

EndoPredict[®]

EndoPredict[®] Report Generator C€



Myriad GmbH
Bunsenstrasse 7
82152 Martinsried
GERMANY
+49 (0) 89 414 14 24 20
www.myriadgenetics.eu
info@myriadgenetics.eu



 Sividon Diagnostics GmbH
Nattermannallee 1
50829 Köln
GERMANY
+ 49 (0) 221 669 561 00
www.sividon.com

EndoPredict® Report Generator

Versão V3.1

Manual de instruções

EndoPredict® Report Generator é um produto para diagnóstico *in vitro*.

EndoPredict é uma marca da Sividon Diagnostics.
VERSANT é uma marca da Siemens Healthcare Diagnostics.
Platinum é uma marca da Life Technologies.
SuperScript é uma marca da Life Technologies.



Sividon Diagnostics GmbH
Nattermannallee 1
D-50829 Colónia
GERMANY

Distribuidor

Myriad Genetics Espana SLU
Calle Caléndula 93. Miniparc III, Edificio K, PB
28109 El Soto de la Moraleja (Alcobendas)
Espana
info@myriadgenetics.pt

As informações constantes do presente manual estavam corretas aquando da impressão. Contudo, a Sividon melhora continuamente os seus produtos e reserva-se o direito de alterar especificações, dispositivos e procedimentos de manutenção a qualquer altura sem aviso prévio.

© 2014 Sividon Diagnostics GmbH. Todos os direitos reservados.

Índice

1. Abreviaturas e convenções.....	4
2. Operação.....	5
3. Indicação da finalidade	5
4. Aplicação do EndoPredict® Report Generator	6
4.1. Disponibilização dos dados de medição	6
4.2. Iniciar a aplicação Web.....	7
4.3. Carregar um ficheiro de texto	8
4.4. Introdução de informações relevantes dos lotes	9
4.5. Introdução de informações dos doentes.....	10
4.6. Criação do relatório	12
5. O relatório EndoPredict®	12
5.1. Cabeçalho do relatório	13
5.2. As características do tumor.....	13
5.3. O risco segundo o EPclin	14
5.4. Avaliação do relatório.....	15
5.5. EPclin com um tamanho do tumor ou estado nodal desconhecido.....	15
5.6. Visão geral do controlo de qualidade do software.....	17
5.7. Síntese do controlo de qualidade	17
5.8. Valores Ct no esquema da placa	17
5.9. Controlos.....	18
5.10. Valores Delta Ct.....	20
5.11. Lotes	21
5.12. Resultado dos testes.....	22
5.13. Mensagens.....	22
6. Lista das mensagens.....	23
7. Versões publicadas	30

Tradução a partir da língua alemã

1. Abreviaturas e convenções

A.....	Amostra A, primeira amostra na placa de PCR
B	Amostra B, segunda amostra na placa de PCR
Ct	ing.: cycle threshold, ciclo de PCR, no qual é alcançado o limiar de fluorescência (normalizado, interpolado)
Valores Delta Ct.....	Nível de expressão relativa de um gene normalizado para a média dos três genes de referência (CALM2, OAZ1 e RPL37A)
EP	EndoPredict®
EPclin.....	Classificação preditiva, que é calculada a partir do EndoPredict® Score, do tamanho do tumor e do número de gânglios linfáticos positivos
EPRG	EndoPredict® Report Generator
EV-SSL.....	ing.: extended validation secure sockets layer; tecnologia de codificação, que garante uma ligação autêntica e segura na Internet
kPCR	PCR cinética; sinónimo de qPCR
LCL.....	ing.: lower control limit, limite de controlo inferior
NEG.....	Controlo negativo
PCR	ing.: polymerase chain reaction, reação de polimerização em cadeia
Ficheiro PDF.....	Ficheiro com a extensão .pdf, que contém o relatório EP
POS	Controlo positivo
qPCR	PCR quantitativa
SS III RT/Platinum Taq Mix ...	SuperScript® III Platinum® One-Step Quantitative RT-PCR System Custom
Ficheiro de texto	Ficheiro com a extensão .txt, que contém os valores Ct e foi gerado através do software VERSANT
UCL	ing.: upper control limit, limite de controlo superior
Software VERSANT.....	Software de dispositivo do VERSANT® kPCR Molecular System da Siemens Healthcare Diagnostics

No texto que se segue, são utilizadas as seguintes convenções:

<i>itálico</i>	Referências bibliográficas
negrito	Indicações apresentadas na interface gráfica do utilizador (menus, botões, separadores...)
<i>negrito itálico</i>	Comandos de teclado
<code>Courier</code>	Palavras-chave em ficheiros ou nomes de ficheiros
"Citações"	Blocos de texto do relatório EP

2. Operação

A aplicação Web "EndoPredict® Report Generator" (EPRG) calcula, com base em valores de medição da expressão de diferentes genes, o EndoPredict® Score (EP). A partir deste e de informações sobre o tamanho do tumor e o número de gânglios linfáticos positivos, é adicionalmente determinado o EPclin Score. O cálculo é realizado de acordo com a publicação

Filipits et al: A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive, HER2 negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. Clinical Cancer Research, 2011.

Além disso, o EPRG oferece uma análise de diferentes parâmetros de qualidade dos valores de medição subjacentes e controlos adicionais. Como resultado dos cálculos, é gerado um relatório na forma de um ficheiro PDF, que pode ser guardado e impresso pelo utilizador.

O EndoPredict® Report Generator está disponível gratuitamente e sem necessidade de autenticação na Internet. Os endereços do servidor são www1.endopredict.com e www2.endopredict.com. A transmissão de dados de e para o servidor é encriptada, para que os eventuais dados dos doentes não possam ser lidos por terceiros.

O EndoPredict® Report Generator e os relatórios EndoPredict® criados foram desenvolvidos para profissionais qualificados de laboratórios de diagnóstico. Os relatórios gerados destinam-se ainda a médicos envolvidos no tratamento de doentes com cancro da mama.

3. Indicação da finalidade

O EndoPredict® Report Generator é um produto de diagnóstico *in vitro* para a determinação do risco de metástases distantes em doentes com cancro da mama primário Her2 negativo e positivo para os recetores de estrogénio, exclusivamente sob uma terapia endócrina adjuvante. O EndoPredict® Report Generator apenas pode ser utilizado para a finalidade prevista em amostras de ARN, que foram extraídas de tecido mamário cancerígeno fixado em formol e incluído em parafina, e apenas em combinação com os Tissue Preparation Reagents da Sividon ou os VERSANT® Tissue Preparation Reagents, com o módulo VERSANT® kPCR AD e com o EndoPredict® TAQO/SuperScript® III Platinum® One-Step Quantitative RT-PCR System Custom e o EndoPredict® Kit.

O EndoPredict® Report Generator destina-se a ser utilizado por profissionais com formação nas técnicas necessárias para a realização do teste e na utilização do sistema. Os resultados do teste EndoPredict® apenas devem ser utilizados em articulação com outros métodos estabelecidos e fatores clínico-patológicos para o prognóstico e a estratificação de doentes com cancro da mama.

4. Aplicação do EndoPredict® Report Generator

4.1. Disponibilização dos dados de medição

O EPRG gera um relatório a partir dos dados de medições qPCR, os quais têm de ser previamente exportados com o software de dispositivo do sistema VERSANT qPCR utilizado. Para informações mais detalhadas, consulte o manual de instruções "IFU_Endopredict"¹. Em seguida, é fornecida uma orientação simples para a exportação dos dados de medição:

O teste EndoPredict® foi realizado num dispositivo VERSANT™ kPCR da Siemens com o respetivo software VERSANT kPCR, versão 1.1 (software VERSANT), e com a predefinição "EndoPredict CE". O EPRG requer os valores Ct medidos e verifica também o esquema da placa. Estas informações já se encontram definidas no software VERSANT e são depois exportadas para o ficheiro de texto. As predefinições (*defaults*) definem as condições do processo qPCR, assim como o esquema da placa, o perfil de temperatura, as definições para "Analysis Term Settings" e o formato do relatório de texto. Todas as definições essenciais para o teste EndoPredict® encontram-se armazenadas na predefinição correspondente (consultar o manual de instruções "IFU_Versant_Defaults"²).

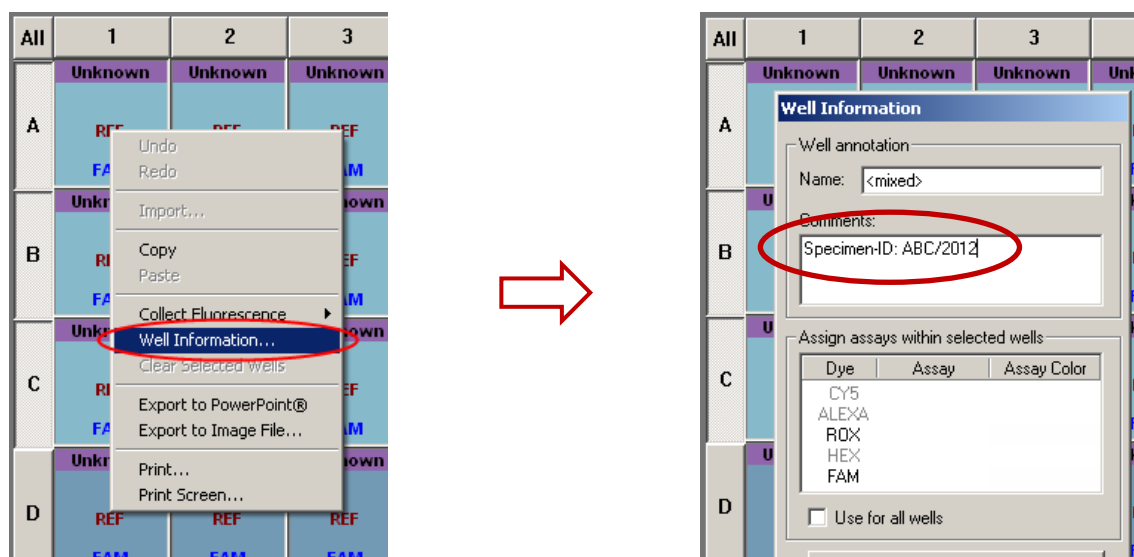
No final da PCR, deve verificar visualmente todas as curvas de qPCR no software VERSANT. Em seguida, o relatório de texto é exportado como ficheiro de texto (**File** → **Export Text Report** → **Export Text Report To Text File**) (Ficheiro → Exportar relatório de texto → Exportar relatório de texto para ficheiro de texto).

Pode efetuar e guardar uma identificação da(s) amostra(s), por exemplo, com base no número de registo da amostra da respetiva doente de cancro, logo no software VERSANT: após a exportação, esta fica também incluída no ficheiro de texto e é apresentada no EndoPredict® Report (consultar a secção 5.1). Para tal, em **Plate Setup** (Configuração da placa), selecione todos os alvéolos da amostra em questão (A1 a C12 para a amostra A ou F1 a H12 para a amostra B), abra o menu de contexto com o botão direito do rato e selecione **Well Information** (Informação do alvéolo). Em seguida, na caixa de diálogo **Well Information** (Informação do alvéolo), no campo de texto **Comments** (Observações), introduza o texto³ "Specimen-ID:" (ID da amostra:), seguido da identificação pretendida.

¹Disponível junto da Sividon Diagnostics. Para obter os dados de contacto, consultar a página 2.

²Disponível junto da Sividon Diagnostics. Para obter os dados de contacto, consultar a página 2.

³Por motivos de compatibilidade com a versão 2.0, alternativamente, também é possível a introdução "PatID: ".



Para uma verificação completa dos dados de medição, são ainda essenciais a indicação da placa EndoPredict® utilizada e do lote de qREF (controlo positivo) utilizado. De forma semelhante à introdução da ID da amostra, estes dados podem ser guardados logo no software VERSANT ou podem ser definidos posteriormente na interface de utilizador do EPRG. Se os dados já estiverem registados no software VERSANT, as informações são automaticamente transferidas para os campos de introdução da interface de utilizador ao carregar o ficheiro de texto. Preferencialmente, para a introdução do número da placa e do lote de qREF, devem ser seleccionados os alvéolos dos controlos (D1 a E12). Com o botão direito do rato, abra o menu de contexto e selecione **Well Information** (Informação do alvéolo). O número da placa e o lote de qREF devem ser introduzidos cada um numa linha própria do campo de texto **Comments** (Observações). Para tal, após a introdução do primeiro número, utilize a tecla **Enter** para criar uma quebra de linha. Se o número da placa e o lote de qREF forem introduzidos numa linha juntamente com outras informações, os dados introduzidos não podem ser corretamente associados pelo EPRG.

Em alternativa à introdução através do teclado, também pode utilizar um leitor de códigos de barras para a introdução do número da placa e do lote de qREF. O leitor de códigos de barras apenas deve ser utilizado no PC específico para o dispositivo, dado que a sua configuração de fábrica está definida para "USA Keyboard". No PC específico para o dispositivo, todos os caracteres numéricos e alfanuméricos são corretamente lidos.

4.2. Iniciar a aplicação Web

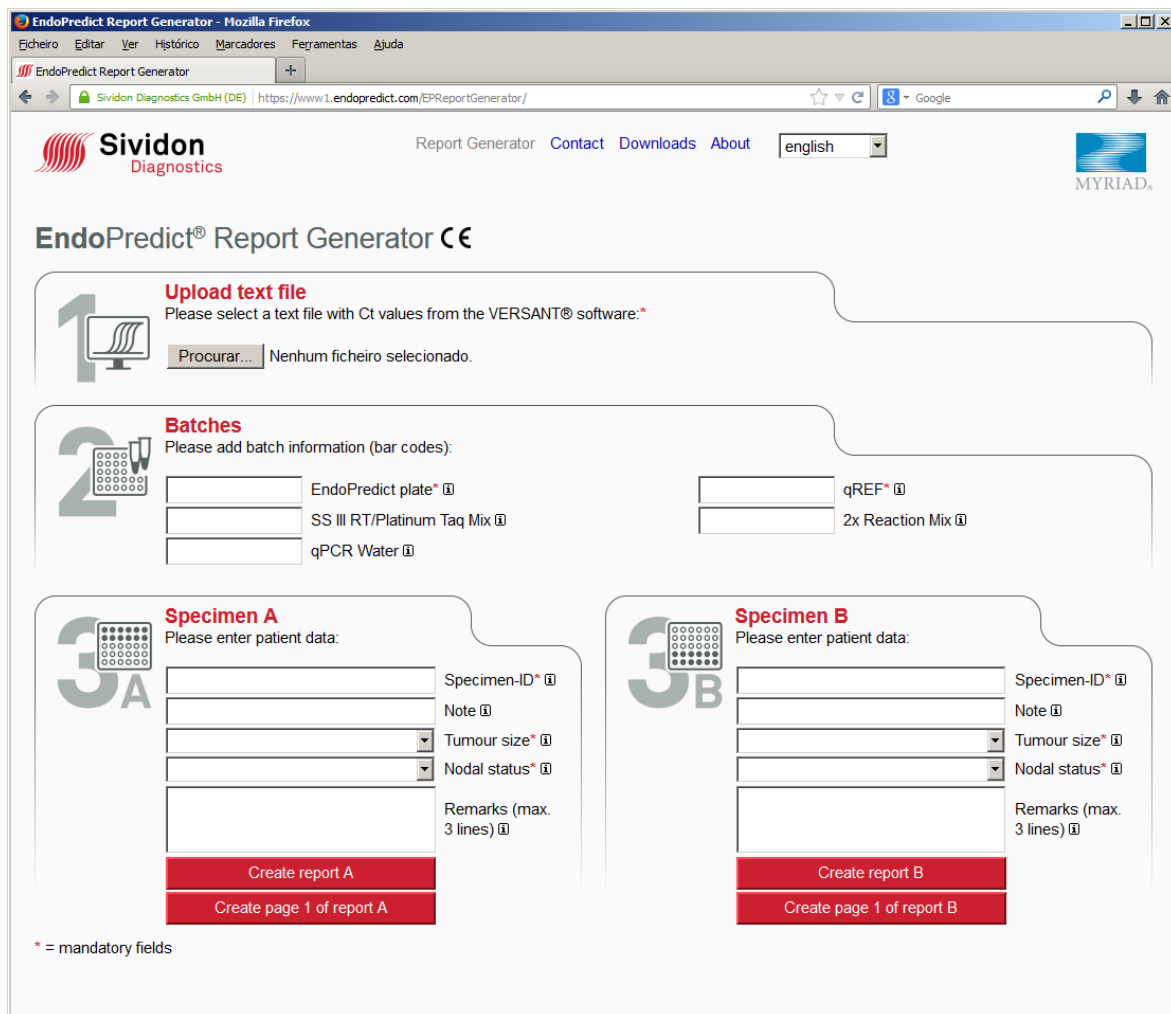
Inicie um browser e introduza como endereço (URL) uma das seguintes alternativas:

www1.endopredict.com

ou

www2.endopredict.com

O browser apresenta a seguinte página Web:



EndoPredict Report Generator - Mozilla Firefox

EndoPredict Report Generator

Sividon Diagnostics GmbH (DE) | https://www.1.endopredict.com/EPReportGenerator/

Sividon Diagnostics | Report Generator | Contact | Downloads | About | english

EndoPredict® Report Generator C€

1 Upload text file
Please select a text file with Ct values from the VERSANT® software:*

Procurar... Nenhum ficheiro selecionado.

2 Batches
Please add batch information (bar codes):

EndoPredict plate* ⓘ qREF* ⓘ
SS III RT/Platinum Taq Mix ⓘ 2x Reaction Mix ⓘ
qPCR Water ⓘ

3A Specimen A
Please enter patient data:

Specimen-ID* ⓘ
Note ⓘ
Tumour size* ⓘ
Nodal status* ⓘ
Remarks (max. 3 lines) ⓘ

Create report A
Create page 1 of report A

3B Specimen B
Please enter patient data:

Specimen-ID* ⓘ
Note ⓘ
Tumour size* ⓘ
Nodal status* ⓘ
Remarks (max. 3 lines) ⓘ

Create report B
Create page 1 of report B

* = mandatory fields

Para uma transmissão segura dos dados, a página Web utiliza um certificado SSL de validação estendida (EV-SSL). Este certificado de segurança comprova a identidade da organização perante o browser. Quando aceder à página Web, reconhece a ligação segura através do símbolo do cadeado ao lado do URL da página Web na barra de endereço. Em alguns browsers, é apresentado ao lado do símbolo o nome da organização responsável pelos conteúdos da página Web e/ou a barra de endereço é apresentada parcialmente a verde. Se clicar no símbolo do cadeado, são apresentadas informações adicionais acerca da identidade da página Web.

O EPRG foi desenvolvido para os seguintes browsers: Chrome 33, Firefox 27, Internet Explorer 9 e 11, bem como Safari 5.

4.3. Carregar um ficheiro de texto

A primeira etapa na página principal do EPRG é a seleção de um ficheiro de texto do sistema de ficheiros do seu computador. Para tal, no campo **Upload text file** (Carregar ficheiro de texto), clique no botão **Procurar**.



Upload text file
Please select a text file with Ct values from the VERSANT® software.*

Nenhum ficheiro selecionado.

Abre-se uma caixa de diálogo para a seleção de um ficheiro: aceda ao diretório pretendido e selecione o seu ficheiro de texto. Em seguida, é apresentado o ficheiro de texto selecionado:



Upload text file
Please select a text file with Ct values from the VERSANT® software.*

Exemplo.txt

A forma de apresentação pode variar consoante o browser.

4.4. Introdução de informações relevantes dos lotes

Na etapa seguinte, introduza os números dos lotes de todos os reagentes utilizados para o teste EP, para que todas as informações associadas ao teste possam ser posteriormente sintetizadas na página 3 do relatório. Caso já tenham sido registadas no software VERSANT (consultar a secção 4.1), estas informações são automaticamente apresentadas nos campos de introdução.



Batches
Please add batch information (bar codes):

	EndoPredict plate® ⓘ		qREF® ⓘ
	SS III RT/Platinum Taq Mix ⓘ		2x Reaction Mix ⓘ
	qPCR Water ⓘ		

Devem ser obrigatoriamente introduzidos o número de série da placa EndoPredict® utilizada e o lote de qREF utilizado. Opcionalmente, podem ser introduzidos todos os outros lotes de reagentes relevantes para o teste, tais como os lotes do SS III RT/Platinum Taq Mix, do 2x Reaction Mix e da água qPCR. O número de série da placa EndoPredict® encontra-se impresso no rótulo da bolsa de alumínio e igualmente num pequeno rótulo na borda direita da placa EndoPredict®. O número de lote do qREF utilizado pode ser consultado no rótulo do tubo com tampa roscada.



Batches
Please add batch information (bar codes):

D000000	EndoPredict plate® ⓘ	Q000	qREF® ⓘ
	SS III RT/Platinum Taq Mix ⓘ		2x Reaction Mix ⓘ
H000	qPCR Water ⓘ		

As combinações de números e letras podem ser manualmente introduzidas através do teclado ou podem ser lidas através de um leitor de códigos de barras. O leitor de códigos de barras apenas deve ser utilizado no PC específico para o dispositivo, dado que a sua configuração de fábrica está definida para "USA Keyboard". No PC específico para o dispositivo, todos os caracteres numéricos e alfanuméricos são corretamente lidos. Contudo, se for utilizado um PC com um teclado de outro idioma ou região, alguns caracteres podem não estar corretos. Caso não possa utilizar o leitor de códigos de barras no PC específico para o dispositivo, ao efetuar a leitura, deve verificar sempre se a reprodução está correta e, se necessário, corrigir os caracteres lidos. Caso contrário, receberá mensagens de erro do seguinte tipo:

Error

The following error(s) occurred while generating the report:

- Plate batch "D00000Y" is invalid. Please use the spelling exactly as printed on the plate or bag.

For more information, please refer to the user manual available on the [Downloads](#) page.

Close

Error

The following error(s) occurred while generating the report:

- The qREF batch "Q00Z" is invalid. Please use the spelling exactly as printed on the qREF vial.

For more information, please refer to the user manual available on the [Downloads](#) page.

Close

O EPRG recorre a bases de dados, com a ajuda das quais verifica as datas de validade dos reagentes introduzidos, e a partir das quais determina os limites de controlo válidos para o lote (apenas aplicável para o lote de qREF e a placa EndoPredict®). Os resultados das verificações são apresentados no relatório (consultar a secção 5.11).

4.5. Introdução de informações dos doentes

O EPRG pode processar uma ou duas amostras numa placa de PCR: estas são designadas como amostra A e amostra B. Para ambas as amostras, existe uma área para a introdução de dados adicionais.


Specimen A
Please enter patient data:

Specimen-ID* ⓘ
 Note ⓘ
 Tumour size* ⓘ
 Nodal status* ⓘ
 Remarks (max. 3 lines) ⓘ

Create report A

Create page 1 of report A


Specimen B
Please enter patient data:

Specimen-ID* ⓘ
 Note ⓘ
 Tumour size* ⓘ
 Nodal status* ⓘ
 Remarks (max. 3 lines) ⓘ

Create report B

Create page 1 of report B

* = mandatory fields

A **Specimen-ID** (ID da amostra) serve para identificar a amostra e é apresentada em cada página do relatório. A introdução desta informação é obrigatória. Tenha em

atenção que o espaço disponível para a ID da amostra no relatório é limitado. Por motivos de proteção dos dados, não utilize o nome nem a data de nascimento da doente.

Além da ID da amostra, pode introduzir mais texto no campo **Remarks** (Observações). A observação surge no relatório, por baixo da ID, sendo que a inserção é opcional.

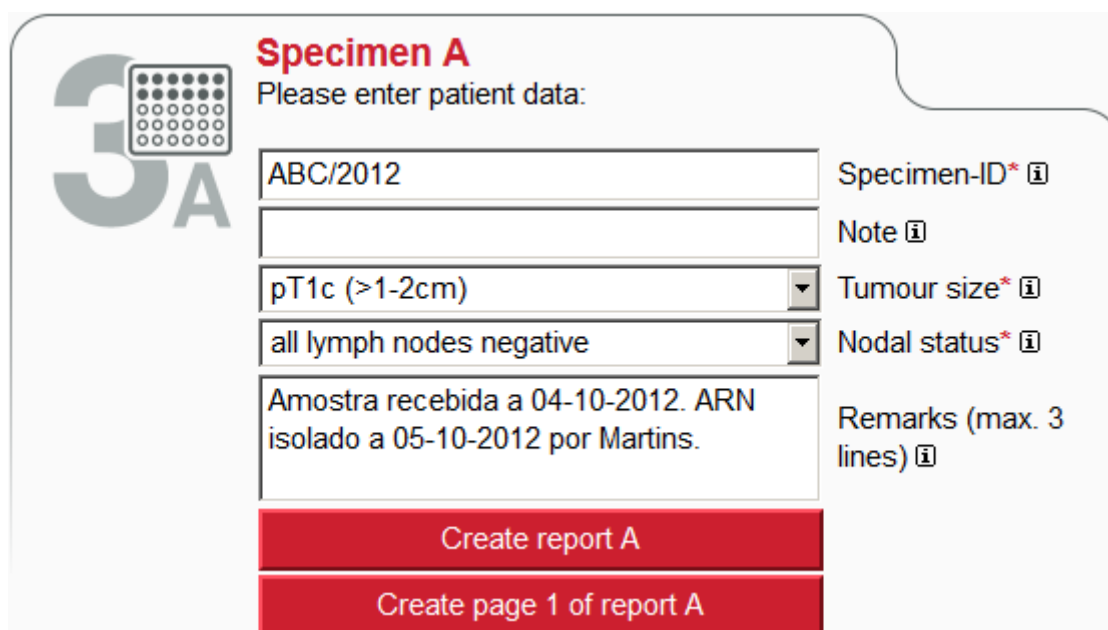
O tamanho do tumor e o estado nodal são campos de seleção, que têm de ser preenchidos com uma opção da lista de seleção. Se possuir informações sobre ambos os parâmetros clínicos (ou seja, se selecionar outra opção que não **unknown** [desconhecido]), no relatório, será calculado e apresentado graficamente o EPclin Score. Tenha em atenção a designação exata das categorias: O tamanho do tumor baseia-se na classificação TNM, sendo que pT1a (até 0,5 cm) e pT1b (>0,5 cm a 1 cm) estão reunidos na mesma opção, mas são distinguidos de pT1c (>1 cm a 2 cm). O estado nodal tem uma classificação própria, a qual não deve ser confundida com a classificação TNM! As micrometástases são avaliadas como **1 to 3 positive lymph nodes** (1 a 3 gânglios linfáticos positivos) (de acordo com a classificação TNM).

Se selecionar a opção **unknown** (desconhecido) para o tamanho do tumor e/ou o estado nodal, no relatório, será criada uma página adicional, que contém uma tabela com todas as 16 combinações possíveis de tamanho do tumor e estado nodal e os resultados EPclin individuais associados a cada uma.

O tamanho do tumor e o estado nodal não têm qualquer influência sobre o EP Score.

Além disso, pode introduzir um texto livre adicional no campo **Comments** (Observações), o qual é impresso na página 3 ou 4 do relatório. Tenha em atenção que o espaço no relatório está limitado a três linhas, sendo as linhas automaticamente quebradas na margem direita do relatório. Caso a sua introdução não possa ser totalmente impressa no relatório por motivos de espaço, no final da observação, é apresentada a indicação "<Texto restante truncado>".

Para as restantes secções do presente manual de instruções, consideramos, a título exemplificativo, os seguintes registos:



Specimen A
Please enter patient data:

Specimen-ID* 
Note 
Tumour size* 
Nodal status* 
Remarks (max. 3 lines) 

ABC/2012

pT1c (>1-2cm)
all lymph nodes negative

Amostra recebida a 04-10-2012. ARN isolado a 05-10-2012 por Martins.

Create report A
Create page 1 of report A

4.6. Criação do relatório

Após clicar no botão **Create report A** (Criar relatório A) ou no botão **Create report B** (Criar relatório B), estará a criar o relatório para a amostra A ou B, respetivamente. O relatório é um ficheiro PDF, que pode agora visualizar diretamente (ou seja, abrir) ou guardar.

Clicando no botão **Create page 1 of report A** (Criar página 1 do relatório A) ou no botão **Create page 1 of report B** (Criar página 1 do relatório B), tem a possibilidade de criar somente a primeira página do relatório, por exemplo, para transmissão do resultado do teste ao colega que solicitou o mesmo. Se tiver selecionado a opção **unknown** (desconhecido) para o tamanho do tumor e/ou o estado nodal, é adicionalmente apresentada no relatório a página acima mencionada com a tabela de todas as 16 combinações possíveis de tamanho do tumor e estado nodal.

O ficheiro PDF é guardado com o mesmo nome que o ficheiro de texto, complementado pelo sufixo **_A** ou **_B**. É recomendado seguir esta predefinição para que, posteriormente, seja fácil de perceber que ficheiro de texto está subjacente a um determinado relatório. Tenha em atenção que a pasta que o browser propõe para guardar o relatório geralmente não corresponde à do ficheiro de texto!

Pode voltar a criar o relatório a qualquer altura. Com a introdução das mesmas informações (incluindo o ficheiro de texto), obtém um relatório com o mesmo conteúdo, com as seguintes exceções: data e hora no cabeçalho do relatório, assim como, possivelmente, os resultados da verificação do período de validade da placa EndoPredict®, do qREF, do SS III RT/Platinum Taq Mix, do 2x Reaction Mix e da água qPCR.

5. O relatório EndoPredict®

O relatório EndoPredict® possui, geralmente, três páginas⁴. Na primeira página, encontram-se as informações da doente e os resultados (EP e EPclin). As páginas seguintes contêm, essencialmente, informações de qualidade baseadas nos controlos da placa de qPCR, na página 2 sob a forma de tabelas, e na página 3 sob a forma de mensagens de texto. Caso o tamanho do tumor e/ou o estado nodal tenham sido indicados como desconhecidos, após a página 1, é introduzida uma página adicional, que contém uma tabela com o EPclin Score e o risco de metástases a 10 anos para todas as 16 combinações possíveis de tamanho do tumor e estado nodal. Se os parâmetros clínicos ficarem posteriormente disponíveis, é possível determinar a partir da tabela o EPclin Score individual e o risco de recidiva correspondente. Existe, contudo, a possibilidade de voltar a carregar o ficheiro de texto e introduzir as informações clínicas antes da criação do relatório.

⁴A numeração de páginas descrita em seguida baseia-se num relatório para o qual se conhece o tamanho do tumor e o estado nodal. Caso contrário (consultar a secção 5.5), é introduzida uma página 2 e as páginas restantes são apresentadas em seguida.

5.1. Cabeçalho do relatório



EndoPredict® Report

**Specimen-ID:** ABC/2012**Note:**

15-Aug-2014 10:04 (CEST)

Na parte superior da primeira página do relatório, encontra-se um cabeçalho que apresenta à esquerda o logótipo da empresa do fabricante e à direita o do distribuidor. Abaixo, é apresentado um título e, por baixo do mesmo, a ID da amostra, a qual é obtida a partir do "Well Comment" (Comentário do alvéolo) introduzido no ficheiro de texto ou a partir da informação introduzida na interface de utilizador do EPRG. Se as informações da ID da amostra guardada no ficheiro de texto e a informação introduzida na interface de utilizador forem contraditórias, é utilizada a ID indicada na interface de utilizador. No entanto, numa mensagem na página 3, alerta-se para a discrepância. Por baixo da ID da amostra, encontra-se a observação, que se comporta exatamente como a ID. Por baixo da ID da amostra, são apresentadas a data e a hora em que o relatório foi gerado. À sua direita, na primeira página do relatório, existe um espaço para o carimbo do laboratório que realizou o teste.

A partir da página 2, no cabeçalho, é indicado do lado direito o número da página e o número total de páginas:



EndoPredict® Report Details

**Specimen-ID:** ABC/2012**Note:**

15-Aug-2014 10:04 (CEST)

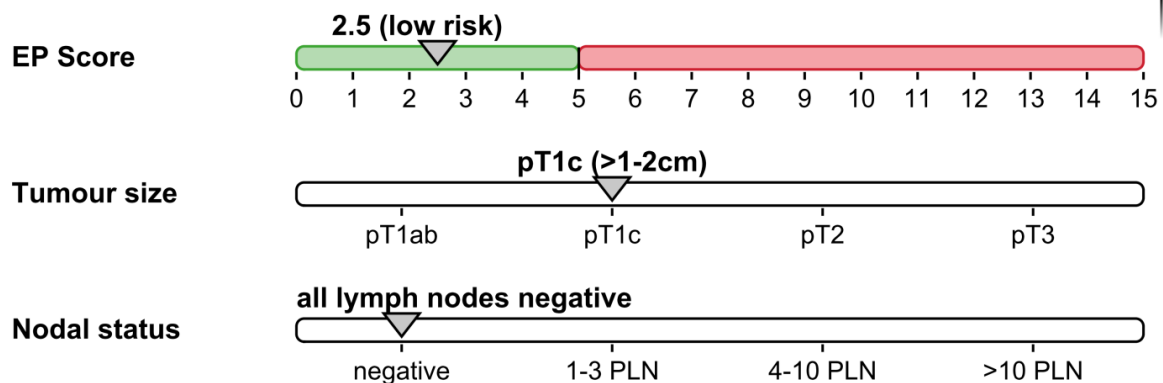
page 2 of 3

5.2. As características do tumor

Abaixo do cabeçalho, na página 1, são apresentadas as características do tumor, começando pelo EP Score, o qual é representado de forma numérica e gráfica. Segundo *Filipits et al., 2011*, este situa-se sempre entre 0 e 15, sendo que um EP Score inferior a 5 é designado como um "risco baixo" e um EP Score a partir de 5 como "risco elevado". A classe de risco é indicada sob a forma de texto entre parêntesis a seguir ao EP Score calculado. Em determinados casos, não é possível calcular o EP Score a partir dos dados de medição: neste caso, é impressa em vez disso uma mensagem de erro e, adicionalmente, é apresentada uma mensagem correspondente (consultar a secção 5.13 e 6) na última página do relatório, que descreve detalhadamente o problema.

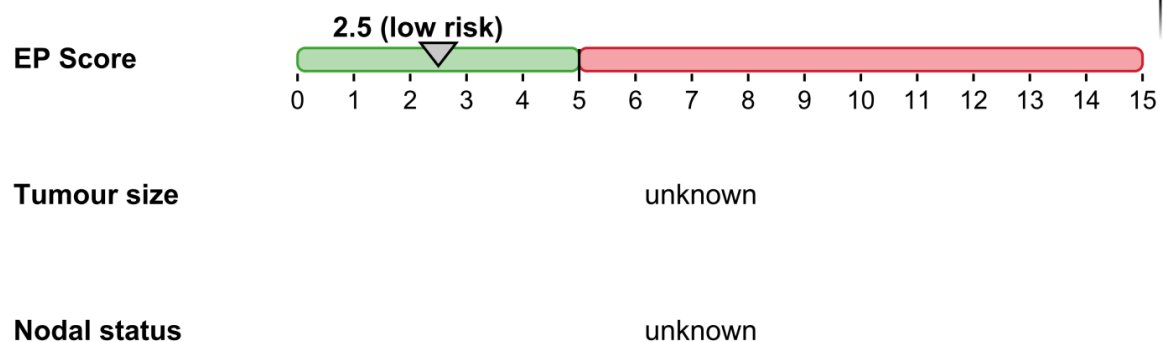
"Tumour size" (Tamanho do tumor) e "Nodal status" (Estado nodal) são apresentados de forma numérica e gráfica de acordo com as informações introduzidas no browser (secção 4.5).

Tumour Properties



Se tiverem sido indicados como **unknown** (desconhecido), tal também é indicado aqui em conformidade:

Tumour Properties



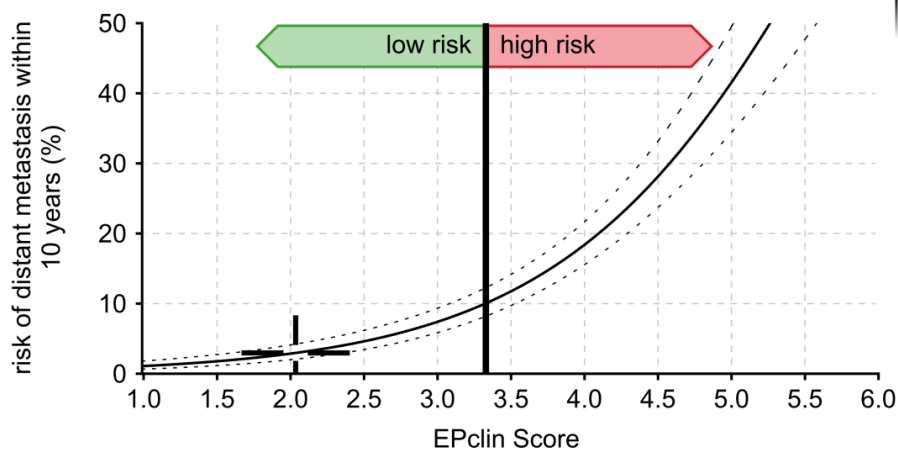
5.3. O risco segundo o EPclin

Se tiver introduzido informações acerca do tamanho do tumor e do estado nodal, o EPclin Score é calculado de acordo com *Filipits et al., 2011* e apresentado na página 1 do relatório. A partir do EPclin Score, é estimada a probabilidade de ocorrência de uma metástase num período de 10 anos de acordo com *Filipits et al., 2011* e ambos os valores são representados graficamente. As curvas indicam a correlação geral, que foi calculada com base num modelo, sendo que as curvas a tracejado representam o intervalo de confiança de 95 %. A cruz em forma de alvo indica os resultados EPclin para a doente individual deste relatório.

Um EPclin Score inferior a 3,3 (probabilidade de metástases inferior a 10 % num período de 10 anos) é designado como “low risk” (risco baixo) e os restantes como “high risk” (risco elevado).

Risk Assessment by EPclin

EPclin combines the EP Score, tumour size, and the number of positive lymph nodes into a score with a superior prognostic power.



EPclin Score

2.0

EPclin 10y risk~

3%

EPclin Class

low risk

~The probability of a distant metastasis within 10 years in patients with 5 years of endocrine treatment is 3%.

5.4. Avaliação do relatório

Na página 1, na parte inferior, o resultado do teste pode ser aprovado através da assinatura do patologista (ou não, geralmente com base nas informações relacionadas com a qualidade nas páginas seguintes do relatório). Além disso, existe espaço para comentários manuscritos.

A página 1 termina com a referência à bibliografia subjacente ao teste EndoPredict® e ao cálculo do EP Score e do EPclin Score.

Pathologists Approval

Controls were run as required
and test result is valid.

authorized signature

Based on: Filipits et al. (2011): A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive, HER2-negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. Clinical Cancer Research 17: 6012-6020.

5.5. EPclin com um tamanho do tumor ou estado nodal desconhecido

Caso tenha selecionado no browser a opção **unknown** (desconhecido) para o tamanho do tumor e/ou o estado nodal, não é possível calcular o EPclin Score. Em vez disso, o relatório apresenta, na página 2, uma tabela com todas as combinações possíveis de tamanho do tumor e estado nodal, assim como os respectivos resultados EPclin.

Manual Risk Assessment by EPclin

EPclin combines the EP Score, tumour size, and the number of positive lymph nodes into a score with a superior prognostic power. Tumour size and/or the nodal status were unknown when generating this report. Once tumour size and nodal status become available the following table allows for manually calculating the EPclin score, the risk of a metastasis within 10 years, and the EPclin risk class. The table content is calculated from the EP Score for the tumour specimen described in this report.

		Tumour size			
		pT1ab (≤1cm)	pT1c (>1-2cm)	pT2 (>2-5cm)	pT3 (>5cm)
Nodal status	all lymph nodes negative	1.7 2% low risk	2.0 3% low risk	2.4 4% low risk	2.7 6% low risk
	1 to 3 positive lymph nodes	2.3 4% low risk	2.7 5% low risk	3.0 8% low risk	3.4 10% high risk
	4 to 10 positive lymph nodes	3.0 7% low risk	3.31 10% low risk	3.7 14% high risk	4.0 19% high risk
	more than 10 pos. lymph nodes	3.6 13% high risk	4.0 18% high risk	4.3 24% high risk	4.7 32% high risk

Top: EPclin score

Middle: probability of a distant metastasis within 10 years

Bottom: risk class (threshold = 10% for probability)

Red: high risk

In a paper form of this report please pick the tumour size (column) and the number of positive lymph nodes (row) and mark the intersecting cell corresponding to the correct tumour size and nodal status. Copy the EPclin score, the marked percent metastasis risk, and risk class into the result boxes below:

EPclin Score	EPclin 10y risk [~]	EPclin Class
	0%	risk

[~]The "EPclinRisk10" is the probability of a distant metastasis within 10 years in patients with 5 years of endocrine treatment.

Para além do EPclin Score, na tabela, também é indicada a probabilidade de ocorrência de uma metástase num período de 10 anos de acordo com os dados (consultar a secção 5.3). Uma probabilidade inferior a 10 % (correspondente a um EPclin Score inferior a 3,3) é designada como um "risco baixo" e uma probabilidade a partir de 10 % é descrita como um "risco elevado" e apresentada sobre um fundo vermelho.

Se tiver imprimido o relatório e tiver determinado posteriormente o tamanho do tumor e o estado nodal, pode obter o EPclin Score, a correspondente probabilidade de

metástases a 10 anos e a classe EPclin a partir da tabela, introduzindo manualmente estes dados nos campos correspondentes por baixo da tabela.

5.6. Visão geral do controlo de qualidade do software

As páginas 2 e 3 do relatório abordam, essencialmente, o controlo de qualidade das medições PCR. Este é realizado através de uma série de verificações de qualidade sob a forma de regras simples. Se uma dessas verificações de qualidade falhar (ou seja, se a sua regra não for cumprida), tal é assinalado em diferentes pontos do relatório: (i) na síntese (secção 5.7), (ii) numa das tabelas da página 2 ou 3 sob a forma de uma marcação colorida (secções 5.8 a 5.11) e (iii) na página 3, sob a forma de uma mensagem textual (secção 5.13).

5.7. Síntese do controlo de qualidade

A página 2 do relatório começa com uma síntese dos resultados das verificações de qualidade ("Quality control Summary"). Neste âmbito, as verificações de qualidade são divididas em quatro categorias. Se todas as quatro categorias apresentarem um visto verde, todas as verificações foram superadas.

Quality Control Summary

Specimen quality	✓
Positive controls	✓
Negative controls	✓
Batches	✓

Se uma ou mais verificações de qualidade falharem, é apresentada uma cruz vermelha em vez do visto verde na categoria correspondente. A seguir à cruz vermelha, é apresentada também uma mensagem correspondente. Na página 3 do relatório, todos os problemas identificados são individualmente apresentados na secção "Messages" (Mensagens).

Quality Control Summary

Specimen quality	✓
Positive controls	✓
Negative controls	✓
Batches	✗ A problem identified. See messages below.

5.8. Valores Ct no esquema da placa

No centro da página 2, encontra-se uma tabela de síntese dos valores Ct, que apresenta a disposição dos alvéolos na placa de PCR. A principal função desta tabela é proporcionar uma visão geral dos resultados de medição imediatos.

Dado que cada relatório apenas contém os resultados de uma doente, os valores Ct de uma outra amostra possivelmente presente na mesma placa de qPCR não são apresentados: na imagem abaixo, nas linhas F a H.

Para além dos valores Ct, a tabela contém o esquema da placa EndoPredict®, que identifica, para cada alvéolo, o gene e o material ("A" para a amostra A, "B" para a amostra B, "POS" para controlo positivo e "NEG" para controlo negativo). Caso um alvéolo não esteja descrito no ficheiro de texto (consultar o manual de instruções "IFU_Endopredict"), a célula correspondente é identificada com "<removido>" e apresentada sobre um fundo amarelo.

Em todos os alvéolos de controlo, verifica-se se o valor Ct se situa no intervalo permitido pelos limites de controlo: em caso afirmativo, a célula correspondente permanece a branco; caso contrário, é apresentada a vermelho.

Segundo *Filipits et al., 2011*, as réplicas de um gene são examinadas durante o cálculo do EP Score para detetar valores atípicos. Caso seja detetado um valor atípico, este não é utilizado para o cálculo do EP Score e é marcado a azul-claro na tabela. Os valores atípicos isolados ocorrem ocasionalmente devido à PCR como método de análise e não representam qualquer risco de qualidade relevante. Por isso é que a medição é realizada em triplicado.

Ct Values

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	AZGP1 A 21.07	BIRC5 A 32.23	OAZ1 A 25.51	DHCR7 A 28.99	IL6ST A 25.12	MGP A 21.03	CALM2 A 23.71	RBBP8 A 26.85	STC2 A 23.72	UBE2C A 29.71	RPL37A A 21.92	HBB A No Ct
B	AZGP1 A 21.21	BIRC5 A 32.13	OAZ1 A 25.65	DHCR7 A 28.76	IL6ST A 24.99	MGP A 20.85	CALM2 A 23.53	RBBP8 A 27.01	STC2 A 23.45	UBE2C A 29.62	RPL37A A 21.89	HBB A No Ct
C	AZGP1 A 21.29	BIRC5 A 32.22	OAZ1 A 25.37	DHCR7 A 28.86	IL6ST A 24.98	MGP A 20.69	CALM2 A 23.53	RBBP8 A 27.25	STC2 A 23.97	UBE2C A 29.94	RPL37A A 21.89	HBB A No Ct
D	HBB POS 26.72	BIRC5 POS 26.55	OAZ1 POS 23.34	DHCR7 POS 23.91	IL6ST POS 23.05	MGP POS 24.62	CALM2 POS 20.51	RBBP8 POS 25.39	STC2 POS 24.22	UBE2C POS 23.37	RPL37A PO. 18.82	AZGP1 POS 24.73
E	AZGP1 NEG No Ct	BIRC5 NEG No Ct	OAZ1 NEG No Ct	DHCR7 NEG No Ct	IL6ST NEG No Ct	MGP NEG No Ct	CALM2 NEG No Ct	RBBP8 NEG No Ct	STC2 NEG No Ct	UBE2C NEG No Ct	RPL37A NE. No Ct	HBB NEG No Ct
F	AZGP1 B	BIRC5 B	OAZ1 B	DHCR7 B	IL6ST B	MGP B	CALM2 B	RBBP8 B	STC2 B	UBE2C B	RPL37A B	HBB B
G	AZGP1 B	BIRC5 B	OAZ1 B	DHCR7 B	IL6ST B	MGP B	CALM2 B	RBBP8 B	STC2 B	UBE2C B	RPL37A B	HBB B
H	AZGP1 B	BIRC5 B	OAZ1 B	DHCR7 B	IL6ST B	MGP B	CALM2 B	RBBP8 B	STC2 B	UBE2C B	RPL37A B	HBB B

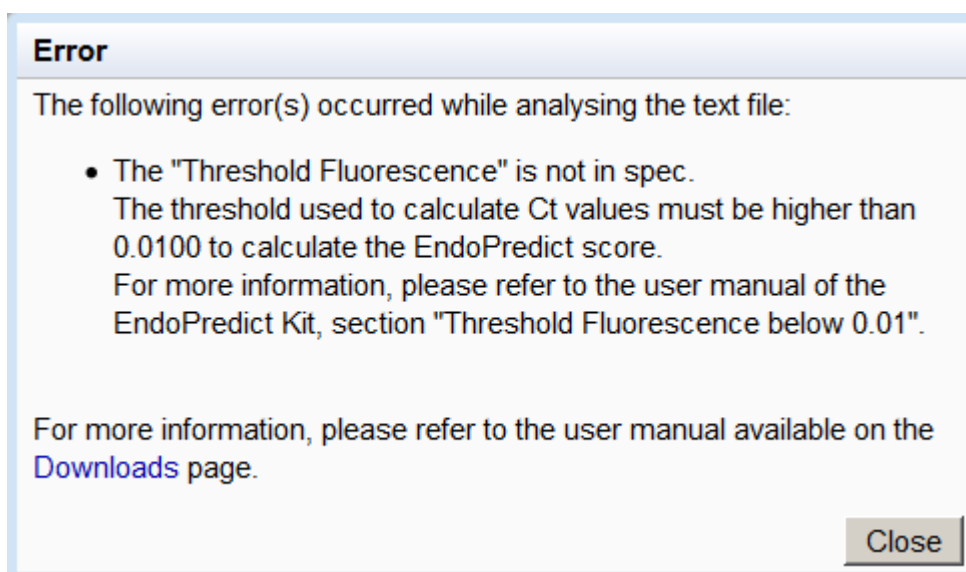
5.9. Controlos

Segue-se uma secção acerca dos controlos, que começa com a verificação do limiar para a determinação dos valores Ct dentro do software da PCR. Este é designado como **Threshold Fluorescence** (Limiar de fluorescência) na interface do software VERSANT e é incluído no ficheiro de texto na coluna *Threshold (dRn)* (Limiar [dRn]). É determinado automaticamente pelo software VERSANT a partir das curvas de fluorescência e é apresentado na página 2 na secção "Controls" (Controlos), abaixo do título.

Controls

Threshold fluorescence: 0.0464

Se for demasiado baixo, os valores Ct estão frequentemente fora das especificações e é recomendado corrigir as definições correspondentes no software VERSANT, para alcançar um **Threshold Fluorescence** (Limiar de fluorescência) adequado (relativamente a este ponto, consultar o manual de instruções "IFU_Endopredict", secção "Limiar de fluorescência inferior a 0,01"). Um relatório EndoPredict® apenas é gerado se o **Threshold Fluorescence** (Limiar de fluorescência) for superior a 0,01. Caso contrário, é apresentada a mensagem de erro que se segue no browser.



Sob o **Threshold Fluorescence** (Limiar de fluorescência), são apresentados numa tabela os controlos dos valores Ct. Para cada um dos doze genes do algoritmo EP (oito genes informativos por ordem alfabética, três genes de referência igualmente por ordem alfabética e um gene marcador de ADN), existe um controlo positivo e um controlo negativo. Além disso, existe ainda um controlo negativo de ADN da amostra (aqui designado como "specimen HBB" [HBB da amostra]).

O valor Ct controlado por regras de qualidade é apresentado em ambas as colunas "Ct". No controlo negativo HBB da amostra, este é a média das três réplicas, sendo que, para a determinação da média, "No Ct" (Nenhum Ct) é avaliado como 40.

Se o valor controlado se situar entre LCL e UCL (para controlos positivos) ou acima de LCL (para controlos negativos), estes controlos estão dentro das especificações e a célula correspondente da tabela "Controls" (Controlos) permanece a branco. Caso o valor controlado não se situe nesses limites, o controlo está fora das especificações e é marcado a vermelho. Se faltar o valor Ct correspondente para um controlo, na coluna "Ct" é apresentado apenas um campo vazio com um fundo amarelo.

Se os controlos estiverem fora dos limites das especificações ou se faltarem os respetivos valores Ct, não está garantida a validade do resultado. O teste deve ser repetido.

Controls

Threshold fluorescence: 0.0464

control	<i>positive</i>		<i>negative</i>	
	Ct	limits	Ct	limit
AZGP1	24.73	(24.19 - 27.03)	No Ct	(≥36.00)
BIRC5	26.55	(24.06 - 28.87)	No Ct	(≥36.00)
DHCR7	23.91	(22.94 - 25.58)	No Ct	(≥36.00)
IL6ST	23.05	(22.59 - 25.61)	No Ct	(≥36.00)
MGP	24.62	(23.67 - 27.05)	No Ct	(≥36.00)
RBBP8	25.39	(24.68 - 27.84)	No Ct	(≥36.00)
STC2	24.22	(23.52 - 26.83)	No Ct	(≥36.00)
UBE2C	23.37	(22.22 - 25.52)	No Ct	(≥36.00)
CALM2	20.51	(19.78 - 22.37)	No Ct	(≥34.00)
OAZ1	23.34	(21.26 - 24.73)	No Ct	(≥34.00)
RPL37A	18.82	(17.80 - 20.03)	No Ct	(≥34.00)
HBB	26.72	(26.26 - 31.43)	No Ct	(≥36.00)
specimen HBB			No Ct	(≥38.00)

5.10. Valores Delta Ct

Na parte inferior direita da página 2 do relatório, encontra-se a tabela "Delta Ct". O valor Delta Ct representa um resultado intermédio no cálculo do EP Score e é introduzido para que seja mais fácil compreender como o EP Score é calculado.

Delta Ct

gene	dCt
AZGP1	22.67
BIRC5	12.82
DHCR7	15.21
IL6ST	19.21
MGP	22.95
RBBP8	16.88
STC2	19.79
UBE2C	13.54

Ø Ct values of reference genes	limit
23.67	(≤27.00)

A média dos valores Ct dos três genes de referência sob a tabela é uma medida para a quantidade total de ARN da amostra. Esta não pode ser demasiado baixa. Caso contrário, os genes informativos poderão não ser medidos com uma precisão

suficiente. Por este motivo, este valor é submetido a uma verificação de qualidade pelo EPRG: se for superior a 27, o número é colocado sobre um fundo vermelho. O teste deve ser repetido com uma quantidade total de ARN mais elevada (para tal, consultar o manual de instruções "EndoPredict", secção "Resolução de problemas – Produção insuficiente").

5.11. Lotes

Na página 3 do relatório, são apresentados os números de série e de lotes utilizados, caso estes tenham sido introduzidos. Através dos números de série e de lotes, é verificada a data de validade da placa EndoPredict®, do lote qREF, do SS III RT/Platinum Taq Mix, do 2x Reaction Mix e da água qPCR utilizada (desde que indicados). Se a verificação for positiva, na coluna da data de validade é apresentado um visto verde. Caso contrário, é exibida uma cruz vermelha e é apresentada uma mensagem correspondente.

Batches

Shelf life		
EndoPredict plate	D000000	✓
qREF	Q000	✓
SS III RT/Platinum Taq Mix		
2x Reaction Mix		
qPCR Water	H000	✓

Software version: V3.1.1, server: Testserver, data base: Test-DB.

Se já tiverem sido introduzidos no software da PCR dados para a placa EndoPredict®, o lote de qREF, o lote de SS III RT/Platinum Taq Mix, o lote de 2x Reaction Mix ou o lote de água qPCR e estes estiverem em conflito com os dados introduzidos no browser, são utilizados os dados do browser, mas, na secção "Messages" (Mensagens), alerta-se para os dados contraditórios. Além disso, na síntese do controlo de qualidade na página 2, é apresentada uma cruz vermelha na secção "Batches" (Lotes). Ocorre o mesmo quando são utilizados lotes expirados.

Batches

Shelf life		
EndoPredict plate	D000001	✗ expired on 30-Nov-2013
qREF	Q000	✓
SS III RT/Platinum Taq Mix		
2x Reaction Mix		
qPCR Water	H000	✓

Software version: V3.1.1, server: Testserver, data base: Test-DB.

5.12. Resultado dos testes

Da mesma forma, na página 3 do relatório, são repetidos os resultados dos testes da página 1 de forma concisa.

Test result

EP Score: 2.5	Tumour size: n/a	Nodal status: n/a
EPclin Score: n/a	EPclin 10y risk [~] : n/a	EPclin Class: unknown

[~]The probability of a distant metastasis within 10 years in patients with 5 years of endocrine treatment is n/a.

5.13. Mensagens

Os problemas e contradições de todas as verificações de qualidade indexadas, graficamente assinalados nas páginas 2 e 3, são sintetizados em forma de texto no final do relatório. Além das mensagens relacionadas com a qualidade (secções 5.7 a 5.11), são ainda apresentadas todas as entradas da coluna *Well Comment* (Comentário do alvéolo) do ficheiro de texto que não puderam ser atribuídas a um campo de introdução no browser (p. ex., entradas de *Specimen-ID* (ID da amostra), números de placas, lotes de qREF, lotes de SS III RT/Platinum Taq Mix, lotes de 2x Reaction Mix ou lotes de água qPCR (consultar as secções 4.1, 4.4 e 4.5)). As entradas são separadas de acordo com o material do alvéolo (A, B, POS ou NEG), sendo reunidas várias entradas idênticas.

Messages

[No]* Message

Test result is valid
yes **no**

[L01] The shelf life of the plate has expired.

☐ ☐

*You can find further information under the given [No.] in the software manual (see the section "Downloads" on the EP Report Generator website).

Technical errors occurred. Please verify the data collected as outlined in the user's manual and check if the EndoPredict test needs to be repeated.

Cada mensagem tem um identificador (neste exemplo "[L01]"), com o qual pode consultar informações detalhadas sobre a verificação de qualidade e possíveis contramedidas na secção 6. A primeira letra do identificador associa a mensagem a uma categoria:

- L: ing.: lot, lote expirado ou dados contraditórios sobre os lotes
- P: ing.: positive control, anomalias nos controlos positivos
- N: ing.: negative control, anomalias nos controlos negativos
- S: ing.: specimen, anomalias nos alvéolos da amostra ou no cálculo do EP Score

Após o identificador, é apresentado o texto da mensagem. Caso vários genes sejam afetados pelo mesmo erro/problema, tal é resumido numa única mensagem.

O patologista responsável pode marcar aqui se as verificações de qualidade indexadas são relevantes para a validade do resultado do teste.

Cada mensagem relacionada com a qualidade direciona para uma entrada, na categoria correspondente, na síntese apresentada na página 2 do relatório (secção 5.7). Todas as marcações a vermelho e a amarelo relacionadas com a qualidade nas páginas 2 e 3 remetem para mensagens correspondentes.

Na secção "Messages" (Mensagens), são também apresentadas as observações registadas no browser (secção 4.5). O relatório termina com um campo para a assinatura.

Messages

Test result is valid

yes no

No messages to report.

☐ ☐

Remarks

Amostra recebida a 04-10-2012. ARN isolado a 05-10-2012 por Martins.

authorized signature

6. Lista das mensagens

A tabela que se segue apresenta todas as potenciais entradas da secção "Messages" (Mensagens) na página 3 de um relatório.

Ident.	Mensagem	Esclarecimento e eventuais contramedidas
L01	The shelf life of the plate is expired.	A placa EndoPredict® utilizada já tinha ultrapassado a sua data de validade no momento da criação do relatório. Verifique se a validade já tinha sido ultrapassada também quando a medição foi realizada. Em caso afirmativo, repita a medição com uma placa EndoPredict® válida.
L02	The shelf life of the qPCR water batch is expired.	A alíquota de água qPCR utilizada tinha ultrapassado a data de validade no momento da criação do relatório. Verifique se a validade já tinha sido ultrapassada também quando a medição foi realizada. Em caso afirmativo, repita a medição com um lote de água qPCR válido.

Ident.	Mensagem	Esclarecimento e eventuais contramedidas
L03	The shelf life of the qREF batch is expired.	O lote de qREF utilizado já tinha ultrapassado a sua data de validade no momento da criação do relatório. Verifique se a validade já tinha sido ultrapassada também quando a medição foi realizada. Em caso afirmativo, repita a medição com um lote de qREF válido.
L04	The plate batch does not match the information from the text file (...).	O lote da placa introduzido como Well Comment (Comentário do alvéolo) no software VERSANT está em conflito com a indicação efetuada no browser. Como informação relevante, é utilizado o lote definido no browser. Certifique-se de que é utilizado o lote da placa correto para o relatório. Se a introdução do lote da placa for efetuada uma vez manualmente e uma vez com recurso a um leitor de códigos de barras, que não tenha sido utilizado no PC específico para o dispositivo, pode ocorrer uma troca de caracteres na leitura do lote da placa através do leitor de códigos de barras. Corrija os erros e, se necessário, volte a criar o relatório.
L05	The qPCR water batch does not match the information from the text file (...).	O lote de água qPCR introduzido como Well Comment (Comentário do alvéolo) no software VERSANT está em conflito com a indicação efetuada no browser. Como informação relevante, é utilizado o lote definido no browser. Certifique-se de que é utilizado o lote de água qPCR correto para o relatório. Se a introdução do lote de água qPCR for efetuada uma vez manualmente e uma vez com recurso a um leitor de códigos de barras, que não tenha sido utilizado no PC específico para o dispositivo, pode ocorrer uma troca de caracteres na leitura do lote de água qPCR através do leitor de códigos de barras. Corrija os erros e, se necessário, volte a criar o relatório.

Ident.	Mensagem	Esclarecimento e eventuais contramedidas
L06	The qREF batch does not match the information from the text file (...).	O lote de qREF introduzido como Well Comment (Comentário do alvéolo) no software VERSANT está em conflito com a indicação efetuada no browser. Como informação relevante, é utilizado o lote definido no browser. Certifique-se de que é utilizado o lote de qREF correto para o relatório. Se a introdução do lote de qREF for efetuada uma vez manualmente e uma vez com recurso a um leitor de códigos de barras, que não tenha sido utilizado no PC específico para o dispositivo, pode ocorrer uma troca de caracteres na leitura do lote de qREF através do leitor de códigos de barras. Corrija os erros e, se necessário, volte a criar o relatório.
L07	The shelf life of the SS III RT/Platinum Taq Mix batch is expired.	O lote de SS III RT/Platinum Taq Mix utilizado já tinha ultrapassado a sua data de validade no momento da criação do relatório. Verifique se a validade já tinha sido ultrapassada também quando a medição foi realizada. Em caso afirmativo, repita a medição com um lote de SS III RT/Platinum Taq Mix válido.
L08	The shelf life of the 2x Reaction Mix batch is expired.	O lote de 2x Reaction Mix utilizado já tinha ultrapassado a sua data de validade no momento da criação do relatório. Verifique se a validade já tinha sido ultrapassada também quando a medição foi realizada. Em caso afirmativo, repita a medição com um lote de 2x Reaction Mix válido.

Ident.	Mensagem	Esclarecimento e eventuais contramedidas
L09	The SS III RT/Platinum Taq Mix batch does not match the information from the text file (...).	O lote de SS III RT/Platinum Taq Mix introduzido como Well Comment (Comentário do alvéolo) no software VERSANT está em conflito com a indicação efetuada no browser. Como informação relevante, é utilizado o lote definido no browser. Certifique-se de que é utilizado o lote de SS III RT/Platinum Taq Mix correto para o relatório. Se a introdução do lote de SS III RT/Platinum Taq Mix for efetuada uma vez manualmente e uma vez com recurso a um leitor de códigos de barras, que não tenha sido utilizado no PC específico para o dispositivo, pode ocorrer uma troca de caracteres na leitura do lote de SS III RT/Platinum Taq Mix através do leitor de códigos de barras. Corrija os erros e, se necessário, volte a criar o relatório.
L10	The 2x Reaction Mix batch does not match the information from the text file (...).	O lote de 2x Reaction Mix introduzido como Well Comment (Comentário do alvéolo) no software VERSANT está em conflito com a indicação efetuada no browser. Como informação relevante, é utilizado o lote definido no browser. Certifique-se de que é utilizado o lote de 2x Reaction Mix correto para o relatório. Se a introdução do lote de 2x Reaction Mix for efetuada uma vez manualmente e uma vez com recurso a um leitor de códigos de barras, que não tenha sido utilizado no PC específico para o dispositivo, pode ocorrer uma troca de caracteres na leitura do lote de 2x Reaction Mix através do leitor de códigos de barras. Corrija os erros e, se necessário, volte a criar o relatório.
N01	The negative control of gene ... is positive.	O controlo negativo deste gene está fora das especificações, ou seja, o valor Ct do alvéolo é inferior ao limite de controlo inferior. O teste deve ser repetido.
N02	No negative control for gene	Falta o controlo negativo deste gene. Verifique no software VERSANT se o alvéolo correspondente não contém realmente qualquer valor Ct. Se for esse o caso, o teste deve ser repetido.

Ident.	Mensagem	Esclarecimento e eventuais contramedidas
P01	The positive control of gene ... is outside the control limits.	O controlo positivo deste gene está fora das especificações, ou seja, o valor Ct do controlo positivo deste gene não se encontra entre os limites de controlo inferior e superior. O teste deve ser repetido.
P02	No positive control for gene	Falta o controlo positivo deste gene. Verifique no software VERSANT se o alvéolo correspondente não contém realmente qualquer valor Ct. Se for esse o caso, o teste deve ser repetido.
S01	All replicates of gene ... are missing. The EP Score cannot be calculated.	No ficheiro de texto, para o gene indicado, não existe qualquer valor de medição para a amostra. No software VERSANT, os três alvéolos deste gene foram excluídos da exportação para esta amostra. Certifique-se de que são exportados todos os alvéolos para o ficheiro de texto.
S02	All replicates of gene ... are outliers. EP Score cannot be calculated.	Os valores Ct do gene indicado estão substancialmente afastados: qualquer um pode representar um valor claramente falso (valor atípico), pelo que nenhum destes é fiável. Repita o teste.
S03	The estimated confidence of the EP Score is not sufficient.	O intervalo de confiança do EP Score é demasiado amplo (consultar <i>Filipits et al., 2011</i>). Não é possível indicar o EP Score com uma precisão suficiente. Os indicadores para tal são: valores Ct elevados dos genes de referência, valores Ct elevados ou "No Ct" (Nenhum Ct) nos genes informativos, assim como muitos valores atípicos. Repita o teste com uma quantidade de ARN mais elevada (para tal, consultar o manual de instruções "EndoPredict", secção "Resolução de problemas – Produção insuficiente").
S04	The majority of genes is not measured in triplicate: The precision of the EP Score is insufficient.	O ficheiro de texto contém menos de três réplicas para seis ou mais dos onze genes (o controlo negativo HBB da amostra não é considerado na contagem) do algoritmo EP. A precisão do EP Score está, portanto, comprometida. Repita o teste, utilizando três réplicas para cada um dos onze genes.

Ident.	Mensagem	Esclarecimento e eventuais contramedidas
S05	The HBB-negative control of the specimen is positive. Repeating the DNA digestion may help.	No ficheiro de texto, a média dos valores Ct para HBB medidos para a amostra ("specimen HBB" [HBB da amostra]) é inferior ao limiar de 38. A amostra apresenta, consequentemente, uma contaminação de ADN, pelo que é necessária uma nova digestão com DNase. Teste a amostra novamente digerida com EndoPredict® QC. Se esta estiver boa, repita o teste. Se esta medida não corrigir o problema, poderá consultar mais informações no manual de instruções "EndoPredict", na secção "Resolução de problemas".
S06	The specimen-ID does not match the information from the text file (...).	A ID da amostra introduzida como Well Comment (Comentário do alvéolo) no software VERSANT está em conflito com a indicação efetuada no browser. Como informação relevante, é utilizada a ID da amostra definida no browser. Certifique-se de que é utilizada a ID da amostra correta para o relatório. Se a introdução da ID da amostra for efetuada uma vez manualmente e uma vez com recurso a um leitor de códigos de barras, que não tenha sido utilizado no PC específico para o dispositivo, pode ocorrer uma troca de caracteres na leitura da ID da amostra através do leitor de códigos de barras. Corrija os erros e, se necessário, volte a criar o relatório.
S07	The average of Ct values of reference genes is out of the specification validated by Sividon Diagnostics. Please increase the input RNA concentration.	A média dos valores Ct dos três genes de referência é superior a 27. Tal significa uma quantidade de ARN demasiado baixa e, consequentemente, um EP Score possivelmente impreciso. Repita o teste com uma quantidade de ARN mais elevada (para tal, consultar o manual de instruções "EndoPredict", secção "Resolução de problemas – Produção insuficiente").
S08	One or more replicates of a reference gene are "No Ct". Please increase the input RNA concentration.	Pelo menos, um alvéolo de um dos três genes de referência tem o valor "No Ct" (Nenhum Ct) (e não é um valor atípico). Deste modo, não é possível calcular a média dos genes de referência. Repita o teste com uma quantidade de ARN mais elevada (para tal, consultar o manual de instruções "EndoPredict", secção "Resolução de problemas – Produção insuficiente").

Ident.	Mensagem	Esclarecimento e eventuais contramedidas
S09	All replicates of the HBB-negative control of the specimen are missing.	Para a amostra, não existem quaisquer valores de medição para HBB, pelo que não é possível realizar qualquer controlo de contaminação de ADN. Verifique se as curvas não foram acidentalmente removidas ou esquecidas na exportação do ficheiro de texto. Caso não seja possível determinar quaisquer dados para HBB, o teste tem de ser repetido.
S10	The tumour size does not match the information from the text file (...).	O tamanho do tumor introduzido como Well Comment (Comentário do alvéolo) no software VERSANT está em conflito com a indicação efetuada no browser. Como informação relevante, é utilizado o tamanho do tumor definido no browser. Certifique-se de que é utilizado o tamanho do tumor correto para o relatório.
S11	The nodal status does not match the information from the text file (...).	O estado nodal introduzido como Well Comment (Comentário do alvéolo) no software VERSANT está em conflito com a indicação efetuada no browser. Como informação relevante, é utilizado o estado nodal definido no browser. Certifique-se de que é utilizado o estado nodal correto para o relatório.
S12	The remarks do not match those from the text file (...).	As observações introduzidas como Well Comment (Comentário do alvéolo) no software VERSANT diferem das indicações efetuadas no browser. Como informação relevante, são utilizadas as observações definidas no browser. Certifique-se de que são utilizadas as observações corretas para o relatório.
S13	The note does not match the entry in the text file (...).	A observação introduzida no software VERSANT como Well Comment difere da indicação efetuada no browser. Como informação relevante, é utilizada a observação definida no browser. Certifique-se de que é utilizada a observação correta para o relatório.
	Well Comment~ (A): (...)	Entrada no Well Comment (Comentário do alvéolo) no software da PCR (secção 4.1) para um alvéolo de amostragem da amostra A
	Well Comment~ (B): (...)	Entrada no Well Comment (Comentário do alvéolo) no software da PCR (secção 4.1) para um alvéolo de amostragem da amostra B

Ident.	Mensagem	Esclarecimento e eventuais contramedidas
	Well Comment (NEG): (...)	Entrada no Well Comment (Comentário do alvéolo) no software da PCR (secção 4.1) para um alvéolo de um controlo negativo
	Well Comment (POS): (...)	Entrada no Well Comment (Comentário do alvéolo) no software da PCR (secção 4.1) para um alvéolo de um controlo positivo

7. Versões publicadas

Esta secção enumera as versões publicadas do EPRG e descreve as alterações mais importantes em relação à respetiva versão anterior.

Versão	Alterações
V3.0	Primeira versão com marcação CE.
V3.1	Outros idiomas: espanhol, francês, italiano e neerlandês. A página 1 do relatório contém no canto superior direito um espaço para o carimbo ou o logótipo do patologista.