σε αναδευτήρα τύπου vortex το παρασκευασμένο υλικό λύσης FFPE 15 δευτερόλεπτα πριν από τη χρήση.
3. Ανοίξτε το καπάκι της φύσιγγας.
4. Χρησιμοποιώντας πιπέτα, μεταφέρετε 520 μl υλικού λύσης FFPE στον θάλαμο δείγματος της φύσιγγας. (Σημείωση: μπορεί να υπάρχει μικρή ποσότητα ιζήματος, η οποία δεν επηρεάζει την απόδοση του προσδιορισμού).

Διατηρήστε το υπόλοιπο υλικό λύσης FFPE σε θερμοκρασία 2–8 °C ή ≤ -20 °C σε περίπτωση επανεξέτασης.



Εικόνα 1. Φύσιγγα Xpert Breast Cancer STRAT4 (Κάτοψη)

5. Κλείστε το καπάκι της φύσιγγας. Βεβαιωθείτε ότι το καπάκι κουμπώνει σταθερά στη θέση του.

12.3 Έναρξη μιας εξέτασης

Σημαντικό

Πριν από την έναρξη της εξέτασης, φροντίστε να εισάγετε το αρχείου ορισμού προσδιορισμού (ADF) της εξέτασης Xpert Breast Cancer STRAT4 στο λογισμικό.

Αυτή η ενότητα παραθέτει τα προεπιλεγμένα βήματα για τη λειτουργία του συστήματος GeneXpert. Για λεπτομερείς πληροφορίες, δείτε το *εγχειρίδιο χρήση του συστήματος GeneXpert Dx* ή το *εγχειρίδιο χρήση του συστήματος GeneXpert Infinity*, ανάλογα με τον αναλυτή που χρησιμοποιείται.

Σημείωση

Τα βήματα που ακολουθούνται μπορεί να είναι διαφορετικά εάν ο διαχειριστής του συστήματος έχει αλλάξει την προεπιλεγμένη ροή εργασιών του συστήματος.

1. Ενεργοποιήστε τον αναλυτή GeneXpert:

- Εάν χρησιμοποιείτε τον αναλυτή GeneXpert Dx, ενεργοποιήστε αρχικά τον αναλυτή GeneXpert Dx και κατόπιν ενεργοποιήστε τον υπολογιστή. Το λογισμικό GeneXpert θα εκκινηθεί αυτόματα ή μπορεί να χρειαστεί να κάνετε διπλό κλικ στο εικονίδιο του λογισμικού GeneXpert Dx στην επιφάνεια εργασίας των Windows®.

ή

- Εάν χρησιμοποιείτε τον αναλυτή GeneXpert Infinity, ενεργοποιήστε τον αναλυτή. Το λογισμικό Xpertise θα εκκινηθεί αυτόματα ή μπορεί να χρειαστεί να κάνετε διπλό κλικ στο εικονίδιο του λογισμικού Xpertise στην επιφάνεια εργασίας των Windows.

2. Συνδεθείτε στο λογισμικό του συστήματος αναλυτών GeneXpert, χρησιμοποιώντας τα προσωπικά σας όνομα χρήστη και κωδικό πρόσβασης. Στο παράθυρο του συστήματος GeneXpert, κάντε κλικ στο **Δημιουργία εξέτασης (Create Test)** (GeneXpert Dx) ή κάντε κλικ στο **Εντολές (Orders)** και **Εντολή εξέτασης (Order Test)** (Infinity). Ανοίγει το παράθυρο Δημιουργία εξέτασης (Create Test).

3. Σαρώστε ή πληκτρολογήστε το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID). Εάν πληκτρολογείτε το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID), βεβαιωθείτε ότι το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID) έχει πληκτρολογηθεί σωστά. Το Αναγνωριστικό δείγματος (Sample ID) σχετίζεται με τα αποτελέσματα των εξετάσεων και εμφανίζεται στο παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων (View Results) και σε όλες τις αναφορές. Εμφανίζεται το πλαίσιο διαλόγου σάρωσης φύσιγγας (Scan Cartridge).

4. Σαρώστε τον γραμμωτό κωδικό της φύσιγγας Xpert Breast Cancer STRAT4. Εμφανίζεται το παράθυρο Δημιουργία εξέτασης (Create Test). Χρησιμοποιώντας τις πληροφορίες από τον γραμμωτό κωδικό, το λογισμικό συμπληρώνει αυτόματα τα πλαίσια για τα παρακάτω πεδία: Επιλογή προσδιορισμού (Select Assay), Αναγνωριστικό παρτίδας αντιδραστηρίων (Reagent Lot ID), Αριθμός σειράς φύσιγγας (Cartridge SN).

5. Κλικ στο **Ημερομηνία έναρξης (Start Test)** (GeneXpert Dx) ή **Υποβολή (Submit)** (Infinity). Καταχωρίστε τον κωδικό πρόσβασής σας, εάν σας ζητηθεί.

6. Για τον αναλυτή GeneXpert Dx:

- Ανοίξτε τη θύρα της μονάδας του αναλυτή με την πράσινη λυχνία που αναβοσβήνει και φορτώστε τη φύσιγγα.
- Κλείστε τη θύρα. Η εξέταση ξεκινά και η πράσινη λυχνία σταματά να αναβοσβήνει. Όταν ολοκληρωθεί η εξέταση, η λυχνία σβήνει.
- Περιμένετε μέχρι το σύστημα να απελευθερώσει το κλειδί της θύρας προτού ανοίξετε τη θύρα της υπομονάδας. Αφαιρέστε τη φύσιγγα.
- Απορρίψτε τις χρησιμοποιημένες φύσιγγες στους κατάλληλους περιέκτες αποβλήτων δειγμάτων, σύμφωνα με τις τυπικές πρακτικές του ιδρύματός σας. Βλ. Ενότητα 9.

ή

Για το σύστημα GeneXpert Infinity, τοποθετήστε τη φύσιγγα στον ιμάντα μεταφοράς. Η φύσιγγα θα φορτωθεί αυτόματα, η εξέταση θα πραγματοποιηθεί και η χρησιμοποιημένη φύσιγγα θα τοποθετηθεί στον περιέκτη αποβλήτων.

13 Προβολή και εκτύπωση αποτελεσμάτων

Αυτή η ενότητα παραθέτει τα βασικά βήματα για την προβολή και την εκτύπωση των αποτελεσμάτων. Για πιο λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο προβολής και εκτύπωσης των αποτελεσμάτων, δείτε το *εγχειρίδιο χρήση του συστήματος GeneXpert Dx* ή το *εγχειρίδιο χρήση του συστήματος GeneXpert Infinity*, ανάλογα με τον αναλυτή που χρησιμοποιείται.

1. Κάντε κλικ στο **εικονίδιο Προβολή αποτελεσμάτων (View Results)**, για την προβολή των αποτελεσμάτων.
2. Μετά την ολοκλήρωση της εξέτασης, κάντε κλικ στο κουμπί **Αναφορά (Report)** στο παράθυρο Προβολή αποτελεσμάτων (View Results) για να δείτε ή/και να δημιουργήσετε ένα αρχείο αναφοράς PDF.

Σημείωση

Εάν χρησιμοποιείτε λογισμικό ONCore για να δημιουργήσετε μια αναφορά, ανατρέξτε στον οδηγό χρήστη του λογισμικού GeneXpert ONCore στο CD των οδηγιών χρήσης ONCore για οδηγίες σχετικά με τον τρόπο δημιουργίας μιας αναφοράς. Ανατρέξτε επίσης στις οδηγίες αναφοράς ONCore στο CD του Xpert Breast Cancer STRAT4 CD για οδηγίες σχετικά με τον τρόπο ερμηνείας στην αναφορά ONCore για την εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4.

14 Έλεγχος ποιότητας

Κάθε εξέταση περιέχει έναν μάρτυρα γονιδίου αναφοράς (*CYFIP1*) και έναν μάρτυρα ελέγχου ανιχνευτή (PCC).

- **Μάρτυρας *CYFIP1*:** Αυτό το γονίδιο αναφοράς χρησιμοποιείται για την ομαλοποίηση των επιπέδων έκφρασης για τα *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* και *MKi67*. Λειτουργεί επίσης ως μάρτυρας επάρκειας δείγματος (SAC) διασφαλίζοντας ότι το δείγμα περιέχει επαρκές RNA. Απαιτείται ελάχιστο σήμα *CYFIP1* για ένα έγκυρο αποτέλεσμα εξέτασης. Ένα σήμα *CYFIP1* χαμηλότερο από την ελάχιστη ποσότητα ενός αρνητικού σήματος υποδεικνύει ότι το δείγμα δεν περιέχει επαρκή ποσότητα RNA.
- **Εναλλακτικό *CYFIP1*:** Αυτό είναι ένα αντίγραφο του μάρτυρα *CYFIP1* που χρησιμοποιείται στον αλγόριθμο όταν ο ουδός κύκλου δέλτα (dCt) του *PGR* ή του *MKi67* είναι χαμηλότερος από τη ρύθμιση της τιμής αποκοπής του προσδιορισμού. Για αυτούς τους στόχους, ένα πρόσθετο εναλλακτικό σήμα *CYFIP1* απαιτείται για να διασφαλιστεί ένα έγκυρο αποτέλεσμα της εξέτασης.
- **Μάρτυρας ελέγχου ανιχνευτή (PCC):** Πριν από την έναρξη της αντίδρασης PCR, το σύστημα αναλυτών GeneXpert μετρά το σήμα φθορισμού από τους ανιχνευτές για την παρακολούθηση της επανενυδάτωσης των σφαιριδίων, της πλήρωσης του σωληναρίου αντίδρασης, της ακεραιότητας του ανιχνευτή και της σταθερότητας της χρωστικής. Ο PCC θεωρείται επιτυχής εάν πληροί τα επικυρωμένα κριτήρια αποδοχής.
- **Εξωτερικοί μάρτυρες (δεν παρέχονται):** Οι εξωτερικοί μάρτυρες θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τις απαιτήσεις των τοπικών, πολιτειακών ή ομοσπονδιακών οργανισμών διαπίστευσης, ανάλογα με την περίπτωση.

15 Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται αυτόματα από το σύστημα αναλυτών GeneXpert από τα μετρούμενα σήματα φθορισμού και τους ενσωματωμένους αλγόριθμους υπολογισμού και εμφανίζονται εμφανώς στο παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων (View Results), στις καρτέλες αποτελεσμάτων εξέτασης (Test Results) και αποτελέσματος αναλύομενης ουσίας (Analyte Result). Τα αποτελέσματα εξέτασης (Test Results) και τα αποτελέσματα αναλύομενης ουσίας (Analyte Result) εμφανίζονται επίσης στην αναφοράς εξέτασης (Test Report). Τα πιθανά αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 1 και στον Πίνακα 2.

Πίνακας 1. Όλα τα πιθανά αποτελέσματα για την εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4

Αποτέλεσμα που εμφανίζεται	CYFIP1	Εναλλακτικό CYFIP1 (CYFIP1 Alternate)	CIC
ΘΕΤΙΚΟ ΓΙΑ <i>ESR1</i> (<i>ESR1</i> POSITIVE)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	ΘΕΤ. Ή APN.	ΘΕΤ. Ή APN.
ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΓΙΑ <i>ESR1</i> (<i>ESR1</i> NEGATIVE)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	ΘΕΤ. Ή APN.	ΘΕΤ. Ή APN.
ΘΕΤΙΚΟ ΓΙΑ <i>PGR</i> (<i>PGR</i> POSITIVE)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	ΘΕΤ. Ή APN.	ΘΕΤ. Ή APN.
ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΓΙΑ <i>PGR</i> (<i>PGR</i> NEGATIVE)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	ΘΕΤ.	ΘΕΤ. Ή APN.
ΘΕΤΙΚΟ ΓΙΑ <i>ERBB2</i> (<i>ERBB2</i> POSITIVE)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	ΘΕΤ. Ή APN.	ΘΕΤ. Ή APN.
ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΓΙΑ <i>ERBB2</i> (<i>ERBB2</i> NEGATIVE)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	ΘΕΤ. Ή APN.	ΘΕΤ. Ή APN.
ΘΕΤΙΚΟ ΓΙΑ <i>MKi67</i> (<i>MKi67</i> POSITIVE)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	ΘΕΤ. Ή APN.	ΘΕΤ. Ή APN.

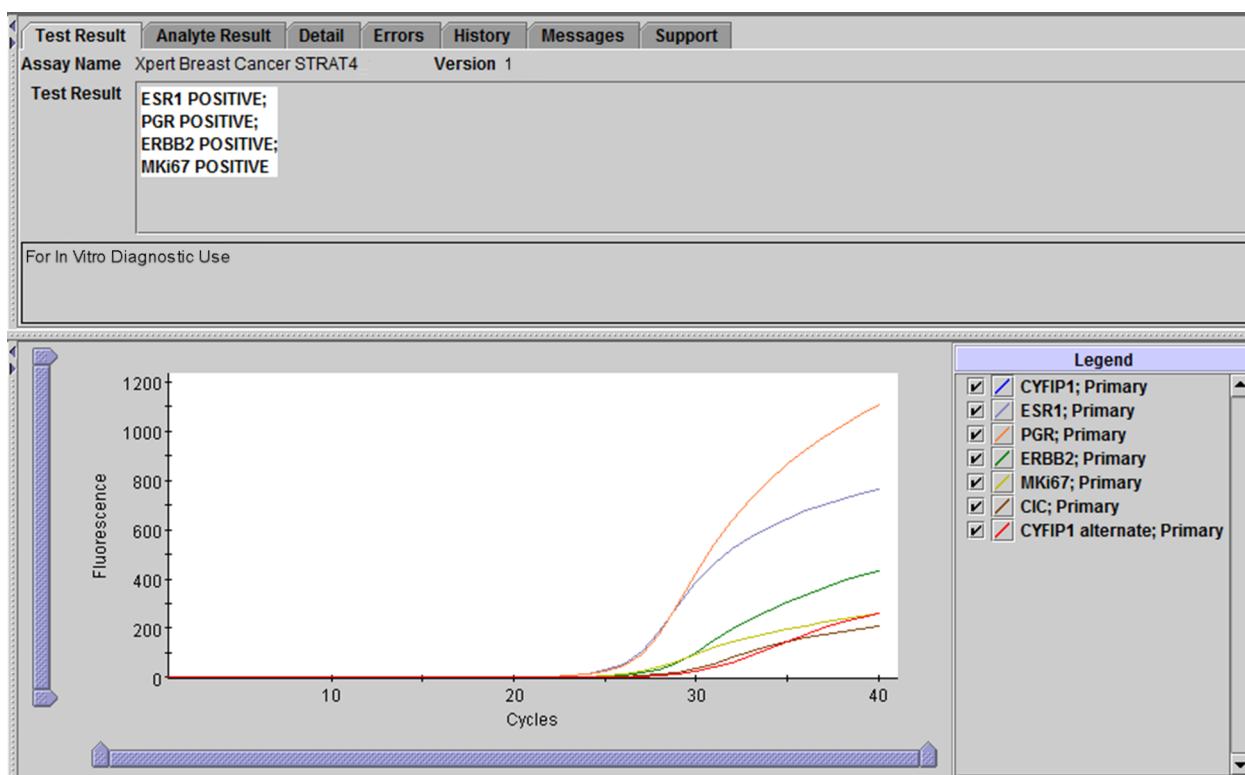
Αποτέλεσμα που εμφανίζεται	CYFIP1	Εναλλακτικό CYFIP1 (CYFIP1 Alternate)	CIC
ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΓΙΑ ΜΚi67 (MKi67 NEGATIVE)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	ΘΕΤ.	ΘΕΤ. Ή APN.
ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΟ ΓΙΑ PGR (PGR INDETERMINATE)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	APN.	ΘΕΤ. Ή APN.
ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΟ ΓΙΑ ΜΚi67 (MKi67 INDETERMINATE)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	APN.	ΘΕΤ. Ή APN.
ΕΠΑΝΑΛΑΒΕΤΕ ΤΗΝ ΕΞΕΤΑΣΗ (REPEAT TEST)	ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS)	ΘΕΤ. Ή APN.	APN.
ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)	ΑΠΟΤΥΧΙΑ (FAIL)	APN.	ΘΕΤ. Ή APN.
ΣΦΑΛΜΑ (ERROR)	ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)	ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)	ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)
ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)	ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)	ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)	ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)

Πίνακας 2. Αντιπροσωπευτικά αποτελέσματα και ερμηνεία του Xpert Breast Cancer STRAT4

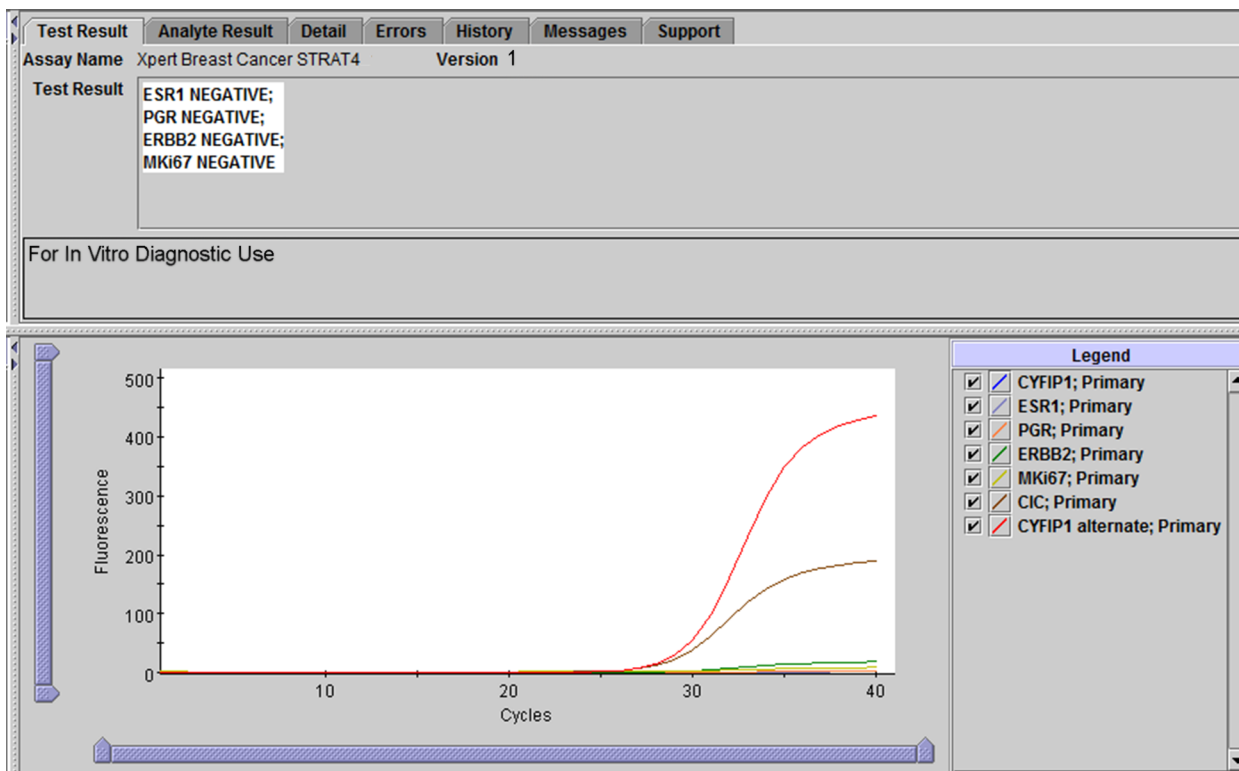
Αποτέλεσμα	Ερμηνεία
<p>ΘΕΤΙΚΟ ΓΙΑ ESR1 (ESR1 POSITIVE)</p> <p>Βλ. Εικόνα 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Το μεταγράφημα mRNA <i>ESR1</i> υπερεκφράζεται και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (dCt) υψηλότερο από τη ρύθμιση αποκοπής. • <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.
<p>ΘΕΤΙΚΟ ΓΙΑ PGR (PGR POSITIVE)</p> <p>Βλ. Εικόνα 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Το μεταγράφημα mRNA <i>PGR</i> υπερεκφράζεται και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (dCt) υψηλότερο από τη ρύθμιση αποκοπής. • <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.
<p>ΘΕΤΙΚΟ ΓΙΑ ERBB2 (ERBB2 POSITIVE)</p> <p>Βλ. Εικόνα 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Το μεταγράφημα mRNA <i>ERBB2</i> υπερεκφράζεται και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (dCt) υψηλότερο από τη ρύθμιση αποκοπής. • <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.
<p>ΘΕΤΙΚΟ ΓΙΑ MKI67 (MKI67 POSITIVE)</p> <p>Βλ. Εικόνα 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Το μεταγράφημα mRNA <i>MKI67</i> υπερεκφράζεται και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (dCt) υψηλότερο από τη ρύθμιση αποκοπής. • <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.
<p>ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΓΙΑ ESR1 (ESR1 NEGATIVE)</p> <p>Βλ. Εικόνα 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Το μεταγράφημα mRNA <i>ESR1</i> υπερεκφράζεται και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (dCt) χαμηλότερο από τη ρύθμιση αποκοπής. • <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.
<p>ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΓΙΑ PGR (PGR NEGATIVE)</p> <p>Βλ. Εικόνα 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Το μεταγράφημα mRNA <i>PGR</i> υπερεκφράζεται και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (dCt) χαμηλότερο από τη ρύθμιση αποκοπής. • <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Εναλλακτικό <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Το <i>CYFIP1</i> έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.

Αποτέλεσμα	Ερμηνεία
<p>ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΓΙΑ ERBB2 (ERBB2 NEGATIVE)</p> <p>Βλ. Εικόνα 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Το μεταγράφημα mRNA <i>ERBB2</i> δεν υπερεκφράζεται και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (dCt) χαμηλότερο από τη ρύθμιση αποκοπής. • <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.
<p>ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΓΙΑ MKi67 (MKi67 NEGATIVE)</p> <p>Βλ. Εικόνα 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Το μεταγράφημα mRNA <i>MKi67</i> υπερεκφράζεται και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (dCt) χαμηλότερο από τη ρύθμιση αποκοπής. • <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Εναλλακτικό <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Το <i>CYFIP1</i> έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.
<p>Απροσδιόριστο για PGR (PGR Indeterminate)</p> <p>Βλ. Εικόνα 4.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Η έκφραση του mRNA του <i>PGR</i> δεν μπορεί να προσδιοριστεί λόγω του γεγονότος ότι το δείγμα περιέχει ανεπαρκές υλικό. Επαναλάβετε την εξέταση χρησιμοποιώντας περισσότερο συμπυκνωμένο υλικό λύσης. • <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Εναλλακτικό <i>CYFIP1</i> – APN. Ο ουδός κύκλου (Ct) του <i>CYFIP1</i> δεν βρισκόταν εντός του έγκυρου εύρους ή το τελικό σημείο ήταν χαμηλότερο από το όριο ρύθμισης που είναι απαραίτητο για τον προσδιορισμό της κατάστασης του PGR. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.
<p>Απροσδιόριστο για MKi67 (MKi67 Indeterminate)</p> <p>Βλ. Εικόνα 4.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Η έκφραση του mRNA του <i>MKi67</i> δεν μπορεί να προσδιοριστεί λόγω του γεγονότος ότι το δείγμα περιέχει ανεπαρκές υλικό. Επαναλάβετε την εξέταση χρησιμοποιώντας περισσότερο συμπυκνωμένο υλικό λύσης. • <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Εναλλακτικό <i>CYFIP1</i> – APN. Ο ουδός κύκλου (Ct) του <i>CYFIP1</i> δεν βρισκόταν εντός του έγκυρου εύρους ή το τελικό σημείο ήταν χαμηλότερο από το όριο ρύθμισης που είναι απαραίτητο για τον προσδιορισμό της κατάστασης του <i>MKi67</i>. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.

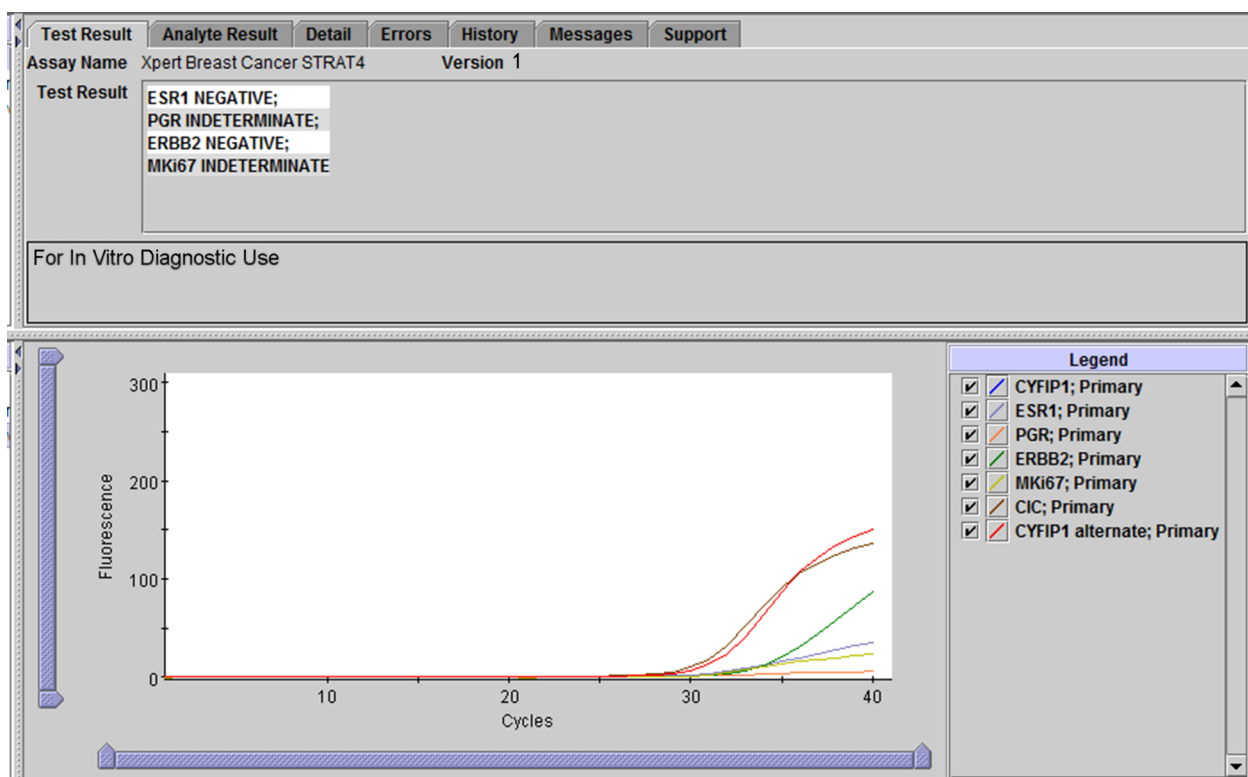
Αποτέλεσμα	Ερμηνεία
<p>ΕΠΑΝΑΛΑΒΕΤΕ ΤΗΝ ΕΞΕΤΑΣΗ (REPEAT TEST)</p> <p>Βλ. Εικόνα 5.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Τα επίπεδα έκφρασης mRNA των <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> mRNA δεν μπορούν να προσδιοριστούν. Επαναλάβετε την εξέταση χρησιμοποιώντας ένα κλάσμα από το διατηρημένο υλικό λύσης του δείγματος FFPE. • <i>CYFIP1</i> – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> και έχει έναν ουδό κύκλου δέλτα (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • Εναλλακτικό <i>CYFIP1</i> – ΘΕΤ./ΑΡΝ. Δεν ανιχνεύτηκε μεταγράφημα mRNA <i>CYFIP1</i> mRNA. Το μεταγράφημα μπορεί να έχει ή να μην έχει ουδό κύκλου (Ct) εντός του έγκυρου εύρους και τελικό σημείο υψηλότερο από τη ρύθμιση του ουδού. • CIC – ΑΡΝ. Ο εσωτερικός μάρτυρας έχει ουδό κύκλου (Ct) εκτός του έγκυρου εύρους. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.
<p>ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID) – Η έκφραση του mRNA των <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> δεν μπορεί να προσδιοριστεί λόγω του γεγονότος ότι το δείγμα περιέχει ανεπαρκές υλικό. Επαναλάβετε την εξέταση χρησιμοποιώντας περισσότερο συμπυκνωμένο υλικό λύσης. • <i>CYFIP1</i> – ΑΠΟΤΥΧΙΑ (FAIL). Ο ουδός κύκλου (Ct) του <i>CYFIP1</i> δεν βρισκόταν εντός του έγκυρου εύρους ή το τελικό σημείο ήταν χαμηλότερο από το όριο ρύθμισης. • Εναλλακτικό <i>CYFIP1</i> – ΑΡΝ. Ο ουδός κύκλου (Ct) του <i>CYFIP1</i> δεν βρισκόταν εντός του έγκυρου εύρους ή το τελικό σημείο ήταν χαμηλότερο από το όριο ρύθμισης που είναι απαραίτητο. • Έλεγχος ανιχνευτή – ΕΠΙΤΥΧΗΣ (PASS). Όλα τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι επιτυχή.
<p>ΣΦΑΛΜΑ (ERROR)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Τα επίπεδα έκφρασης mRNA των <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> mRNA δεν μπορούν να προσδιοριστούν. Επαναλάβετε την εξέταση χρησιμοποιώντας ένα κλάσμα από το διατηρημένο υλικό λύσης του δείγματος FFPE. • <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> – ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT) • Εναλλακτικό <i>CYFIP1/CYFIP1</i> – ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT) • Έλεγχος ανιχνευτή – PASS* (ΕΠΙΤΥΧΙΑ)/ΑΠΟΤΥΧΙΑ (FAIL). Όλα ή ένα από τα αποτελέσματα ελέγχου του ανιχνευτή είναι ανεπιτυχή. <p>* Εάν ο έλεγχος ανιχνευτή ήταν επιτυχής, το σφάλμα προκαλείται από το ότι το όριο μέγιστης πίεσης υπερβαίνει το αποδεκτό εύρος, από σφάλμα εφαρμογής της καμπύλης ή από αστοχία εξαρτήματος του συστήματος.</p>
<p>ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Τα επίπεδα έκφρασης mRNA των <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> mRNA δεν μπορούν να προσδιοριστούν. Συλλέχθηκαν ανεπαρκή δεδομένα για τη δημιουργία του αποτελέσματος της εξέτασης. Για παράδειγμα, μπορεί να συμβεί εάν ο χειριστής διέκοψε μια εξέταση που βρισκόταν σε εξέλιξη. Επαναλάβετε την εξέταση χρησιμοποιώντας το διατηρημένο υλικό λύσης του δείγματος FFPE. • <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> – ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT) • Εναλλακτικό <i>CYFIP1/CYFIP1</i> – ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT) • Έλεγχος ανιχνευτή – Δ/Ι (NA) (δεν ισχύει)



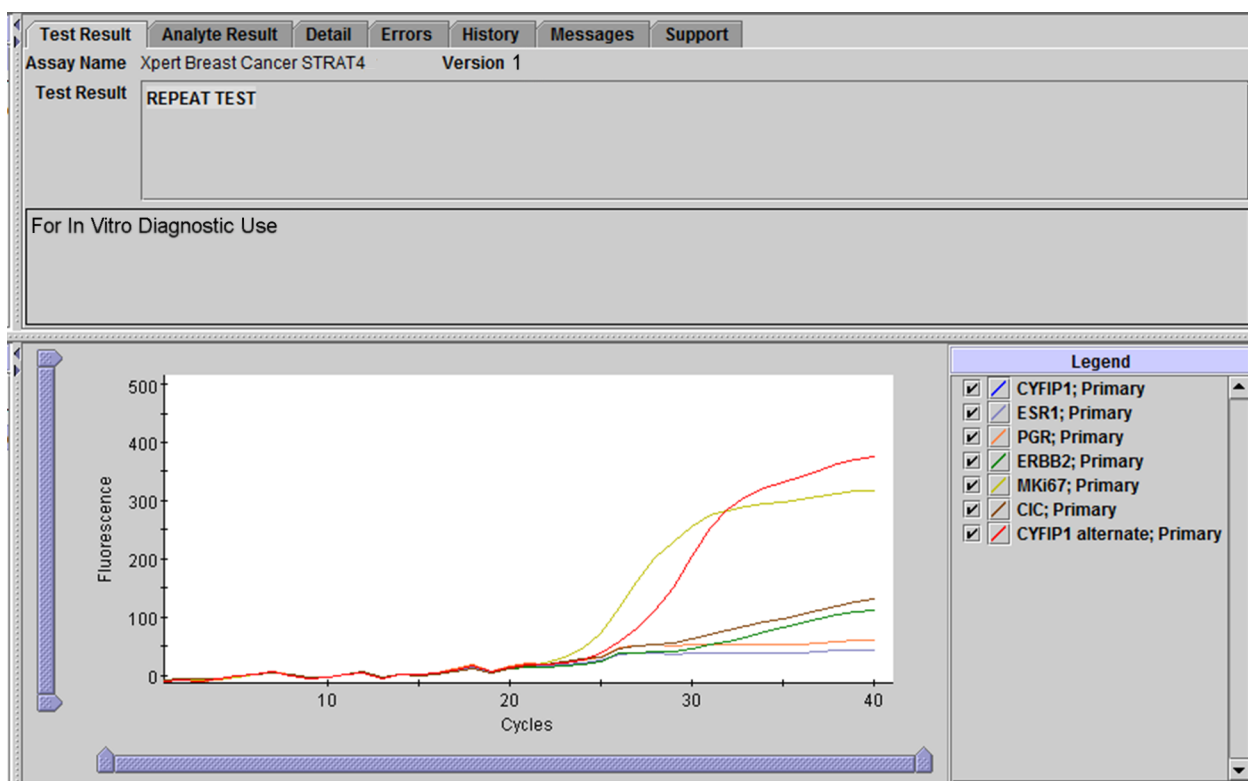
Εικόνα 2. Παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων GeneXpert Dx: ΘΕΤΙΚΟ ΓΙΑ ESR1/PGR/ERBB2/MKI67



Εικόνα 3. Παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων GeneXpert Dx: ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΓΙΑ ESR1/PGR/ERBB2/MKI67



Εικόνα 4. Παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων GeneXpert Dx: ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΟ ΓΙΑ PGR/MKI67



Εικόνα 5. Παράθυρο προβολής αποτελεσμάτων GeneXpert Dx: ΕΠΑΝΑΛΑΒΕΤΕ ΤΗΝ ΕΞΕΤΑΣΗ (REPEAT TEST)

16 Λόγοι για την επανάληψη της εξέτασης

Επαναλάβετε την εξέταση με νέα φύσιγγα (μην επαναχρησιμοποιείτε τη φύσιγγα).

- Ένα αποτέλεσμα **ΕΠΑΝΑΛΑΒΕΤΕ ΤΗΝ ΕΞΕΤΑΣΗ (REPEAT TEST)** υποδεικνύει ότι ο εσωτερικός μάρτυρας απέτυχε. Το δείγμα δεν υποβλήθηκε σε σωστή επεξεργασία. Σε αυτήν την περίπτωση, επαναλάβετε την εξέταση με τη χρήση ενός νέου κλάσματος 520 μl του ίδιου υλικού λύσης FFPE.
- Ένα αποτέλεσμα **ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)** υποδεικνύει ότι ο μάρτυρας αναφοράς απέτυχε. Το δείγμα δεν υποβλήθηκε σε σωστή επεξεργασία, η εξέταση PCR αναστάλθηκε ή η ποιότητα RNA στον όγκο που αξιολογήθηκε δεν ήταν επαρκής. Σε αυτήν την περίπτωση, επαναλάβετε την εξέταση με πιο συμπακνωμένο υλικό λύσης FFPE σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του κιτ λύσης FFPE.
- Ένα αποτέλεσμα **ΣΦΑΛΜΑ (ERROR)** υποδεικνύει ότι ο μάρτυρας ελέγχου ανιχνευτή απέτυχε και ο προσδιορισμός ματαιώθηκε δυναμικά λόγω ακατάλληλης πλήρωσης του σωληναρίου αντίδρασης, λόγω ανίχνευσης προβλήματος με την ακεραιότητα του ανιχνευτή αντιδραστήριου, επειδή έγινε υπέρβαση των ορίων της μέγιστης πίεσης ή ανιχνεύτηκε ένα σφάλμα τοποθέτησης της βαλβίδας. Σε αυτήν την περίπτωση, επαναλάβετε την εξέταση με τη χρήση ενός νέου κλάσματος 520 μl του ίδιου υλικού λύσης FFPE.
- Η ένδειξη **ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)** υποδεικνύει ότι συλλέχθηκαν ανεπαρκή δεδομένα. Για παράδειγμα, ο χειριστής διέκοψε μια εξέταση που βρισκόταν σε εξέλιξη ή παρουσιάστηκε διακοπή τροφοδοσίας. Σε αυτήν την περίπτωση, επαναλάβετε την εξέταση με τη χρήση ενός νέου κλάσματος 520 μl του ίδιου υλικού λύσης FFPE.
- Εάν ένας εξωτερικός έλεγχος ποιότητας δεν αποδώσει όπως αναμένεται, επαναλάβετε την εξέταση του εξωτερικού μάρτυρα ή/και επικοινωνήστε με την Cerheid για βοήθεια.

17 Περιορισμοί

- Τροποποιήσεις σε αυτές τις διαδικασίες ενδέχεται να μεταβάλλουν την απόδοση της εξέτασης. Τα αποτελέσματα από την εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με άλλα εργαστηριακά και κλινικά δεδομένα που έχει στη διάθεσή του ο κλινικός ιατρός.
- Η απόδοση της εξέτασης Xpert Breast Cancer STRAT4 επικυρώθηκε με χρήση των διαδικασιών που παρέχονται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης και με τη χρήση δειγμάτων FFPE πέντε έως δέκα ετών.
- Η απόδοση της εξέτασης Xpert Breast Cancer STRAT4 επικυρώθηκε με χρήση των διαδικασιών που παρέχονται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης μόνο.
- Μπορεί να προκληθούν εσφαλμένα αποτελέσματα εξετάσεων λόγω ακατάλληλης συλλογής δειγμάτων, ακατάλληλου χειρισμού ή ακατάλληλης αποθήκευσης ή ανάμιξης δειγμάτων. Είναι απαραίτητη η αυστηρή τήρηση αυτών των οδηγιών χρήσης για την αποτροπή εσφαλμένων αποτελεσμάτων.
- Τα χαρακτηριστικά απόδοσης δεν καθορίστηκαν για ασθενείς ηλικίας κάτω των 25 ετών.
- Οι μεταλλάξεις ή οι πολυμορφισμοί των περιοχών πρόσδεσης εκκινητή ή ανιχνευτή μπορεί να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αλλά πιστευτά αποτελέσματα για τα *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* και *MKi67*.

18 Χαρακτηριστικά απόδοσης

18.1 Κλινική απόδοση

Τα χαρακτηριστικά απόδοσης της εξέτασης Xpert Breast Cancer STRAT4 αξιολογήθηκαν σε σχέση με τα αποτελέσματα IHC για τα ER, PR, HER2, και Ki67, καθώς και με *in situ* υβριδισμό με φθορισμό (FISH) για την ενίσχυση του γονιδίου HER2 σε κέντρα στις Η.Π.Α. και στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Αρχικά, συνολικά 211 δείγματα FFPE από τα οποία αποκρύφθηκαν τα προσωπικά στοιχεία από πρωτοπαθείς διηθητικούς όγκους του καρκίνου του μαστού από τις Η.Π.Α. και την Ε.Ε. εντάχθηκαν σε αυτήν μελέτη. 10 δείγματα αποκλείστηκαν λόγω μη επαρκούς διαθέσιμου όγκου για εξέταση και ένα δείγμα αποκλείστηκε λόγω απόσυρσης της συγκατάθεσης. Συνεπώς, συνολικά 200 δείγματα ήταν διαθέσιμα για συμπερίληψη στις αναλύσεις δεδομένων. Για κάθε δείγμα FFPE, παρασκευάστηκαν πολλαπλές αντικειμενοφόρες πλάκες για εξέταση με το Xpert, για την εξέταση IHC των ER, PR, HER2 και Ki67, καθώς και την εξέταση FISH της ενίσχυσης των γονιδίων HER2.

Συνολικά, το Xpert Breast Cancer STRAT4 παρείχε έγκυρα αποτελέσματα με την πρώτη προσπάθεια για το 99,5% (199/200) των δειγμάτων της μελέτης. Ένα δείγμα που αρχικά απέδωσε απροσδιόριστο αποτέλεσμα [**ΣΦΑΛΜΑ (ERROR)**, **ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)** ή **ΚΑΝΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (NO RESULT)**] έδωσε αποτέλεσμα εξέτασης μετά από μία επανεξέταση. Το συνολικό ποσοστό επιτυχίας του προσδιορισμού ήταν 100,0% (200/200).

Από τα 200 δείγματα με έγκυρα αποτελέσματα εξέτασης Xpert, τα ESR1 και ERBB2 έδωσαν ένα έγκυρο αποτέλεσμα ή ένα αρνητικό αποτέλεσμα εξέτασης στο 100% των περιπτώσεων (200/200). Για τα PGR και MKi67, το Xpert έδωσε έγκυρο θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα εξέτασης στο 98,5% (197/200) και 97,0% (194/200) των περιπτώσεων, αντίστοιχα. Τα 7 δείγματα με απροσδιόριστα αποτελέσματα Xpert για PGR ή/και MKi67 επανεξετάστηκαν με τη χρήση της μεθόδου συμπυκνωμένου υλικού λύσης FFPE. Τόσο τα αρχικά αποτελέσματα (πρώτη απόπειρα) όσο και τα αποτελέσματα της επανεξέτασης εμφανίζονται στον Πίνακα 3.

Για το συνδυασμένο σύνολο δεδομένων, η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 κατέδειξε θετική ποσοστιαία συμφωνία (Positive Percent Agreement, PPA) 97,2%, αρνητική ποσοστιαία συμφωνία (Negative Percent Agreement, NPA) 95,0%, καθώς και συνολική ποσοστιαία συμφωνία (Overall Percent Agreement, OPA) 97,0% για ESR1 σε σχέση με IHC,¹⁸ PPA με 88,4%, NPA 90,7% και OPA 88,9% για PGR σε σχέση με IHC,¹⁸ PPA 100,0%, NPA 92,4%, και OPA 93,3% για ERBB2 σε σχέση με IHC,¹⁹ και PPA 100%, NPA 92,0%, και OPA 93,3% για ERBB2 σε σχέση με HER2 FISH.¹⁹ Για MKi67 PPA 88,8%, NPA 100% και OPA 90,7% με ουδό IHC καθορισμένο σε >20% για θετικά και <10% για αρνητικά αποτελέσματα. Τα απροσδιόριστα δείγματα IHC MKi67 (ουδός 10%-20%, συμπεριλαμβανομένου) αποκλείστηκαν από την ανάλυση. Τα συνολικά ποσοστά PPA, NPA και OPA για κάθε στόχο εμφανίζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Κλινική απόδοση

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

^a Αρχικό = 1X υλικό λύσης σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης. Επανεξέταση = αποτέλεσμα της επανεξέτασης σε 4X συμπυκνωμένο υλικό λύσης σε περιπτώσεις κατά τις οποίες το αρχικό δείγμα (1X υλικό λύσης) έδωσε απροσδιόριστο αποτέλεσμα για PGR ή/και MKi67.

^b Δείγματα με μη προσδιορίσιμα ή απροσδιόριστα αποτελέσματα Xpert, δείγματα με αμφίβολα ή απροσδιόριστα αποτελέσματα IHC, δείγματα με αποτυχημένη IHC και αποτυχημένο FISH αποκλείστηκαν.

19 Αναλυτική απόδοση

19.1 Αναλυτική ευαισθησία/Ελάχιστη εισαγωγή προσδιορισμού

Η ελάχιστη εισαγωγή του προσδιορισμού προσδιορίστηκε από την αξιολόγηση του μέγιστου CYFIP1 Ct (γονίδιο αναφοράς) που προσδιορίζει με ακρίβεια την εισαγωγή του δείγματος που απαιτείται για ισχυρή απόδοση του προσδιορισμού. Αυτή η εισαγωγή δείγματος διασφαλίζει ότι λαμβάνονται έγκυρα αποτελέσματα στα περισσότερα κλινικά δείγματα FFPE που εξετάζονται. Δείγματα με τιμή CYFIP1 Ct μεγαλύτερη από την επιτρεπόμενη θα δημιουργήσουν ένα **ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)** αποτέλεσμα.

Η αναλυτική ευαισθησία/ελάχιστη εισαγωγή προσδιορισμού για την εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4, που ορίζεται ως η μέγιστη τιμή CYFIP1 Ct που έχει ως αποτέλεσμα $\geq 95\%$ έγκυρα αποτελέσματα, καθιερώθηκε με τη χρήση αραιώσεων προϊόντων λύσης κλινικών δειγμάτων FFPE για την πρόκληση CYFIP1 Ct. Για την αξιολόγηση της ευαισθησίας της CYFIP1 Ct, ένα προϊόν λύσης κλινικών δειγμάτων FFPE αραιώθηκε διαδοχικά και εξετάστηκε με N=20 επαναληπτικά δείγματα ανά επίπεδο αραιώσης για 3 ημέρες μέχρι πάνω από το $\leq 95\%$ των αποτελεσμάτων της εξέτασης να ήταν έγκυρα. Τα επίπεδα αραιώσης περιλάμβαναν ένα δείγμα στην αναμενόμενη ελάχιστη εισαγωγή προσδιορισμού, δύο επίπεδα χαμηλότερα και δύο επίπεδα υψηλότερα. Η εξέταση πραγματοποιήθηκε σε δύο παρτίδες φυσιγγίων Xpert Breast Cancer STRAT4.

Πριν από την έναρξη της μελέτης, πραγματοποιήθηκε εξέταση ορίου τυφλού με N=60 επαναληπτικά δείγματα, με τη χρήση δύο ανεξάρτητων παρτίδων φυσιγγίων Xpert Breast Cancer STRAT4. Το δείγμα του ορίου τυφλού αποτελούνταν από μια τομή μαύρης παραφίνης (χωρίς δείγμα ιστού) και όλα τα αποτελέσματα της εξέτασης παρουσίασαν αναμενόμενα ΜΗ ΕΓΚΥΡΑ (**ΜΗ ΕΓΚΥΡΟ (INVALID)**) αποτελέσματα. Οι διαδοχικές αραιώσεις εισαγόμενου κλινικού δείγματος ιστού FFPE σε αναλογία 1/1000 απέδωσαν 20/20 έγκυρες τιμές CYFIP1 Ct, με μέση Ct = 33,4 και 0,6 SD από την παρτίδα 1 της εξέτασης Xpert Breast Cancer STRAT4 και μέση Ct = 33,6 και 0,5 SD από την παρτίδα 2. Περαιτέρω αραιώσεις με μεταγενέστερες τιμές CYFIP1 Ct δεν μπόρεσαν να ικανοποιήσουν $\geq 95\%$ έγκυρα αποτελέσματα που απαιτούνται για τη μελέτη. Ο Πίνακας 4 συνοψίζει τον αριθμό των έγκυρων σειρών αναλύσεων της εξέτασης σε κάθε επίπεδο διαδοχικά αραιωμένου δείγματος ως σχετική αραιώση ή ως μέση CYFIP1 Ct. Η αναλυτική ευαισθησία με τη χρήση φυσιγγίων εξέτασης Xpert Breast Cancer STRAT4 κατέδειξε ελάχιστη απαίτηση εισαγωγής του προσδιορισμού για CYFIP1 Ct = 33,4. Αυτή η τιμή, σε συνδυασμό με τη διακύμανση του προσδιορισμού θα επέτρεπαν τον ορισμό του ανώτατου ορίου CYFIP1 Ct = 35 για την εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4.

Πίνακας 4. Ελάχιστη εισαγωγή προσδιορισμού στο Xpert Breast Cancer STRAT4

Παρτίδα κιτ	Εισαγωγή δείγματος (Σχετική αραιώση)	Μέση CYFIP1 Ct	SD	N έγκυρων αναλύσεων (Ct ≤ 35)
00801 (Παρτίδα 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	δ/ι	δ/ι	0/20
00903 (Παρτίδα 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	δ/ι	δ/ι	0/20

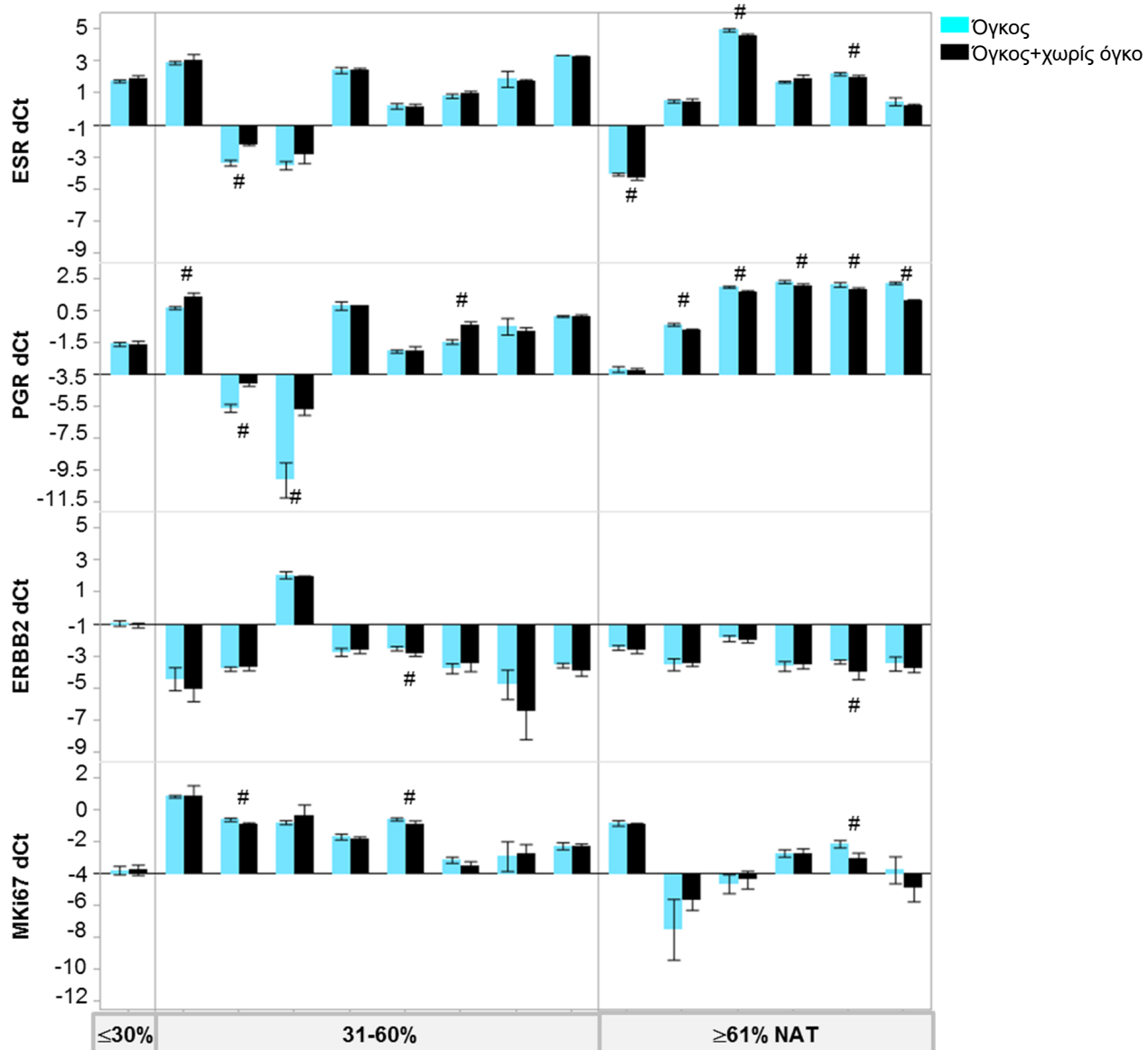
19.2 Εξέταση παρεμβολής

Παρακείμενος φυσιολογικός/μη φυσιολογικός ιστός

Φυσιολογικοί ιστοί (χωρίς όγκο) (NAT) υπάρχουν συχνά μεταξύ των δειγμάτων ιστών καρκίνου του μαστού ως μολυσματικά υλικά που δυνητικά παρεμβάλλονται με την ειδική ανίχνευση του στόχου. Η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 μπορεί να απαιτεί παθολογοανατομικά επιβεβαιωμένη τομή FFPE καρκίνου του μαστού που πρόκειται να υποστεί μακροσκοπική διατομή, για την ελαχιστοποίηση των δυνητικών επιδράσεων μολυσματικών ουσιών χωρίς όγκο σε εφαρμόσιμες περιπτώσεις, όπως προσδιορίζεται από έναν παθολογοανατόμο. Για την αξιολόγηση της επίδρασης παρακείμενων φυσιολογικών/μη φυσιολογικών ιστών, εξετάστηκαν δεκαπέντε (15) δείγματα ιστοτεμαχίων FFPE με διηθητικό καρκίνωμα μαστού που περιέχουν 21-98% περιβάλλοντα NAT με την εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4, με και χωρίς μικροτεμαχισμό. Η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 πραγματοποιήθηκε με N=4 επαναληπτικά δείγματα από το ίδιο υλικό λύσης ανά κατάσταση. Οι τιμές dCt των ESR1, PGR, ERBB2 και MKi67 για κάθε δείγμα ιστού με μακροτεμαχισμό (ραβδόγραμμα με μπλε χρώμα) ή χωρίς μικροτεμαχισμό (ραβδόγραμμα με μαύρο χρώμα) αξιολογήθηκαν αρχικά μέσω μονόδρομης ANOVA για να προσδιοριστεί η στατιστική παρεμβολή του NAT. Κλινικά σημαντική παρεμβολή από NAT θεωρήθηκε ότι υπάρχει όταν η τιμή ddCt (δέλτα-δέλτα Ct) μεταξύ δειγμάτων που έχουν υποστεί μακροδιαχωρισμό ή μη μακροδιαχωρισμό ήταν >1,0 και υπήρχε μια αλλαγή στο αποτέλεσμα της εξέτασης. Τα αποτελέσματα της μελέτης συνοψίζονται στον Εικόνα 6.

Οι τιμές dCt των ESR1, PGR, ERBB2 και MKi67 και των 15 δειγμάτων ομαδοποιήθηκαν με βάση το % NAT ($\leq 30\%$, 31-60% ή $\geq 61\%$). Τα μπλε και μαύρα κατακόρυφα ραβδογράμματα με SD αντιπροσωπεύουν μέσες τιμές dCt στόχου από N=4 αντίγραφα μακρο- και μικρο-διαχωρισμένων τομών FFPE από ένα τεμάχιο FFPE διηθητικού καρκίνου του μαστού. Και τα 15 τεμάχια FFPE (N=1 κάτω από 30% NAT, N=8 με 31-60% NAT και N=6 πάνω από 60% NAT) κατέδειξαν είτε μη στατιστική σημασία της παρεμβολής από παρακείμενο φυσιολογικό/μη φυσιολογικό ιστό με βάση μονόδρομες αναλύσεις ANOVA με τιμή $p \geq 0,05$ ή χωρίς κλινική σημασία (επισημαίνεται ως #) εάν η παραλλαγή στις τιμές της Ct κάθε στόχου μεταξύ των μακρο- και μικρο-διαχωρισμένων δειγμάτων ήταν $\leq 1,0$ ή όταν τα αποτελέσματα της εξέτασης-στόχου (θετικά, αρνητικά) παρέμειναν ανεπηρέαστα.

Εικόνα 6. Παρεμβολή από παρακείμενο φυσιολογικό/μη φυσιολογικό ιστό στο dCt-στόχο του Xpert Breast Cancer STRAT4



DCIS, νεκρωτικός, αιμορραγικός ιστός

Για την αξιολόγηση του πορογενούς καρκινώματος in situ (DCIS), νεκρωτικών και αιμορραγικών ιστών, εξετάστηκαν συνολικά 9 FFPE δείγματα (3 τεμάχια FFPE όγκου μαστού που περιέχουν 3-61% DCIS, 3 τεμάχια FFPE που περιέχουν 10-65% νεκρωτικό ιστό και 3 τεμάχια FFPE που περιέχουν 15-41% αιμορραγικό ιστό) με την εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 με και χωρίς μακροτεμαχισμό. Η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 πραγματοποιήθηκε με N=4 επαναληπτικά δείγματα από το ίδιο υλικό λύσης ανά κατάσταση. Όλες οι συνθήκες της εξέτασης διαπιστώθηκε ότι είτε δεν έχουν καμία στατιστικά ή κλινικά σημαντική επίδραση από διάφορες μολύνσεις από DCIS, νέκρωση και αιμορραγικό ιστό με τη χρήση της εξέτασης Xpert Breast Cancer STRAT4 (δεν εμφανίζονται γραφικά δεδομένα).

Ανθρώπινο γονιδιωματικό DNA (hgDNA)

Η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 χρησιμοποιεί εξαιρετικά ειδικούς εκκινητές και ανιχνευτές για τον αποτελεσματικό υβριδισμό με τις μήτρες mRNA-στόχους ESR1, PGR, ERBB2 και MKi67 mRNA από μια δεξαμενή νουκλεϊκών οξέων του γονιδιώματος (ανθρώπινο γονιδιωματικό DNA = hgDNA). Για την αξιολόγηση της επίδρασης του hgDNA στην εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4, υποβλήθηκαν σε μικροτεμαχισμό και εξετάστηκαν 10 τεμάχια FFPE όγκου μαστού με διαφορετικό κυτταρικό περιεχόμενο κυττάρων διηθητικού πορογενούς καρκινώματος, με και χωρίς την προσθήκη 25 ng of hgDNA στο υλικό λύσης δείγματος FFPE με τη χρήση της εξέτασης Xpert Breast Cancer STRAT4 σε

N=4 επαναληπτικά δείγματα από το ίδιο υλικό λύσης ανά συνθήκη. Όλες οι συνθήκες της εξέτασης διαπιστώθηκε ότι δεν έχουν καμία στατιστική ή κλινικά σημαντική επίδραση στην παρεμβολή από hgDNA (δεν εμφανίζονται τα δεδομένα με τη μορφή γραφήματος).

19.3 Επιμόλυνση λόγω μεταφοράς δείγματος

Διεξήχθη μια μελέτη για να δείξει ότι οι αυτόνομες φύσιγγες μίας χρήσης GeneXpert ελαχιστοποιούν την επιμόλυνση αρνητικών δειγμάτων λόγω μεταφοράς, μετά από πολύ υψηλά θετικά δείγματα που αναλύονται στην ίδια μονάδα GeneXpert. Η μελέτη αποτελείται από ένα αρνητικό δείγμα που υποβλήθηκε σε επεξεργασία στην ίδια μονάδα GeneXpert και αμέσως μετά ακολουθήθηκε από ένα εξαιρετικά θετικό δείγμα ESR1/PGR/ERBB2/MKi67. Το αρνητικό δείγμα αποτελούνταν από *in vitro* μεταγραφημένο (IVT) RNA που περιέχει μεταγραφήματα CYFIP1 σε 5×10^4 αντίγραφα για να διασφαλιστεί η παρουσία του γονιδίου-στόχου αναφοράς. Το υψηλά θετικό δείγμα αποτελούνταν από IVT RNA που περιέχει μεταγράφημα CYFIP1 σε 5×10^5 αντίγραφα και IVT RNA που περιέχει μεταγραφήματα ESR1, PGR, ERBB2 και MKi67 σε 5×10^6 αντίγραφα, παρασκευασμένα ως υλικό λύσης FFPE. Το σχήμα εξέτασης επαναλήφθηκε 41 φορές με τη χρήση μίας μονάδας GeneXpert για συνολικά 20 υψηλά θετικά και 21 αρνητικά δείγματα. Και τα 20 υψηλά θετικά δείγματα αναφέρθηκαν σωστά ως ΘΕΤΙΚΑ ΓΙΑ ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 (ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 POSITIVE), ενώ και τα 21 αρνητικά δείγματα αναφέρθηκαν σωστά ως ΑΡΝΗΤΙΚΑ ΓΙΑ ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 (ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 NEGATIVE).

19.4 Αναπαραγωγιμότητα και ακρίβεια προσδιορισμού

Η αναπαραγωγιμότητα του Xpert Breast Cancer STRAT4 αξιολογήθηκε με τη χρήση μιας ομάδας πέντε δειγμάτων υλικού λύσης.

Προετοιμάστηκαν τρία μέλη της ομάδας με την προσθήκη *in vitro* μεταγραφήματος (IVT) RNA σε ρυθμιστικό διάλυμα λύσης FFPE ενοφθαλμισμένου με ~2 dCts των τιμών αποκοπής (cut-off) dCt για ESR1 (1 IVT RNA), PGR (2 IVT RNA) και ERBB2 (3 IVT RNA) και με τιμές CYFIP1 Ct ~2-3 Ct από το επίπεδο ελάχιστης εισαγωγής προσδιορισμού.

Δύο μέλη της ομάδας (4 κλινικά δείγματα FFPE και 5 κλινικά δείγματα FFPE) δημιουργήθηκαν από ομαδοποιημένα δείγματα FFPE σε ρυθμιστικό διάλυμα λύσης FFPE για τη δημιουργία τιμών CYFIP1 Ct κοντά στην ελάχιστη εισαγωγή προσδιορισμού και με τιμές cut-off dCt για όλους τους στόχους σε όλο το αναφερόμενο εύρος και στον βαθμό που είναι δυνατών κοντά στις τιμές αποκοπής dCt.

Δύο χειριστές σε καθένα από τα τρία κέντρα της μελέτης εξέτασαν δύο ομάδες πέντε δειγμάτων ανά ημέρα για έξι ημέρες εξέτασης (πέντε δείγματα x έξι ημέρες x δύο χειριστές x δύο επαναληπτικά δείγματα x τρία κέντρα). Εξετάστηκαν συνολικά 72 επαναληπτικά δείγματα. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις παρτίδες φυσιγγών Xpert Breast Cancer STRAT4 σε καθένα από τα τρία κέντρα εξέτασης. Η εξέταση Xpert Breast Cancer STRAT4 πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη διαδικασία αυτών των οδηγιών χρήσης.

Η αναπαραγωγιμότητα του Xpert Breast Cancer STRAT4 αξιολογήθηκε με όρους dCt για καθέναν από τους τέσσερις στόχους κάθε ομάδας. Η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση (SD) και ο συντελεστής διακύμανσης (CV) μεταξύ κέντρων, μεταξύ παρτίδων, μεταξύ ημερών, μεταξύ χειριστών και εντός προσδιορισμών για κάθε μέλος της ομάδας παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5. Σύνοψη δεδομένων αναπαραγωγιμότητας

Δείγμα	Κανάλι προσδιορισμού (Αναλυόμενη ουσία)	N ^a	Μέση dCt	Μεταξύ κέντρων		Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ ημερών		Μεταξύ χειριστών		Εντός του προσδιορισμού		Σύνολο	
				Διακ.	CV (%)	Διακ.	CV (%)	Διακ.	CV (%)	Διακ.	CV (%)	Διακ.	CV (%)	Διακ.	CV (%)
1-IVT RNA	ESR1	72	0,20	0,00	0,00	0,03	29,30	0,00	0,00	0,00	1,80	0,07	68,90	0,11	0,33
	PGR	72	-0,03	0,00	0,00	0,01	14,70	0,00	2,30	0,00	0,00	0,06	83,00	0,07	0,26
	ERBB2	72	-2,42	0,00	0,00	0,04	27,90	0,02	11,40	0,00	2,60	0,08	58,10	0,13	0,36
	MKi67	70	-2,55	0,00	0,00	0,32	62,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	37,90	0,52	0,72
2-IVT RNA	ESR1	72	-1,03	0,00	1,60	0,01	9,20	0,01	5,50	0,00	0,00	0,10	83,70	0,12	0,35
	PGR	72	-1,26	0,00	0,00	0,01	12,20	0,00	0,00	0,01	10,70	0,04	77,10	0,05	0,23
	ERBB2	72	-3,49	0,01	4,80	0,03	31,60	0,00	0,00	0,00	0,40	0,07	63,20	0,11	0,33
	MKi67	72	-3,53	0,00	0,00	0,08	49,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	51,00	0,16	0,40

Δείγμα	Κανάλι προσδιορισμού (Αναλυόμενη ουσία)	N ^a	Μέση dCt	Μεταξύ κέντρων		Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ ημερών		Μεταξύ χειριστών		Εντός του προσδιορισμού		Σύνολο	
				Διακ.	CV (%)	Διακ.	CV (%)	Διακ.	CV (%)	Διακ.	CV (%)	Διακ.	CV (%)	Διακ.	CV (%)
3-IVT RNA	ESR1	72	3,64	0,00	0,00	0,01	8,40	0,01	16,50	0,00	0,00	0,06	75,10	0,08	0,29
	PGR	72	3,34	0,00	3,40	0,00	0,00	0,01	9,70	0,00	5,40	0,05	81,50	0,06	0,25
	ERBB2	72	0,91	0,02	20,60	0,01	10,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	69,10	0,08	0,28
	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-Κλινικό δείγμα 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-Κλινικό δείγμα 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 Αποτελέσματα με έγκυρες τιμές δέλτα Ct από τις 72

20 Βιβλιογραφία

1. American Cancer Society, Cancer Facts and Figures 2015. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2015.
2. International Agency for Research on Cancer (IARC) and World Health Organization (WHO). GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012 <http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/breast-new.asp>.
3. American Cancer Society, Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, Atlanta, GA: American Cancer Society, 2013.
4. Rose C, Thorpe SM, Lober J, Deenfeldt J, Palshof T, Mouridsen HT. Therapeutic effect of tamoxifen related to estrogen receptor level. *Recent Results Cancer Res* 1980; 71:134-41.
5. Stierer M, Rosen H, Weber R, Hanak H, Spona J, Tuchler H. Immunohistochemical and biochemical measurement of estrogen and progesterone receptors in primary breast cancer. Correlation of histopathology and prognostic factors. *Ann Surg* 1993; 218:13-21.
6. Sunderland MC, Osborne CK. Tamoxifen in premenopausal patients with metastatic breast cancer: a review. *J Clin Oncol* 1991;9:1283-1297.
7. Fisher KB, Redmond KC, Brown A, Wickerham DL, Wolmark N, Allegra J, Escher G, Lippman M, Savlov E, Wittliff J. Influence of tumor estrogen and progesterone receptor levels on the response to tamoxifen and chemotherapy in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 1983;1:227-241.
8. Press MF, Slamon DJ, Flom KJ, Park J, Zhou JY, Bernstein L. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and overexpression; comparison of frequently used assay methods in a molecularly characterized cohort of breast cancer specimens. *J Clin Oncol* 2002;20:3095-3105.
9. Kontzoglou K, Palla V, Karaolani G, Karaiskos I, Alexiou I, Pateras I, Konstantoudakis K, Stamatakos M. Correlation between Ki67 and breast cancer prognosis. *Oncology*. 2013;84:219-225.
10. Fasching PA, Heusinger K, Haerberle L, Niklos M, Hein A, Bayer CM, Rauh C, Schulz-Wendtland R, Bani MR, Schrauder M, Kahmann L, Lux MP, Strehl JD, Hartmann A, Dimmler A, Beckmann MW, Wachter DL. Ki67, chemotherapy response, and prognosis in breast cancer patients receiving neoadjuvant treatment. *BMC Cancer*. 2011 Nov 14; 11:486. doi: 10.1186/1471-2407-11-486.
11. Stuart-Harris R, Caldas C, Pinder SE, Pharoah P. Proliferation markers and survival in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. *Breast*. 2008 Aug;17(4):323-34.
12. de Matos LL, Truffelli 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. ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 1272/2008 ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 16ης Δεκεμβρίου 2008 για την ταξινόμηση, την επισήμανση και τη συσκευασία των ουσιών και των μειγμάτων, την τροποποίηση και την κατάργηση του καταλόγου των δηλώσεων προφύλαξης, των οδηγιών 67/548/ΕΟΚ και 1999/45/ΕΚ (τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 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 Θέσεις κεντρικών γραφείων της Cephoid

Κεντρικά γραφεία της εταιρείας

Cephoid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Αρ. τηλεφώνου: + 1 408 541 4191
Αρ. φαξ: + 1 408 541 4192
www.cephoid.com

Κεντρικά γραφεία της Ευρώπης

Cephoid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Αρ. τηλεφώνου: + 33 563 825 300
Αρ. φαξ: + 33 563 825 301
www.cephoidinternational.com

22 Τεχνική βοήθεια

Προτού επικοινωνήσετε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Cephoid, συλλέξτε τις παρακάτω πληροφορίες:

- Όνομα προϊόντος
- Αριθμός παρτίδας
- Αριθμός σειράς του αναλυτή
- Μηνύματα σφαλμάτων (εάν υπάρχουν)
- Έκδοση λογισμικού και, εάν είναι διαθέσιμο, αριθμός ετικέτας σέρβις του υπολογιστή

Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής




Αρ. τηλεφώνου: + 1 888 838 3222
Email: techsupport@cephoid.com









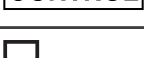



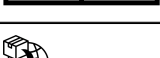

Γαλλία

Αρ. τηλεφώνου: + 33 563 825 319
Email: support@cephoideurope.com

Πληροφορίες επικοινωνίας για όλα τα γραφεία τεχνικής υποστήριξης της Cephoid διατίθενται στην ιστοσελίδα μας: www.cephoid.com/en/support/contact-us

23 Πίνακας συμβόλων

Σύμβολο	Σημασία
	Αριθμός καταλόγου
	<i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Σήμανση CE – Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση

Σύμβολο	Σημασία
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα
	Μην επαναχρησιμοποιείτε
	Κωδικός παρτίδας
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Προσοχή
	Κατασκευαστής
	Χώρα κατασκευής
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για n εξετάσεις
	Μάρτυρας
	Ημερομηνία λήξης
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Βιολογικοί κίνδυνοι
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ελβετία
	Εισαγωγέας



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 Ιστορικό αναθεωρήσεων

Ενότητα	Περιγραφή της αλλαγής
Πίνακας συμβόλων	Προσθήκη των συμβόλων CH REP και του εισαγωγέα και περιγραφών στον πίνακα συμβόλων. Προσθήκη πληροφοριών CH REP και εισαγωγέα με διεύθυνση Ελβετίας.
Ιστορικό αναθεωρήσεων	Ενημέρωση πίνακα Ιστορικού αναθεωρήσεων.