

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4

REF GXBCSTRAT4-CE-10

Instrucțiuni de utilizare

IVD CE

Declarații privind mărci comerciale, brevete și drepturi de autor

Cepheid[®], sigla Cepheid, GeneXpert[®] și Xpert[®] sunt mărci comerciale ale Cepheid, înregistrate în SUA și în alte țări.

Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi.

ACHIZIȚIA ACESTUI PRODUS TRANSMITE CUMPĂRĂTORULUI DREPTUL NETRANSFERABIL DE A-L UTILIZA ÎN CONFORMITATE CU ACESTE INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE. NICIUN FEL DE ALTE DREPTURI NU SUNT TRANSMISE ÎN MOD EXPRES, ÎN MOD IMPLICIT SAU PRIN ÎMPIEDICAREA INTENTĂRII UNEI ACȚIUNI. MAI MULT, NICIUN DREPT DE REVÂNZARE NU SE CONFERĂ ÎMPREUNĂ CU ACHIZIȚIA ACESTUI PRODUS.

© 2017-2023 Cepheid.

Consultați Istoricul revizuirilor, pentru o descriere a modificărilor.

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4

Dispozitiv medical de diagnosticare *in vitro*

1 Denumire brevetată

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4

2 Denumire comună sau obișnuită

Xpert Breast CA STRAT4

Xpert BC STRAT4

3 Utilizare preconizată

Testul Xpert Breast Cancer STRAT4 este un test semi-cantitativ bazat pe reacția în lanț a polimerazei cu valori limită calitative pentru receptorul de estrogen (*ESR1*), receptorul de progesteron (*PGR*), receptorul factorului de creștere epidermică umană 2 (*ERBB2/HER2*), și markerul de proliferare Ki-67 (*MKi67*) izolat ARNm din țesut din cancer mamar invaziv fixat în formalină și încorporat în parafină (FFPE). ARN este extras dintr-o zonă îmbogățită cu tumoră dintr-o secțiune microscopică de țesut, așa cum este identificată de un patolog. Testul trebuie utilizat în asociere cu alte date clinice sau de laborator pentru a clasifica țesuturile cu cancer mamar în funcție de starea receptorului hormonal, starea receptorului HER2 și starea markerului de proliferare. Testul este destinat utilizării cu sistemul GeneXpert[®], care include izolarea ARN din țesutul FFPE, precum și amplificarea și detectarea secvențelor țintă din cartuș.

Testul Xpert Breast Cancer STRAT4 nu este conceput drept:

- Predictor al severității bolii
- Dispozitiv independent pentru testarea de diagnosticare a cancerului mamar
- Prognostic pentru recidiva bolii

Indicații de utilizare: Testul este conceput pentru a fi utilizat la evaluarea nivelurilor ARNm de *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* și *MKi67* în țesut de cancer mamar invaziv obținut de la pacienți și pregătit sub formă de specimene FFPE, precum și ca ajutor la evaluarea clinică în asociere cu alte date de laborator.

4 Rezumat și explicații

Cancerul mamar este unul dintre cele mai frecvente tipuri de cancer la femeile din întreaga lume, cu aproximativ 1,7 milioane de cazuri noi de cancer mamar în fiecare an.¹ În Europa, aproximativ 494.000 de noi cazuri sunt diagnosticate în fiecare an și 143.000 de pacienți mor de pe urma acestei boli. În SUA, aproximativ 200.000 de noi cazuri de cancer mamar invaziv au fost diagnosticate în 2015.² Cancerul de sân este cea mai frecventă cauză de mortalitate din cauza cancerului în rândul femeilor din țările în curs de dezvoltare și cea de-a doua cea mai frecventă cauză de mortalitate din cauza cancerului (după cancerul pulmonar) în rândul femeilor din țările dezvoltate.²

La femei, cancerul mamar este cancerul cel mai frecvent diagnosticat și principala cauză de deces din cauză de cancer.¹ Mortalitatea din cauza cancerului de sân a scăzut cu 34 de procente începând cu anul 1990, în mare parte datorită tratamentului îmbunătățit și detectării precoce.³ Măsurarea expresiei proteice ER și PR reprezintă un prognostic bun pentru rezultatele cancerului mamar și prezic răspunsul la tamoxifen și alte terapii hormonale.^{4,5,6,7} Expresia în exces a HER2 transmite un prognostic advers la femeile cu cancer mamar; dar, cel mai important aspect, răspunsul la trastuzumab sau alte terapii țintite pe HER2 sunt prevăzute de expresia în exces a proteinei HER2 (*ERBB2*) sau de amplificarea genei HER2.⁸ Markerul de proliferare Ki-67 (*MKi67*) a fost studiat pe larg în studii retrospective care implicau pacienți cu cancer mamar⁹ și este considerat un indicator important al necesității chimioterapiei.¹⁰ Meta-analizele au demonstrat că este asociat cu

cele mai slabe rezultate privind supraviețuirea la cancerul mamar incipient.¹¹ Dată fiind importanța acestor markeri în selectarea unui regim de tratament eficient pentru un pacient cu cancer mamar, liniile directoare pentru tratament furnizate de Societatea Europeană de Oncologie Medicală (ESMO) recomandă ca toate carcinoamele de sân primare să fie testate pentru ER, PR, HER2 (ERBB2) și Ki67 la momentul diagnosticării.¹²

Imunohistochimia (IHC) este folosită frecvent pentru măsurarea expresiei proteice ER, PR, HER2 și Ki67. Pentru expresia HER2, de regulă IHC este primul test efectuat, iar rezultatele sunt raportate pe o scară de la 0 la 3+. Dacă rezultatul este echivoc pentru expresia HER2 (2+), proba este confirmată într-o HER2 în testul de hibridizare in situ (ISH), cum ar fi hibridizarea in situ cu fluorescență (FISH) sau hibridizarea cromogenică in situ (CISH) care caută amplificarea genei HER2.¹³ Pentru IHC și ISH s-a demonstrat un grad mare de variabilitate în ceea ce privește rezultatele atunci când s-au comparat între laboratoare, în mare parte din cauza diferențelor legate de anticorpii folosiți pentru IHC, precum și a subiectivității metodelor de interpretare.¹⁴

Testul Xpert Breast Cancer STRAT4 este un test de diagnosticare in vitro folosit pentru a determina nivelurile de expresie ARNm pentru *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* și *MKi67* izolate din specimene FFPE din țesut de cancer mamar invaziv.

Analiza este efectuată într-un cartuș autonom, urmând un pas scurt de pregătire a lizatului probei în afara analizorului, care necesită mai puțin de 15 minute de timp de lucru cu un timp total de procesare mai scurt de 2 ore.

5 Principiul procedurii

Testul Xpert Breast Cancer STRAT4 este o analiză în timp real cu în lanț cu transcripție inversă (PCR) pentru detectarea ARNm-urilor *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* și *MKi67* izolate din țesut mamar invaziv fixat în formalină și încorporat în parafină (FFPE). Analiza este efectuată pe sistemele instrumentului Cepheid GeneXpert. Sistemele instrumentului GeneXpert automatizează și integrează purificarea probelor, amplificarea acidului nucleic și detectarea secvenței țintă din probele simple sau complexe utilizând RT-PCR în timp real. Sistemul constă dintr-un instrument, un scanner de coduri de bare, un computer și software preîncărcat pentru execuția testelor și vizualizarea rezultatelor. Sistemele utilizează cartușe de unică folosință GeneXpert consumabile, care conțin reactivi RT-PCR și găzduiesc procesele RT-PCR. Pentru o descriere completă a sistemului, consultați manualul de utilizare a sistemului instrumentului GeneXpert.

Testul Xpert Breast Cancer STRAT4 include reactivi pentru detectarea simultană a *ESR1*, *PGR*, *ERBB2*, *MKi67*, o proteină care interacționează cu gena de referință *FMR1* citoplasmatică 1 (*CYFIP1*), un control RT-PCR intern (*CIC*) și un control de verificare a sondei (*PCC*). Gena de referință verifică caracterul de adecvare al specimenului și este utilizată pentru a normaliza nivelurile de expresie ARNm pentru *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* și *MKi67*. Controlul RT-PCR intern (*CIC*) este utilizat pentru a verifica dacă reacția RT-PCR s-a desfășurat corect. *PCC* verifică rehidratarea picăturii de reactiv, umplerea eprubetei RT-PCR, integritatea sondei și stabilitatea colorantului din cartuș. În total, testul utilizează șase canale fluorescente diferite pentru detectarea țintei sau controlului/referinței cu proprii parametri de limitare pentru valabilitatea țintei/controlului/referinței.

Probele de FFPE trebuie mai întâi tratate cu trusa de liză FFPE Xpert® pregătind o secțiune de țesut groasă de 4-5 μm (microni) în care țesutul FFPE este mai întâi macro-diseecat, dacă este necesar, pentru îmbogățirea zonei tumorii invazive, apoi răzuit și introdus într-o eprubetă împreună cu volumele recomandate de reactiv de liză FFPE și K proteinază. Soluția este apoi incubată într-un bloc de căldură la 80 °C timp de 30 de minute. Apoi, etanolul este combinat cu proba și volumul recomandat de lizat al probei pregătite este adăugat apoi direct într-un cartuș de testare. Cartușul de testare este introdus într-un modul al unui sistem instrument GeneXpert, în care purificarea acidului nucleic, amplificarea și detectarea în timp real sunt complet automatizate și complet integrate de către sistem. Toți reactivii necesari pentru pregătirea directă a probei și analiza RT-PCR sunt preîncărcați în cartuș. Acizii nucleici din lizat sunt capturați într-un filtru, spălați și eluați prin sonicare. Acidul nucleic purificat este combinat cu reactivii RT-PCR uscați, iar soluția este transferată în eprubeta de reacție pentru RT-PCR și detectare. Timpul până la obținerea rezultatului este de aproximativ 75 minute în GeneXpert.

Limitările de detectare pe care le utilizează testul Xpert Breast Cancer STRAT4 în fiecare canal fluorescent au fost stabilite pentru a crește la maximum acordul de procente pozitive, negative și generale comparativ cu rezultatele IHC sau IHC/FISH de laborator de referință pentru fiecare țintă. IHC pentru ER, PR, Ki67 și HER2, precum și FISH pentru HER2 au fost prelucrate și marcate conform instrucțiunilor din instrucțiunile de utilizare. Interpretarea rezultatelor au fost comparate conform liniilor directoare ASCO/CAP 2013.¹⁵ Tumorile au fost clasificate drept ER sau PR IHC pozitive când ≥1% din celulele tumorii invazive au prezentat colorație nucleară definită, indiferent de intensitatea colorației. Expresia HER2 a fost evaluată folosindu-se trusa HercepTest (IHC) (Dako) și marcată drept 0, 1+, 2+ sau 3+. Tumorile marcate drept 2+ au fost confirmate cu HER2 FISH folosind testul de sonde ADN PathVysion HER2 (Vysis-Abbott, Chicago, IL). Cazurile au fost HER2-pozitiv dacă au fost marcate drept 3+ de IHC și/sau amplificate de FISH (definit drept HER2:CEP17 (raport ≥ 2,0), și/sau număr de copii medii HER2 ≥ 6,0 semnale/celulă conform liniei directoare pentru practici clinice 2013 ASCO/CAP actualizate pentru testarea HER2 în cancerul mamar.¹⁵ Pentru Ki67, tumorile au fost clasificate drept (puternic) pozitive atunci când ≥ 20% din celulele tumorii invazive au prezentat colorație nucleară definită, indiferent de intensitatea colorației.

În cazul controlului pentru gena de referință și controlului RT-PCR intern, limitele de detectare definesc intervalul valorilor PCR cu prag de ciclu (Ct) minim și maxim care determină un rezultat valid, un aport de probă minim adecvat și nicio inhibare PCR. În cazul țintelor ESR1, PGR, ERBB2 și MKi67, limitele de detectare sunt definite de valorile pragului de ciclu delta (dCt) (Ct al genei de referință minus Ct al genei țintă) care determină rezultatele POZITIV (POSITIVE) vs. NEGATIV (NEGATIVE) pentru o anumită țintă dintr-un canal.

6 Reactivi și instrumente

6.1 Materiale furnizate

Trusa Xpert Breast Cancer STRAT4 conține suficienți reactivi pentru procesarea a 10 probe de control sau lizat FFPE pregătite cu trusa Xpert FFPE Lysis Kit (număr de catalog GXFFPE-LYSIS-CE-10). Trusa Xpert Breast Cancer STRAT4 conține următoarele elemente:

Cartușe Xpert Breast Cancer STRAT4 cu eprubete de reacție integrate	10
<ul style="list-style-type: none"> • Picăturile 1, 2 și 3 (liofilizate) • Reactiv de clătire, • Reactiv de eluare, 	<ul style="list-style-type: none"> 1 per cartuș 1,0 ml per cartuș 2,0 ml per cartuș
CD	1 per trusă
<ul style="list-style-type: none"> • Fișier de definiție a analizei (ADF) • Instrucțiuni de utilizare • Fișierele raportului ONCore 	

Notă Fișele cu date de securitate (FDS) sunt disponibile la www.cepheid.com sau www.cepheidinternational.com în fila **ASISTENȚĂ (SUPPORT)**.

Notă Albumina serică bovină (BSA) din picăturile din cadrul acestui produs a fost produsă și fabricată exclusiv din plasma bovină provenită din Statele Unite. Nicio proteină de la animale rumegătoare sau proteină de la alt animal nu a fost oferită ca hrană animalelor; animalele au trecut testarea ante- și post-mortem. În timpul procesării, nu s-a combinat materialul cu alte materiale de origine animală.

7 Depozitare și manipulare

- Depozitați conținutul trusei Xpert Breast Cancer STRAT4 la 2 - 28 °C.
- Nu deschideți capacul cartușului până când nu sunteți gata să efectuați testul.
- Utilizați cartușul în decurs de 30 de minute după deschiderea capacului.
- Nu utilizați un cartuș care s-a scurs.

8 Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

- Trusa de liză FFPE Xpert (număr de catalog GXFFPE-LYSIS-CE-10) pentru pregătirea lizatului FFPE. Această trusă constă din reactiv pentru liză FFPE, proteinază K (PK), eprubete de 1,5 ml și flacoane de 5 ml.
- Mixer centrifugațional.
- Pipete și pipete de filtrare a aerosolului compatibile cu pipeta de 600 ul, 1,2 μl și 520 μl.
- Computer cu software proprietar GeneXpert versiunea 4.7b sau ulterioară sau Xpertise versiunea 6.4b sau ulterioară, scanner de coduri de bare și manual de utilizare corespunzător pentru sistemul instrumentului GeneXpert.
- Imprimantă: Dacă este necesară o imprimantă, contactați Asistența tehnică Cepheid pentru a lua măsuri pentru achiziționarea unei imprimante recomandate.

9 Avertizări și măsuri de precauție

- Utilizare numai pentru diagnosticare *in vitro*.
- Toate probele biologice trebuie tratate ca și cum ar putea transmite agenți infecțioși. Toate probele umane trebuie tratate cu măsuri de precauție standard. Liniile directoare privind manipularea probelor sunt disponibile de la Organizația Mondială a Sănătății sau Centrele SUA pentru Controlul și Prevenirea Bolilor.
- Urmați procedurile de siguranță ale instituției dumneavoastră pentru lucrul cu substanțe chimice și pentru manipularea probelor biologice.
- Caracteristicile de performanță ale acestui test au fost stabilite cu tipul de specimene prezentat în Secțiunea 3. Performanța acestei analize cu alte tipuri de specimene sau probe nu a fost evaluată.
- Țesutul FFPE trebuie procesat cu trusa de liză FFPE Xpert (număr de catalog GXFFPE-LYSIS-CE-10).
- Îndepărtarea incompletă (răzuirea) a suprafeței tumorale de pe lamă pentru pregătirea lizatului FFPE poate genera un volum incomplet de material pentru analiză și, prin urmare, la o rată mai mare decât cea prevăzută de rezultate nedeterminate/nevalide la folosirea testului Xpert Breast Cancer STRAT4.
- Deschideți capacul cartușului Xpert Breast Cancer STRAT4 doar atunci când adăugați lizatul FFPE preparat.
- Nu utilizați un cartuș care a fost scăpat după ce l-ați scos din ambalaj.
- Nu agitați cartușul. Agitarea sau scăparea cartușului după deschiderea capacului cartușului poate produce rezultate nevalide.
- Nu utilizați un cartuș care are o eprubetă de reacție deteriorată.
- Fiecare cartuș de unică folosință al testului Xpert Breast Cancer STRAT4 este utilizat pentru a procesa un test. Nu reutilizați cartușele utilizate.
- Nu utilizați un cartuș dacă acesta pare ud sau dacă sigiliul capacului pare să fi fost rupt.
- Nu puneți eticheta cu ID-ul probei pe capacul cartușului sau peste eticheta cu codul de bare.
- Se recomandă urmarea unor bune practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipularea speciimenelor pacienților pentru a evita contaminarea speciimenelor sau a reactivilor.
- Consultați personalul instituției dumneavoastră responsabil cu eliminarea la deșeuri pentru eliminarea corespunzătoare a cartușelor utilizate și a reactivilor neutilizați. Consultați reglementările de stat, regionale sau locale, deoarece acestea pot diferi de reglementările naționale privind eliminarea. Acest material poate prezenta caracteristici specifice deșeurilor periculoase care necesită măsuri de eliminare specifică. Instituțiile trebuie să consulte cerințele de eliminare a deșeurilor periculoase.

10 Pericole chimice^{16,17}

Conform Sistemului global armonizat de clasificare și etichetare (GHS), acest material nu este considerat periculos.

11 Colectarea, transportul și depozitarea speciimenelor

- Utilizați doar speciimene FFPE procesate cu trusa Xpert FFPE Lysis Kit (număr de catalog GXFFPE-LYSIS-CE-10). Respectați liniile directoare ASCO/CAP¹⁵ pentru pregătirea țesutului FFPE.
- Lizat pentru FFPE trebuie pregătit din blocul tumoral FFPE cu cea mai mare suprafață de carcinom mamar viabil (celularitate tumorală de minim 30%) și trebuie efectuată macro-disecția manuală, dacă este cazul, înainte de testarea cu testul Xpert Breast Cancer STRAT4. Pentru probele de tumoră mai mici de 10 mm² cu tumoră mai puțin de 30%, utilizați procedura de lizat concentrat sau poate fi necesară mai mult de o secțiune de 4-5 μm pentru a se obține rezultate valide.
- Lizatul FFPE trebuie transportat la laborator la 2 - 8 °C.
- Lizatul FFPE este stabil până la o săptămână la 2 - 8 °C sau 4 săptămâni la ≤ -20 °C înainte de testarea cu Xpert Breast Cancer STRAT4. Pentru perioade de depozitare pe termen lung, păstrați la -80 °C. Nu se recomandă mai mult de 1 ciclu de congelare-dezghetare. La dezghetare, lăsați să se dezghețe la temperatura camerei și centrifugați lizatul timp de 15 secunde înainte de utilizare.

12 Procedură

Important

Utilizarea cartușului Xpert Breast Cancer STRAT4 necesită pregătirea unui lizat folosind trusa de liză FFPE Xpert (număr de catalog GXFFPE-LYSIS-CE-10).

Important Începeți testul în decurs de 30 de minute de la adăugarea probei pregătite la cartuș.

12.1 Pregătirea lizatului FFPE

Pregătiți lizatul FFPE conform instrucțiunilor de utilizare din trusa lizatului FFPE.

12.2 Pregătirea cartușului

1. Scoateți cartușul din ambalajul de carton.
2. Centrifugați lizatul FFPE pregătit timp de 15 secunde înainte de utilizare.
3. Deschideți capacul cartușului.
4. Folosind o pipetă, transferați 520 µl de lizat FFPE în camera pentru probe a cartușului. (Notă: poate fi prezentă o cantitate mică de precipitat, care nu afectează performanța testului).

Păstrați lizatul FFPE rămas la 2–8 °C sau ≤–20 °C pentru retestare.



Figura 1. Cartuș Xpert Breast Cancer STRAT4 (vedere de sus)

5. Închideți capacul cartușului. Asigurați-vă de fixarea fermă a capacului în poziție.

12.3 Începerea testului

Important Înainte de începerea testului, asigurați-vă că Fișierul de detectare a analizei (ADF) Xpert Breast Cancer STRAT4 este importat în software.

Această secțiune listează pașii implicați pentru a utiliza sistemul GeneXpert. Pentru instrucțiuni detaliate, consultați *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Dx* sau *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Infinity*, în funcție de instrumentul care este utilizat.

Notă Pașii de urmat pot fi diferiți în cazul în care administratorul sistemului a modificat fluxul de lucru implicit al sistemului.

1. Porniți instrumentul GeneXpert:
 - Dacă de utilizează instrumentul GeneXpert Dx, porniți mai întâi instrumentul GeneXpert Dx și apoi porniți computerul. Software-ul GeneXpert Dx se va lansa automat sau poate fi necesar să faceți dublu clic pe pictograma software-ului GeneXpert Dx de pe desktopul Windows®.
 - sau
 - Dacă se utilizează instrumentul GeneXpert Infinity, porniți instrumentul. Software-ul Xpertise se va lansa automat sau poate fi necesar să faceți dublu clic pe pictograma software-ului Xpertise de pe desktopul Windows.
2. Conectați-vă la software-ul sistemului instrumentului GeneXpert utilizând numele de utilizator și parola dumneavoastră. În fereastra sistemului GeneXpert Dx, faceți clic pe **Creare test (Create Test)** (GeneXpert Dx) sau faceți clic pe **Comenzi (Orders)** și **Comandă test (Order Test)** (Infinity). Se deschide fereastra Creare test (Create Test).

3. Scanați sau tastați ID-ul probei. Dacă tastați ID-ul probei, asigurați-vă că ID-ul probei este tastat corect. ID-ul probei este asociat cu rezultatele testului și este afișat în fereastra Vizualizare rezultate (View Results) și în toate rapoartele. Apare caseta de dialog Scanare cartuș (Scan Cartridge).
4. Scanați codul de bare de pe cartușul Xpert Breast Cancer STRAT4. Apare fereastra Creare test (Create Test). Utilizând informațiile despre codul de bare, software-ul umple automat casetele pentru următoarele câmpuri: Selectare analiză (Select Assay), ID lot reactiv (Reagent Lot ID), Nr. serie cartuș (Cartridge SN).
5. Faceți clic pe **Începere test (Start Test)** (GeneXpert Dx) sau **Trimitere (Submit)** (Infinity). Introduceți parola dumneavoastră, dacă vi se solicită.
6. Pentru instrumentul GeneXpert Dx:
 - a) Deschideți ușa modulului instrumentului cu indicatorul luminos verde care luminează intermitent și încărcați cartușul.
 - b) Închideți ușa. Testul începe și indicatorul luminos verde încetează să lumineze intermitent. Atunci când testul este finalizat, indicatorul luminos se stinge.
 - c) Așteptați până când sistemul eliberează dispozitivul de blocare a ușii înainte de a deschide ușa modulului. Îndepărtați cartușul.
 - d) Eliminați la deșeurii cartușele utilizate în recipientele corespunzătoare pentru deșeurii de specimene, în conformitate cu practicile standard ale instituției dumneavoastră. Consultați Secțiunea 9.

sau

Pentru sistemul GeneXpert Infinity, așezați cartușul pe banda transportoare. Cartușul va fi încărcat automat, testul va fi executat și cartușul utilizat va fi introdus în recipientul pentru deșeurii.

13 Vizualizarea și tipărirea rezultatelor

Această secțiune enumeră pașii de bază pentru vizualizarea și tipărirea rezultatelor. Pentru instrucțiuni mai detaliate privind modul de vizualizare și de tipărire a rezultatelor, consultați *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Dx* sau *Manualul de utilizare al sistemului GeneXpert Infinity*, în funcție de instrumentul care este utilizat.

1. Faceți clic pe pictograma **Vizualizare rezultate** pentru a vizualiza rezultatele.
2. La finalizarea testului, faceți clic pe **butonul** Raport (Report) de pe ecranul Vizualizare rezultate (View Results) pentru a vizualiza și/sau pentru a genera un fișier de raport PDF.

Notă

Dacă utilizați software-ul ONCore pentru a genera un raport, consultați ghidul de utilizare al software-ului GeneXpert ONCore de pe CD-ul cu ghidul de utilizare ONCore pentru a vedea instrucțiunile referitoare la generarea unui raport. Consultați și instrucțiunile privind raportul ONCore de pe CD-ul Xpert Breast Cancer STRAT4 pentru instrucțiuni referitoare la modul de interpretare a raportului ONCore pentru testul Xpert Breast Cancer STRAT4.

14 Controlul calității

Fiecare test conține un control al genei de referință (*CYFIP1*) și un control de verificare a sondei (PCC).

- **Controlul *CYFIP1***: Această genă de referință este utilizată pentru a normaliza nivelurile de expresie pentru *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* și *MKi67*. De asemenea, servește drept control pentru stabilirea caracterului adecvat al probei (SAC), asigurându-se că proba conține suficient ARN. Pentru un rezultat de test valid este necesar un semnal *CYFIP1* minim. Un semnal *CYFIP1* sub cantitatea minimă sau un semnal negativ indică faptul că sonda nu conține suficient ARN.
- **Substituent *CYFIP1***: Aceasta este un control *CYFIP1* duplicat utilizat în algoritmul atunci când pragul de ciclu delta (dCt) pentru *PGR* sau *MKi67* este sub setarea de limitare a testului. Pentru aceste ținte este necesar un semnal al substituentului *CYFIP1* minim pentru a se asigura un rezultat al testului valid.
- **Controlul verificării sondei (PCC)**: Înainte de începerea PCR, sistemul de instrumente GeneXpert măsoară semnalul de fluorescență de la sonde pentru a monitoriza rehidratarea picăturii, umplerea eprubetei de reacție, integritatea sondei și stabilitatea colorantului. PCC reușește dacă îndeplinește criteriile de acceptare validate.
- **Controale externe (nu sunt furnizate)**: Controalele externe trebuie utilizate în conformitate cu cerințele organizațiilor de acreditare locale, de stat și federale, după caz.

15 Interpretarea rezultatelor

Rezultatele sunt interpretate automat de sistemul de instrumente GeneXpert din semnale fluorescente măsurate și algoritmi de calcul încorporați și sunt afișate în mod clar în fereastra Vizualizare rezultate (View Results) de pe filele Rezultatele testului (Test Results) și Rezultatul analitului (Analyte Result). Rezultatele testului (Test Results) și Rezultatul analitului (Analyte Result) sunt afișate și în Raportul testului (Test Report). Rezultatele posibile sunt prezentate în Tabelul 1 și Tabelul 2.

Tabelul 1. Toate rezultatele posibile pentru testul Xpert Breast Cancer STRAT4

Rezultat afișat	CYFIP1	Substituent CYFIP1	CIC
<i>ESR1</i> POZITIV (<i>ESR1</i> POSITIVE)	REUȘITĂ (PASS)	POZ (POS) sau NEG (NEG)	POZ (POS) sau NEG (NEG)
<i>ESR1</i> NEGATIV (<i>ESR1</i> NEGATIVE)	REUȘITĂ (PASS)	POZ (POS) sau NEG (NEG)	POZ (POS) sau NEG (NEG)
<i>PGR</i> POZITIV (<i>PGR</i> POSITIVE)	REUȘITĂ (PASS)	POZ (POS) sau NEG (NEG)	POZ (POS) sau NEG (NEG)
<i>PGR</i> NEGATIV (<i>PGR</i> NEGATIVE)	REUȘITĂ (PASS)	POZ	POZ (POS) sau NEG (NEG)
<i>ERBB2</i> POZITIV (<i>ERBB2</i> POSITIVE)	REUȘITĂ (PASS)	POZ (POS) sau NEG (NEG)	POZ (POS) sau NEG (NEG)
<i>ERBB2</i> NEGATIV (<i>ERBB2</i> NEGATIVE)	REUȘITĂ (PASS)	POZ (POS) sau NEG (NEG)	POZ (POS) sau NEG (NEG)
<i>MKi67</i> POZITIV (<i>MKi67</i> POSITIVE)	REUȘITĂ (PASS)	POZ (POS) sau NEG (NEG)	POZ (POS) sau NEG (NEG)
<i>MKi67</i> NEGATIV (<i>MKi67</i> NEGATIVE)	REUȘITĂ (PASS)	POZ	POZ (POS) sau NEG (NEG)
<i>PGR</i> INDETERMINAT (<i>PGR</i> INDETERMINATE)	REUȘITĂ (PASS)	NEG	POZ (POS) sau NEG (NEG)
<i>MKi67</i> INDETERMINAT (<i>MKi67</i> INDETERMINATE)	REUȘITĂ (PASS)	NEG	POZ (POS) sau NEG (NEG)
REPETARE TEST (REPEAT TEST)	REUȘITĂ (PASS)	POZ (POS) sau NEG (NEG)	NEG
NEVALID (INVALID)	NEREUȘITĂ (FAIL)	NEG	POZ (POS) sau NEG (NEG)
EROARE (ERROR)	FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)	FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)	FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)
FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)	FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)	FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)	FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)

Tabelul 2. Rezultatele reprezentative Xpert Breast Cancer STRAT4 și interpretare

Rezultat	Interpretare
<p>ESR1 POZITIV (ESR1 POSITIVE)</p> <p>Consultați Figura 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Transcriptul ARNm <i>ESR1</i> este exprimat în exces și are un prag al ciclului delta (dCt) peste setarea de limită. • <i>CYFIP1</i> – REUȘITĂ (PASS); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
<p>PGR POZITIV (PGR POSITIVE)</p> <p>Consultați Figura 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Transcriptul ARNm <i>PGR</i> este exprimat în exces și are un prag al ciclului delta (dCt) peste setarea de limită. • <i>CYFIP1</i> – REUȘITĂ (PASS); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
<p>ERBB2 POZITIV (ERBB2 POSITIVE)</p> <p>Consultați Figura 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Transcriptul ARNm <i>ERBB2</i> este exprimat în exces și are un prag al ciclului delta (dCt) peste setarea de limită. • <i>CYFIP1</i> – REUȘITĂ (PASS); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
<p>MKi67POZITIV (MKi67 POSITIVE)</p> <p>Consultați Figura 2.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Transcriptul ARNm <i>MKi67</i> este exprimat în exces și are un prag al ciclului delta (dCt) peste setarea de limită. • <i>CYFIP1</i> – REUȘITĂ (PASS); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
<p>ESR1 NEGATIV (ESR NEGATIVE)</p> <p>Consultați Figura 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Transcriptul ARNm <i>ESR1</i> nu este exprimat în exces și are un prag al ciclului delta (dCt) sub setarea de limită. • <i>CYFIP1</i> – REUȘITĂ (PASS); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
<p>PGR NEGATIV (PGR NEGATIVE)</p> <p>Consultați Figura 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Transcriptul ARNm <i>PGR</i> nu este exprimat în exces și are un prag al ciclului delta (dCt) sub setarea de limită. • <i>CYFIP1</i> – REUȘITĂ (PASS); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Substituent <i>CYFIP1</i> – POZ (POS); <i>CYFIP1</i> are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.

Rezultat	Interpretare
<p>ERBB2 NEGATIV (ERBB2 NEGATIVE)</p> <p>Consultați Figura 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Transcriptul ARNm <i>ERBB2</i> nu este exprimat în exces și are un prag al ciclului delta (dCt) sub setarea de limită. • <i>CYFIP1</i> – REUȘITĂ (PASS); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
<p>MKi67 NEGATIV (MKi67 NEGATIVE)</p> <p>Consultați Figura 3.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Transcriptul ARNm <i>MKi67</i> nu este exprimat în exces și are un prag al ciclului delta (dCt) sub setarea de limită. • <i>CYFIP1</i> – REUȘITĂ (PASS); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Substituent <i>CYFIP1</i> – POZ (POS); <i>CYFIP1</i> are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
<p>PGR indeterminat (PGR Indeterminate)</p> <p>Consultați Figura 4.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Nivelul expresiei ARNm <i>PGR</i> nu poate fi determinat din cauza faptului că proba nu conține suficient material. Repetați testul utilizând un lizat mai concentrat. • <i>CYFIP1</i> – REUȘITĂ (PASS); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Substituent <i>CYFIP1</i> – NEG; pragul de ciclu (Ct) <i>CYFIP1</i> nu s-a încadrat în intervalul valabil sau punctul final a fost sub setarea pragului necesar pentru determinarea stării PGR. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
<p>MKi67 indeterminat (MKi67 Indeterminate)</p> <p>Consultați Figura 4.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Nivelul expresiei ARNm <i>MKi67</i> nu poate fi determinat din cauza faptului că proba nu conține suficient material. Repetați testul utilizând un lizat mai concentrat. • <i>CYFIP1</i> – REUȘITĂ (PASS); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Substituent <i>CYFIP1</i> – NEG; pragul de ciclu (Ct) <i>CYFIP1</i> nu s-a încadrat în intervalul valabil sau punctul final a fost sub setarea pragului necesar pentru determinarea stării MKi67. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
<p>REPETARE TEST (REPEAT TEST)</p> <p>Consultați Figura 5.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Nivelurile expresiei ARNm <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> nu pot fi determinate. Repetați testul folosind un alicot al lizatului probei FFPE păstrate. • <i>CYFIP1</i> – REUȘITĂ (PASS); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat și are un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • Substituent <i>CYFIP1</i> – POZ/NEG (POS/NEG); transcriptul ARNm <i>CYFIP1</i> a fost detectat. Transcriptul poate sau nu să fi avut un prag de ciclu (Ct) în intervalul valabil și un punct final peste setarea pragului. • CIC – NEG; controlul intern are un prag de ciclu (Ct) în afara intervalului valabil. • Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.

Rezultat	Interpretare
NEVALID (INVALID)	<ul style="list-style-type: none"> ● NEVALID (INVALID) – nivelurile expresiei <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> nu pot fi determinate din cauza faptului că proba nu conține suficient material. Repetați testul utilizând un lizat mai concentrat. ● <i>CYFIP1</i> – NEREUȘITĂ (FAIL); pragul de ciclu (Ct) <i>CYFIP1</i> nu s-a încadrat în intervalul valabil sau punctul final a fost sub setarea pragului. ● Substituent <i>CYFIP1</i> – NEG; pragul de ciclu (Ct) <i>CYFIP1</i> nu s-a încadrat în intervalul valabil sau punctul final a fost sub setarea pragului. ● Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS); toate rezultatele verificării sondei au reușit.
EROARE (ERROR)	<ul style="list-style-type: none"> ● Nivelurile expresiei ARNm <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> nu pot fi determinate. Repetați testul folosind un alicot al lizatului probei FFPE păstrate. ● <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) ● Substituent <i>CYFIP1/CYFIP1</i> – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) ● Verificarea sondei – REUȘITĂ (PASS)*/NEREUȘITĂ (FAIL); toate sau unul dintre rezultatele verificării sondei au/a eșuat. <p style="margin-left: 20px;">* Dacă verificarea sondei a reușit, eroarea a fost cauzată de limita maximă de presiune care depășește intervalul acceptabil, o eroare la potrivirea curbei sau de defecțiunea unei componente a sistemului.</p>
FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)	<ul style="list-style-type: none"> ● Nivelurile expresiei ARNm <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> nu pot fi determinate. Au fost colectate date insuficiente pentru a genera un rezultat al testului. De exemplu, acest lucru se poate întâmpla dacă operatorul a oprit un test care era în desfășurare. Repetați testul folosind lizatul probei FFPE păstrate. ● <i>ESR1/PGR/ERBB2/MKi67</i> – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) ● Substituent <i>CYFIP1/CYFIP1</i> – FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT) ● Verificarea sondei – NA (nu este cazul) (NA (not applicable))

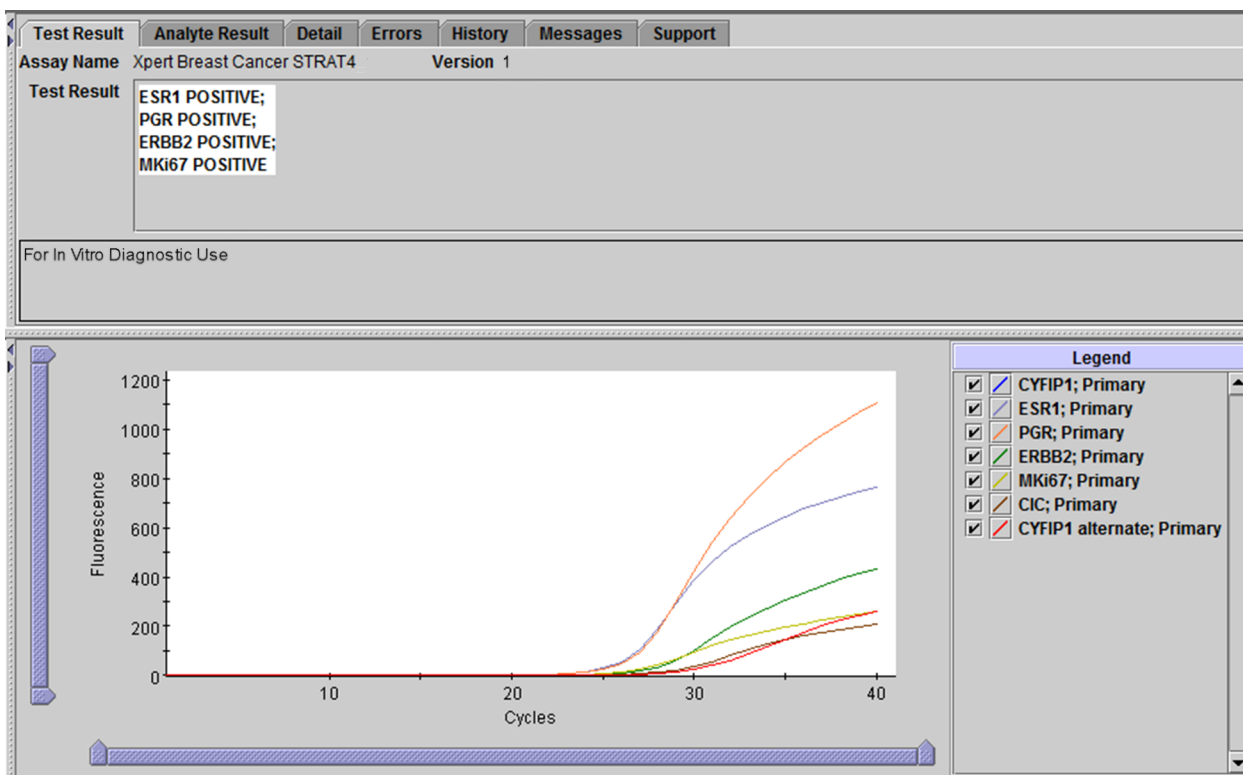


Figura 2. Fereastra rezultatelor pentru vizualizarea GeneXpert Dx: ESR1/PGR/ERBB2/MKI67 POZITIV (POSITIVE)

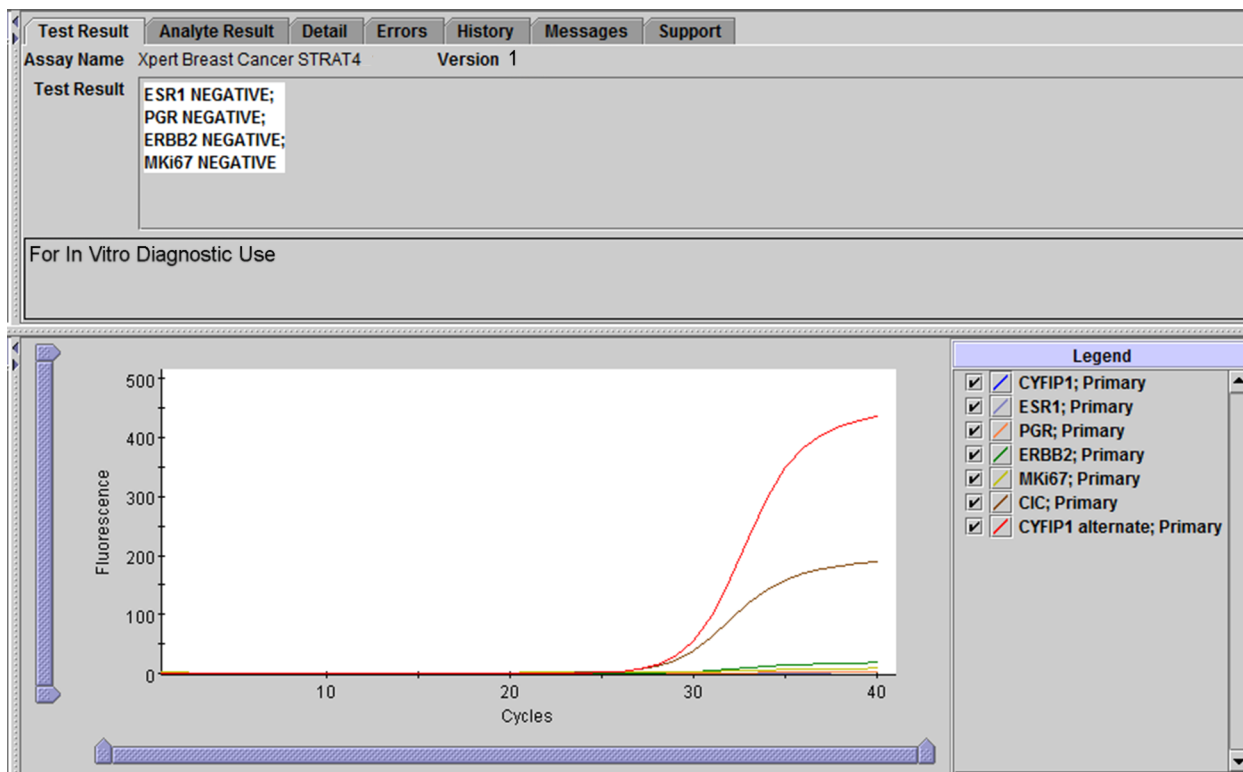


Figura 3. Fereastra rezultatelor pentru vizualizarea GeneXpert Dx: ESR1/PGR/ERBB2/MKI67 NEGATIV (NEGATIVE)

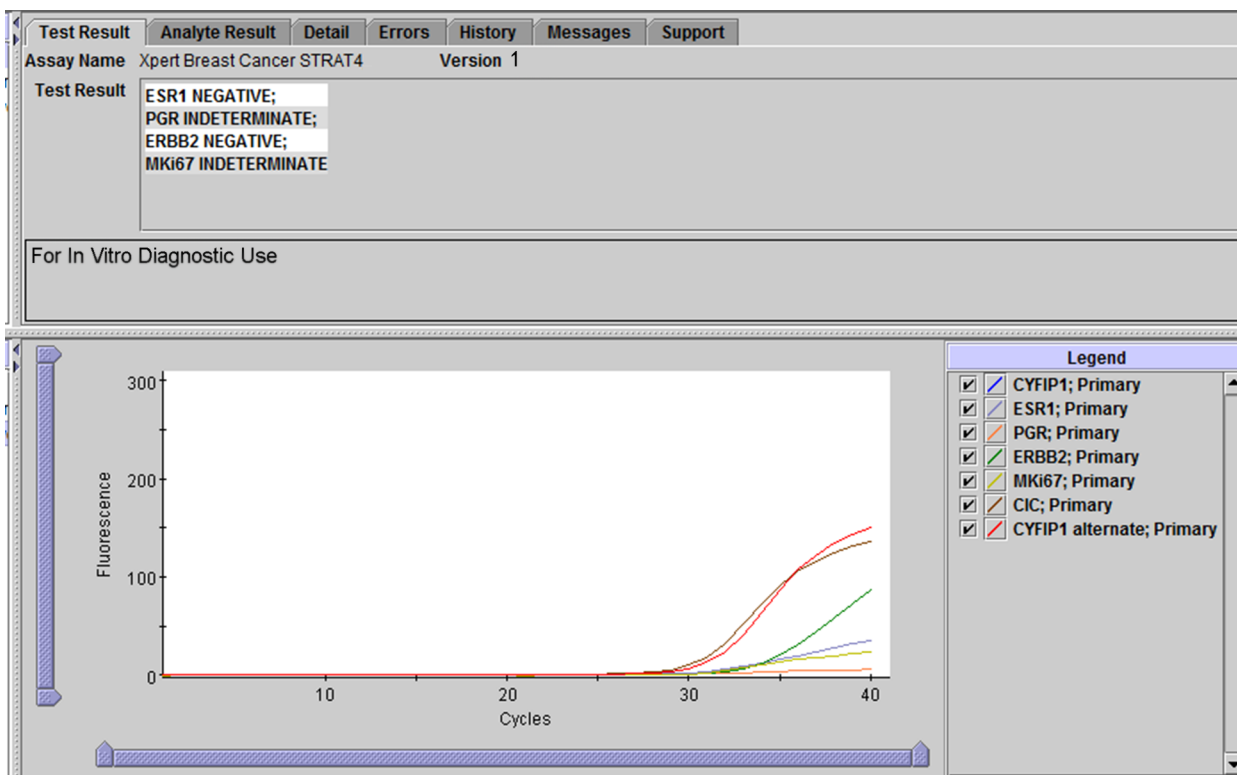


Figura 4. Fereastra rezultatelor pentru vizualizarea GeneXpert
Dx: PGR/MKi67 INDETERMINAT (INDETERMINATE)

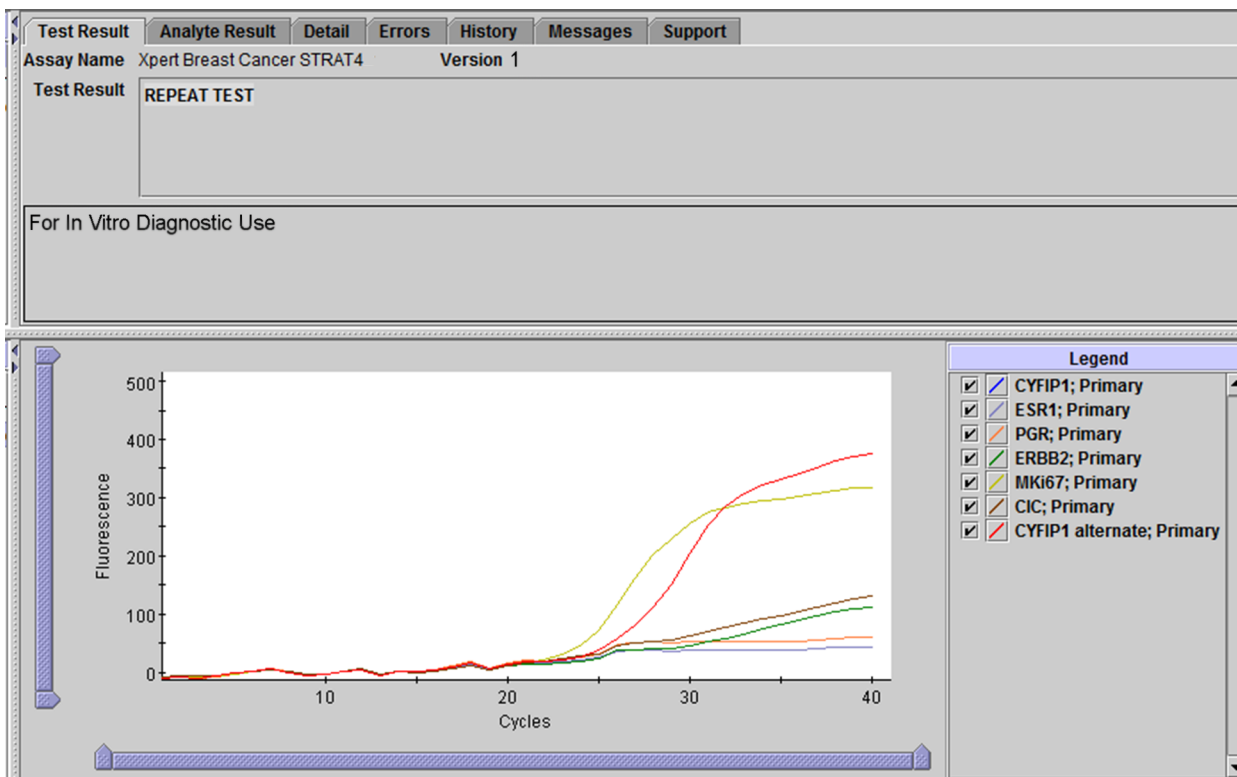


Figura 5. Fereastra rezultatelor pentru vizualizarea GeneXpert Dx: REPETARE TEST (REPEAT TEST)

16 Motive pentru repetarea testului

Repetăți testul folosind un cartuș nou (nu reutilizați cartușul).

- Un rezultat **REPETARE TEST (REPEAT TEST)** indică faptul că acest control intern a eșuat. Proba nu a fost procesată corespunzător. În acest caz, repetați restul folosind un nou alicot de 520 µl din același lizat FFPE.
- Un rezultat **NEVALID (INVALID)** indică faptul că controlul de referință a eșuat. Proba nu a fost procesată corespunzător, PCR a fost inhibat sau calitatea ARN din tumora evaluată a fost inadecvată. În acest caz, repetați testul cu un lizat FFPE mai concentrat, conform instrucțiunilor din instrucțiunile de utilizare ale trusei pentru liză FFPE.
- Un rezultat **EROARE (ERROR)** indică faptul că controlul de verificare a sondei a eșuat, iar testul a fost anulat, posibil din cauza unei eprubete de reacție umplută incorect, s-a detectat o problemă de integritate a sondei cu reactiv, deoarece s-a depășit limita maximă de presiune sau s-a detectat o eroare de poziționare a valvei. În acest caz, repetați restul folosind un nou alicot de 520 µl din același lizat FFPE.
- Un mesaj **FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)** indică faptul că au fost colectate date insuficiente. De exemplu, operatorul a oprit un test care era în desfășurare sau a apărut o pană de curent. În acest caz, repetați restul folosind un nou alicot de 520 µl din același lizat FFPE.
- În cazul în care un control extern al calității nu reușește conform așteptărilor, repetați testul de control extern și/sau contactați Cepheid pentru asistență.

17 Limitări

- Modificările aduse acestor proceduri pot altera performanța testului. Rezultatele testului Xpert Breast Cancer STRAT4 trebuie interpretate împreună cu alte date de laborator și clinice disponibile clinicianului
- Performanța Xpert Breast Cancer STRAT4 a fost validată folosind procedurile furnizate în aceste instrucțiuni de utilizare și utilizând specimene FFPE care aveau între cinci și zece ani.
- Performanța Xpert Breast Cancer STRAT4 a fost validată utilizând numai procedurile furnizate în aceste instrucțiuni de utilizare.
- Rezultatele eronate ale testului pot apărea în urma recoltării, manipulării sau stocării sau amestecării incorecte a probei. Este necesară respectarea cu atenție a instrucțiunilor din aceste instrucțiuni de utilizare pentru a evita rezultatele eronate.
- Caracteristicile de performanță nu au fost stabilite la pacienții cu vârsta sub 25 de ani.
- Mutațiile sau polimorfismele în regiunile de legare ale amorsei sau probei pot duce la rezultate eronate dar credibile pentru *ESR1*, *PGR*, *ERBB2* și *MKi67*.

18 Caracteristici de performanță

18.1 Performanță clinică

Caracteristicile de performanță ale testului Xpert Breast Cancer STRAT4 au fost evaluate comparativ cu rezultatele IHC pentru ER, PR, HER2 și Ki67 și cu hibridizarea *in situ* cu fluorescență (FISH) pentru amplificarea genei HER2 în centrele din SUA și UE. Inițial au fost înrolate în acest studiu 211 specimene FFPE rămase anonimizate de tumori de cancer mamar invaziv primare din SUA și UE, 10 specimene au fost excluse deoarece tumora nu a fost suficientă pentru testare și un specimen a fost exclus din cauza consimțământului retras. Astfel, au fost disponibile 200 de specimene pentru includerea în analiza datelor. Pentru fiecare specimen FFPE au fost pregătite mai multe lamele pentru testarea cu Xpert; pentru testarea IHC a ER, PR, HER2 și Ki67; și pentru testarea FISH a amplificării genei HER2.

Per total, Xpert Breast Cancer STRAT4 a generat rezultate valide la prima încercare de testare pentru 99,5% (199/200) din speciamentele din studiu. O probă inițială care generează un rezultat nedeterminat (**EROARE (ERROR)**, **NEVALID (INVALID)** sau **FĂRĂ REZULTAT (NO RESULT)**) a oferit un rezultat al testului după o singură testare. Rata de succes globală a testului a fost de 100,0% (200/200).

Din cele 200 de specimene cu rezultate valide la testul Xpert, ESR1 și ERBB2 au generat un rezultat pozitiv sau negativ valid 100% din cazuri (200/200). Pentru PGR și MKi67, Xpert a generat un rezultat pozitiv sau negativ valid la test în 98,5% (197/200) și respectiv 97,0% (194/200) din cazuri. Cele 7 specimene cu rezultate Xpert nedeterminate pentru PGR și/sau MKi67 au fost retestate folosind metoda cu lizat FFPE concentrat. Atât rezultatele inițiale (prima încercare) cât și cele de la retestare sunt prezentate în Tabelul 3.

Pentru întregul set de date, inclusiv rezultatele retestării, Xpert Breast Cancer STRAT4 a demonstrat un acord procentual pozitiv (PPA) de 97,2%, un acord procentual negativ (NPA) de 95,0% și un acord procentual global (OPA) de 97,0% pentru ESR1 comparativ cu IHC;¹⁸ PPA de 88,4%, NPA de 90,7% și OPA de 88,9% pentru PGR comparativ cu IHC;¹⁸ PPA de

100,0%, NPA de 92,4% și OPA de 93,3% pentru ERBB2 comparativ cu IHC;¹⁹ și PPA de 100%, NPA de 92,0% și OPA de 93,3% pentru ERBB2 comparativ cu HER2 FISH.¹⁹ Pentru MKi67 un PPA de 88,8%, NPA de 100% și OPA de 90,7% cu pragul IHC setat la >20% pentru pozitiv și <10% pentru negativ. Specimenele intermediare IHC MKi67 (prag 10%-20%, inclusiv) au fost excluse din analiză. PPA, NPA și OPA generale pentru fiecare țintă sunt prezentate în Tabelul 3.

Tabelul 3. Performanță clinică

Comparație	Set de date ^a	Total (n) ^b	PPA	I ¹ 95%	NPA	I ¹ 95%	OPA	I ¹ 95%
ESR1/ER Xpert vs. IHC	Inițial	199	97,2% (174/179)	93,6-98,8	100% (20/20)	83,9-100	97,5% (194/199)	94,3-98,9
	Retestarea	199	97,2% (174/179)	93,6-98,8	95,0% (19/20)	76,4-99,1	97,0% (193/199)	93,6% (44/47)
PGR/PR Xpert vs. IHC	Inițial	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
	Retestarea	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 vs. IHC	Inițial	180	100% (22/22)	85,1-100	92,4% (146/158)	87,2-95,6	93,3% (168/180)	88,7-96,1
	Retestarea	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 vs. FISH	Inițial	178	100% (28/28)	87,9-100	92,0% (138/150)	86,5-95,4	93,3% (166/178)	88,6-96,1
	Retestarea	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 vs. IHC +FISH	Inițial	197	100% (27/27)	87,5-100	91,2% (155/170)	86,0-94,6	92,4% (182/197)	87,8-95,3
	Retestarea	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 vs. IHC	Inițial	148	88,7% (110/124)	81,9-93,2	100% (24/24)	86,2-100	90,5% (134/148)	84,7-94,3
	Retestarea	151	88,8% (111/125)	82,1-93,2	100% (26/26)	87,1-100	90,7% (137/151)	85,0-94,4

^a Inițial = 1x lizat conform instrucțiunilor din instrucțiunile de utilizare; Retestare = rezultatul retestării pe un lizat concentrat 4x în cazurile unde specimenul inițial (1x lizat) a generat un rezultat nedeterminat pentru PGR și/sau MKi67.

^b Specimenele cu rezultate Xpert nedeterminate sau indeterminate, specimenele cu rezultate IHC echivoce sau intermediare, specimenele cu IHC nereușit și FISH nereușit sunt excluse.

19 Performanță analitică

19.1 Sensibilitate analitică/aport minim pentru test

Aportul minim pentru test a fost determinat prin evaluarea CYFIP1 Ct maxim (gena de referință) care determină cu precizie aportul de probă necesar pentru o performanță corectă a testului. Acest aport de probă asigură faptul că se obțin rezultate valide la majoritatea probelor FFPE testate. Probele cu o valoare CYFIP1 Ct mai mare decât cea permisă vor genera un rezultat NEVALID (INVALID).

Sensibilitatea analitică/aportul minim pentru test pentru testul Xpert Breast Cancer STRAT4, definită ca CYFIP1 Ct maxim care determină $\geq 95\%$ din rezultatele valide, a fost stabilită utilizând diluții de lizat de probă clinică FFPE pentru a provoca CYFIP1 Ct. Pentru a evalua sensibilitatea CYFIP1 Ct, un lizat de probă clinică FFPE a fost diluat și testat în serie, cu N=20 replicate per nivel de diluție în 3 zile, până când $\leq 95\%$ din rezultatele testelor au fost valide. Nivelurile de diluție au inclus o probă la aportul minim preconizat pentru test, două niveluri sub acesta și două niveluri peste. Testarea a fost efectuată pe două loturi de cartușe Xpert Breast Cancer STRAT4.

Înainte de începerea studiului, limita testării martor a fost efectuată cu N=60 replicate folosind două loturi independente de cartușe Xpert Breast Cancer STRAT4. Limita probei martor a constat dintr-o secțiune cu parafină martor (fără probă de țesut) și toate rezultatele testelor au afișat rezultatele preconizate NEVALID (). Diluțiile seriale ale aportului de probă clinică de țesut FFPE la 1/1000 au generat CYFIP1 Ct-uri 20/20 valide cu Ct mediu = 33,4 și SD 0,6 din lotul 1 al testului

Xpert Breast Cancer STRAT4 și Ct mediu = 33,6 și SD 0,5 din lotul 2. Diluțiile următoare cu valorile Ct CYFIP1 ulterioare nu au îndeplinit rezultatele $\geq 95\%$ valide necesare pentru studiu. Tabelul 4 prezintă pe scurt numărul de efectuări de teste valide pentru fiecare nivel de aport de probă diluată serial drept diluție relativă sau ca Ct CYFIP1 mediu. Sensibilitatea analitică, folosind două loturi de cartușe de testare Xpert Breast Cancer STRAT4, a demonstrat cerințele privind aportul minim pentru test al Ct CYFIP1 = 33,4. Această valoare, combinată cu variabilitatea testului, ar permite ca limita superioară Ct CYFIP1 = 35 să fie setată pentru testul Xpert Breast Cancer STRAT4.

Tabelul 4. Aport minim pentru testare în Xpert Breast Cancer STRAT4

Lot de truse	Aport de probă (diluție relativă)	Ct CYFIP1 mediu	SD	N rulări valide (Ct \leq 35)
00801 (Lot 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	Nu este cazul	Nu este cazul	0/20
00903 (Lot 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	Nu este cazul	Nu este cazul	0/20

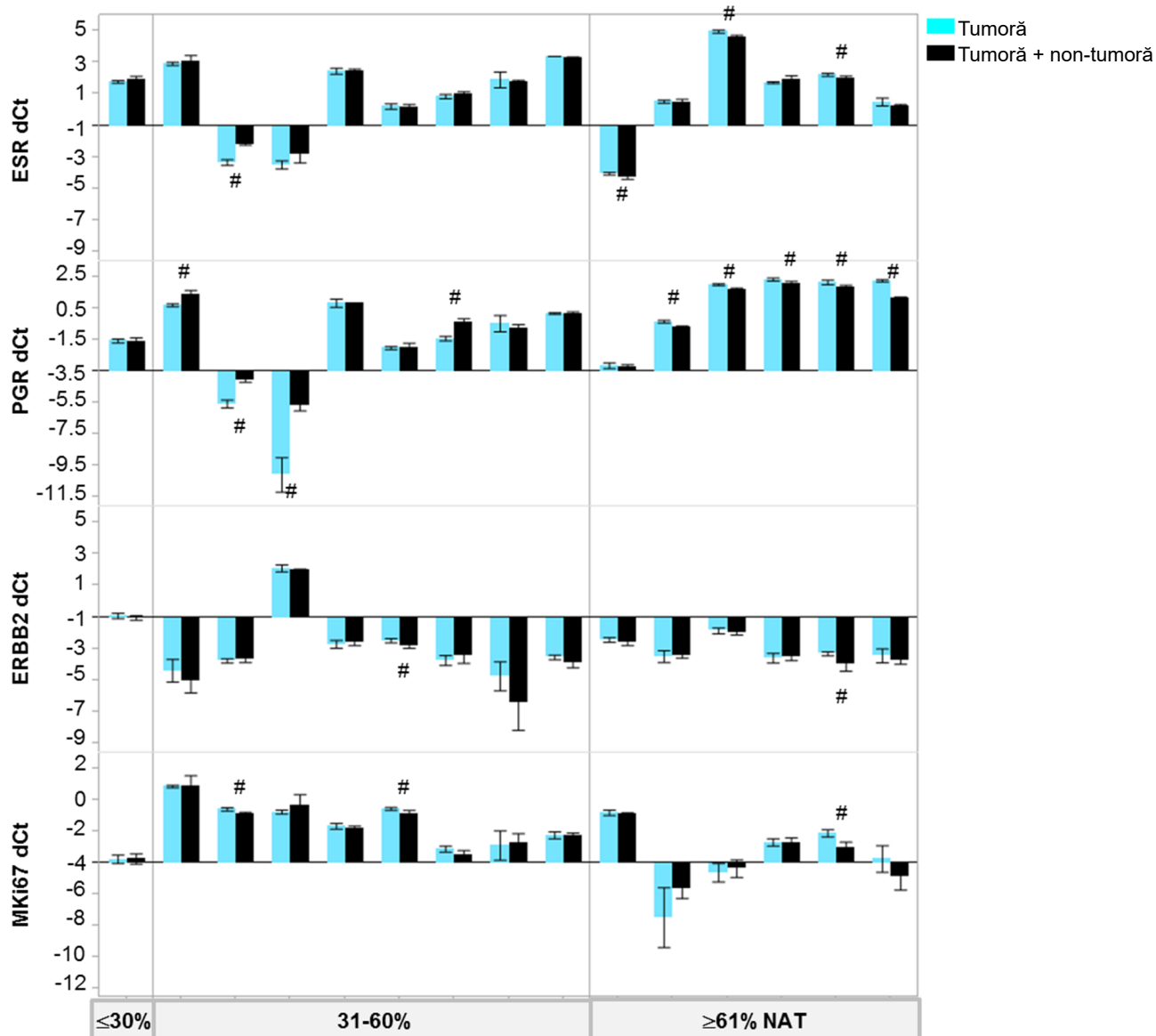
19.2 Testarea interferențelor

Țesut normal/netumoral adiacent

Țesuturile normale adiacente (netumorale) (NAT) sunt prezente de regulă în specișimenele de țesut de cancer mamar drept contaminată care pot interfera cu detectarea țintei specifice. Este posibil ca pentru testul Xpert Breast Cancer STRAT4 să fie necesară o verificare patologică a secțiunii FFPE a tumorii mamare macrodisecată pentru a reduce la minimum efectele contaminanților netumorali în cazurile aplicabile stabilite de un patolog. Pentru a evalua efectul țesuturilor normale/netumorale adiacente, cincisprezece (15) blocuri de țesut FFPE cu carcinom mamar invaziv, care conțin 21-98% NAT înconjurător au fost testate cu testul Xpert Breast Cancer STRAT4 cu și fără macrodisecție. Testarea Xpert Breast Cancer STRAT4 a fost efectuată cu N=4 replicare din același lizat pentru fiecare condiție. dCt-urile ESR1, PGR, ERBB2 și MKi67 pentru fiecare probă de țesut cu macrodisecție (graficul cu bare albastre) sau fără macrodisecție (graficul cu bare negre) au fost mai întâi evaluate cu One-Way ANOVA pentru a se determina interferența statistică a NAT. Interferențele semnificative clinic ale NAT au fost considerate prezente când ddCt (Ct delta-delta) dintre probele macro și non-macrodisecate a fost $>1,0$ și a existat o modificare la rezultatul testării. Rezultatele studiului sunt rezumate în Figura 6.

dCt-urile ESR1, PGR, ERBB2 și MKi67 pentru toate cele 15 probe au fost grupate în funcție de % NAT ($\leq 30\%$, 31-60% sau $\geq 61\%$). Graficele cu bară verticală albastră și neagră cu SD reprezintă dCt-urile țintă medii din N=4 replicare ale secțiunilor FFPE macro și non-macrodisecate ale unui bloc de cancer mamar invaziv FFPE. Toate cele 15 blocuri FFPE (N=1 sub 30% NAT, N=8 cu 31-60% NAT și N=6 peste 60% NAT) au prezentat fie nicio importanță statistică a interferențelor țesutului adiacent normal/netumoral pe baza analizelor One-Way ANOVA cu valoare $p \geq 0,05$; fie nicio importanță clinică (marcată cu #) dacă variația valorilor delta Ct de la fiecare țintă dintre probele macrodisecate și non-macrodisecate a fost $\leq 1,0$ sau când rezultatele testului țintă (pozitive, negative) au rămas neafectate.

Figura 6. Interferența țesutului adiacent normal/netumoral cu dCt-urile Xpert Breast Cancer STRAT4 Target dCts



Țesut DCIS, necrotic, hemoragic

Pentru a se evalua efectul carcinomului ductal in situ (DCIS), țesuturi necrotice și hemoragice, un număr total de 9 probe de tumoră mamară FFPE (3 blocuri de tumoră mamară FFPE care conțin 3-61% DCIS, 3 blocuri FFPE care conțin 10-65% țesut necrotic și 3 blocuri FFPE care conțin 15-41% țesut hemoragic) au fost testate cu testul Xpert Breast Cancer STRAT4 cu și fără macrodisecție. Testul Xpert Breast Cancer STRAT4 a fost efectuat cu N=4 determinări duplicat din același lizat pentru fiecare condiție. S-a constatat că toate condițiile de testare au avut fie niciun impact statistic fie niciun impact semnificativ clinic din partea diferitelor contaminări cu țesuturi DCIS, necrotic și hemoragic, folosind testul Xpert Breast Cancer STRAT4 (nu se prezintă datele grafice).

ADN genomic uman (hgDNA)

Testul Xpert Breast Cancer STRAT4 utilizează amorse extrem de specifice și sonde pentru a hibridiza eficient cu modelele ARNm ESR1, PGR, ERBB2 și MKI67 ținută dintr-o gamă de acizi nucleici genomici (ADN genomic uman = hgDNA). Pentru a evalua efectul hgDNA asupra testului Xpert Breast Cancer STRAT4, au fost macrodisecate 10 blocuri de tumori mamare FFPE cu diferit conținut de celule carcinoase ductale invazive și au fost testate cu și fără adăugarea de 25 ng de

hgDNA la lizatul de probă FFPE folosind testul Xpert Breast Cancer STRAT4 la N=4 replicate din același lizat pentru fiecare condiție. S-a constatat că toate condițiile de testare au avut fie niciun impact statistic fie niciun impact semnificativ clinic din partea interferenței hgDNA (nu se prezintă datele grafice).

19.3 Transferare contaminare

Un studiu a fost efectuat pentru a demonstra că cartușele GeneXpert de unică folosință autonome reduc la minimum contaminarea prin transfer de la probele puternic pozitive la probele negative următoare, rulate în același modul GeneXpert. Studiul a constat dintr-o probă negativă, procesată în același modul GeneXpert, urmând imediat după o probă ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 puternic pozitivă. Proba negativă a constat din ARN cu transcriere *in vitro* (IVT) care conține transcript CYFIP1 în 5×10^4 copii pentru a se asigura prezența unei gene de referință țintă. Proba puternic pozitivă a constat din ARN IVT care conține transcript CYFIP1 în 5×10^5 copii și ARN IVT care conține transcripturi ESR1, PGR, ERBB2 și MKi67 în 5×10^6 copii, pregătite ca lizat FFPE. Schema de testare a fost repetată de 41 de ori folosind un modul GeneXpert individual, pentru un număr total de 20 de probe puternic pozitive și 21 negative. Toate cele 20 de probe puternic pozitive au fost raportate corect drept ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 POZITIVE și toate cele 21 de probe negative au fost raportate corect drept ESR1/PGR/ERBB2/MKi67 NEGATIVE.

19.4 Reproducibilitatea și precizia testului

Reproducibilitatea Xpert Breast Cancer STRAT4 a fost evaluată folosindu-se un panou de cinci probe de specimen lizate.

Trei panouri au fost pregătite adăugându-se ARN de transcriere *in vitro* (IVT) în soluție tampon lizată FFPE îmbogățită în ~2dCt-uri din limitele dCt pentru ESR1 (ARN IVT 1), PGR (ARN IVT 2) și ERBB2 (ARN IVT 3), având valori Ct CYFIP1 ~2-3 Ct-uri de la nivelul aportului minim pentru test.

Două panouri (Proba clinică FFPE 4 și Proba clinică FFPE 5) au fost create din probe clinice FFPE combinate în soluție tampon FFPE lizată pentru a genera valorile Ct CYFIP1 apropiate de aportul minim pentru test și a avea valorile limită dCt pentru toate țintele din intervalul raportabil și, dacă este posibil, aproape de limitele dCt ale testului.

Doi operatori din fiecare cele trei centre de studiu au testat două panouri a câte cinci probe pe zi, timp de șase zile de testare (cinci probe x șase zile x doi operatori x două replicate x trei centre). În total au fost testate 72 de replicate pentru fiecare probă. S-au folosit trei loturi de cartușe Xpert Breast Cancer STRAT4 la fiecare din cele trei centre de testare. Testul Xpert Breast Cancer STRAT4 a fost efectuat în conformitate cu procedura prezentată în instrucțiunile de utilizare.

Reproducibilitatea Xpert Breast Cancer STRAT4 a fost evaluată în ceea ce privește dCt pentru fiecare dintre cele patru ținte pentru fiecare panou. Media, abaterea standard (SD) și coeficientul de variație (CV) între centre, între loturi, între zile, între operatori și în cadrul aceleiași analize pentru fiecare membru al grupului sunt prezentate în Tabelul 5.

Tabelul 5. Rezumatul datelor de reproducibilitate

Probă	Canal analiză (analit)	N ^a	dCt mediu	Între centre		Între loturi		Între zile		Între operatori		În cadrul aceleiași analize		Total	
				Var	CV (%)	Var	CV (%)	Var	CV (%)	Var	CV (%)	Var	CV (%)	Var	CV (%)
1-ARN IVT	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-ARN IVT	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-ARN IVT	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

Probă	Canal analiză (analit)	N ^a	dCt mediu	Între centre		Între loturi		Între zile		Între operatori		În cadrul aceleiași analize		Total	
				Var	CV (%)	Var	CV (%)	Var	CV (%)	Var	CV (%)	Var	CV (%)	Var	CV (%)
4- Probă clinică 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- Probă clinică 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 Rezultate cu valori Ct delta valide din 72

20 Referințe

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, Tuschler 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, Karaolanis 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):323-3.4.
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. REGULAMENTUL (CE) NR. 1272/2008 AL PARLAMENTULUI EUROPEAN ȘI AL CONSILIULUI din 16 decembrie 2008 privind clasificarea, etichetarea și ambalarea substanțelor și a amestecurilor, de modificare și de abrogare a Directivelor 67/548/CEE și 1999/45/CE (precum și de modificare a Regulamentului (CE) nr. 1907/2006).
17. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
18. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, Fitzgibbons PL, Francis G, Goldstein NS, Hayes M, Hicks DG, Lester S, Love R, Mangu PB, McShane L, Miller K, Osborne CK, Paik S, Perlmutter J, Rhodes A, Sasano H, Schwartz JN, Sweep FC, Taube S, Torlakovic EE, Valenstein P, Viale G, Visscher D, Wheeler T, Williams RB, Wittliff JL, Wolff AC., American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2010 (134).
19. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF; American Society of Clinical Oncology; College of American Pathologists. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2014 (138), 241-256.

21 Locațiile sediului central al Cepheid

Sediul central

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sediul din Europa

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

22 Asistență tehnică

Înainte de a contacta Asistența tehnică Cepheid, colectați următoarele informații:

- Denumire produs
- Număr lot
- Număr de serie al instrumentului
- Mesaj de eroare (dacă există)
- Versiunea software și, dacă este cazul, numărul etichetei serviciului computerizat

Statele Unite




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









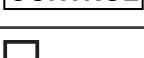



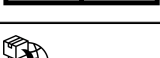

Franța

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

Informațiile de contact pentru toate birourile de Asistență tehnică Cepheid sunt disponibile pe site-ul nostru web:
www.cepheid.com/en/support/contact-us

23 Tabel de simboluri

Simbol	Semnificație
	Număr de catalog
	Dispozitiv medical de diagnosticare <i>in vitro</i>
	Marcaj CE – Conformitate europeană

Simbol	Semnificație
	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană
	A nu se reutiliza
	Cod lot
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	Atenționare
	Producător
	Țara de fabricație
	Conține suficient pentru n teste
	Control
	Data expirării
	Limită de temperatură
	Riscuri biologice
	Reprezentant autorizat în Elveția
	Importator



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 Istoricul revizuirilor

Secțiunea	Descrierea modificării
Tabel de simboluri	S-au adăugat simbolurile CH REP și importator, precum și definițiile în tabelul cu simboluri. S-au adăugat informațiile pentru CH REP și importator cu adresa din Elveția.
Istoricul revizuirilor	S-a actualizat tabelul Istoricul revizuirilor.