

Formation relative au test : Xpert® Breast Cancer STRAT4

*Formation technique uniquement
pour les produits CE-IVD*



Programme de la formation

- Formation Xpert Breast Cancer STRAT4
 - Application clinique
 - Réactifs
 - Conservation et manipulation du kit
 - Précautions
 - Préparation de l'échantillon
 - Préparation de la cartouche
 - Contrôle qualité
 - Analyse des résultats





Objectifs de la formation

À la fin de la formation, l'utilisateur sera en mesure de :

- Conserver et manipuler le kit de cartouche Xpert Breast Cancer STRAT4
- Conserver et manipuler le kit de lyse Xpert FFPE
- Suivre les précautions correctes de sécurité en laboratoire
- Traiter et transporter les échantillons
- Effectuer la préparation de la cartouche et réaliser le test
- Rapporter les divers résultats générés par le logiciel
- Comprendre la stratégie de contrôle du test

Cancer du sein



Faits concernant le cancer au sein

- Le cancer du sein est l'un des cancers les plus courants chez la femme dans le monde entier.
- Il constitue la première cause de mortalité due au cancer parmi les femmes dans les pays en développement.
- Il constitue la seconde cause de mortalité due au cancer (après le cancer du poumon) parmi les femmes dans les pays développés.
- La mortalité due au cancer du sein a diminué de 34 % depuis 1990 en grande partie en raison des traitements améliorés et de la détection précoce.

Bibliographie

American Cancer Society, Cancer Facts and Figures 2015. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2015.

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>.

American Cancer Society, Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, Atlanta, GA: American Cancer Society, 2013.

Qu'est-ce que le cancer du sein ?

- Le cancer du sein siège principalement au niveau des canaux et lobules mammaires
- Le cancer du sein peut être classé selon quatre sous-types moléculaires intrinsèques qui fournissent des informations à visée pronostique et prédictive
 - Luminal A, luminal B, HER2 enrichi et triple négatif (basal)
- Sélection du premier régime thérapeutique déterminée par l'expression de quatre biomarqueurs
 - Récepteur des oestrogènes (ER [protéine] ou ESR1 [ARNm]), récepteur de la progestérone (PR [protéine] ou PGR [ARNm]), récepteur du facteur de croissance épidermique humain (HER2 [protéine] ou ERBB2 [ARNm]), marqueur de prolifération Ki-67 (Ki67 [protéine] ou MKi67 [ARNm])
 - Pratique standard pour la caractérisation initiale de chaque patiente atteinte de cancer du sein
 - Les biomarqueurs sont à la fois pronostiques et prédictifs
- Les méthodes actuelles pour la mesure des biomarqueurs incluent :
 - Immunohistochimie (IHC) pour évaluer l'expression des protéines
 - Hybridation in situ en fluorescence (FISH) pour détecter l'amplification du gène (HER2 seulement)

Bibliographie

de Matos LL, Trufelli DC, Luongo de Matos MG, da Silva Pinhal MA. Immunohistochemistry as an Important Tool in Biomarkers Detection and Clinical Practice. Biomarker Insights 2010;5, 9-20.

Le besoin :

- Temps de rendu de résultat plus rapide
 - Actuellement, le rendu des résultats prend plusieurs jours. La réduction du délai avant l'instauration du traitement pour les femmes nouvellement diagnostiquées avec le cancer du sein est un avantage pour le GX.
- Procédure plus normalisée et moins subjective qui est plus facile à réaliser
 - L'immunohistochimie (IHC) et la coloration par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) peuvent être subjectives et difficiles à normaliser entre les laboratoires. Pour l'IHC, tous les anticorps ne sont pas égaux.
- Alternative moins coûteuse
 - Le matériel de coloration et les réactifs peuvent être coûteux
- Amélioration de la prise en charge du patient
 - Permet d'effectuer les analyses de laboratoire plus près du patient et d'obtenir des résultats plus rapides
 - Permet aux anatomopathologistes de contrôler les étapes de l'analyse, en limitant le recours aux analyses par un laboratoire de référence
 - Probablement la seule solution réaliste pour les patientes dans les pays en développement, où l'IHC est très difficile et coûteuse. La méthode FISH n'est pas disponible aux patientes dans les pays en développement.

La solution :

- Plus de contrôle pour l'anatomopathologiste
 - Optimisation de l'effectif en laboratoire – Reproductibilité élevée, utilisation et formation faciles
 - Le test peut être effectué au laboratoire d'histopathologie ou clinique
- Subjectivité réduite par comparaison à l'IHC
 - Excellente concordance avec les normes reconnues – concordance globale de 90 % pour les 4 marqueurs.
 - Sortie continue sans résultats équivoques
 - Résultats faciles à interpréter
- Amélioration potentielle du flux de travail
 - Résultats pertinents – Temps de rendu de résultat rapide en 2 heures environ
 - Accès libre véritable
- Procédure de lyse simplifiée pour FFPE
 - Kit facile à utiliser, emballage pratique
- Contrôles externes disponibles sur le marché*

La solution Cepheid



- Mesure de quatre cibles d'ARNm (ESR1, PGR, ERBB2 et MKi67).
- Le gène de référence CYFIP1 (protéine 1 cytoplasmique interagissant avec FMR1) fonctionne comme contrôle d'adéquation de l'échantillon et sert à normaliser les taux d'expression de l'ARNm.
- Facile et simple à utiliser
- Système de cartouche close réduisant au minimum le risque de contamination
- 3 contrôles internes pour chaque échantillon
 - Contrôle de vérification de la sonde (CVS)
 - Contrôle interne Cepheid (CIC)
 - Contrôle d'adéquation de l'échantillon (CAE)

Xpert[®] Breast Cancer STRAT4



Usage prévu*

Xpert Breast Cancer STRAT4 est un test semi-quantitatif basé sur la réaction en chaîne de la polymérase avec les valeurs seuil qualitatives des ARNm pour le récepteur des œstrogènes (ESR1), le récepteur de la progestérone (PGR), le récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (ERBB2) et le marqueur de prolifération Ki-67 (MKi67) isolés du tissu d'un cancer invasif du sein, fixé au formol et inclus en paraffine (FFPE). L'ARN est extrait d'une région enrichie en tumeur d'une coupe de tissu microscopique tel qu'identifié par un anatomopathologiste. Le test est prévu pour être utilisé conjointement à d'autres données cliniques et d'analyse dans la classification des tissus du cancer du sein selon le statut des récepteurs hormonaux, le statut du récepteur HER2 et le statut des marqueurs de prolifération. Le test est destiné à être utilisé avec le système GeneXpert®, qui inclut l'isolement de l'ARN du tissu FFPE ainsi que l'amplification et la détection des séquences cibles à l'intérieur de la cartouche.

Le test Xpert Breast Cancer STRAT4 n'est pas destiné à être utilisé comme :

- Un prédicteur de la sévérité de la maladie
- Un dispositif autonome pour les tests diagnostiques du cancer du sein
- Un dispositif d'aide au pronostic de maladie récurrente

Indications d'emploi : Le test est destiné à être utilisé dans l'évaluation des niveaux d'ARNm de ESR1, PGR, ERBB2 et MKi67 dans les tissus de carcinome mammaire invasif provenant de patientes et préparés sous forme d'échantillons FFPE, et pour faciliter l'évaluation clinique conjointement à d'autres données d'analyse.

*CE-IVD. Dispositif médical in vitro.

Exigences : système et réactifs

Systemes GeneXpert

- Instrument GeneXpert 6 couleurs
- Logiciel GeneXpert version 4.7b ou ultérieure
- Logiciel Xpertise version 6.4b ou ultérieure

Kits de test (CE-IVD)

- GXBCSTRAT4-CE-10

Matériel nécessaire, mais non fourni

- Kit de lyse Xpert® FFPE, n° de référence GXFFPE-LYSIS-CE-10
- Éthanol à $\geq 95\%$
- Mélangeur Vortex
- Pipettes et embouts de pipette à filtre anti-aérosol capables de pipetter 5, 20, 260, 520 et 1 200 μl
- Bloc chauffant 80 °C pour accueillir les tubes pour microcentrifugeuse de 1,5 ml
- Microcentrifugeuse pour centrifuger les tubes de 1,5 ml

Composants du kit Xpert Breast Cancer STRAT4

	Xpert Breast Cancer STRAT4
Numéro de référence	GXBCSTRAT4-CE-10
Tests par kit	10
Contenu par cartouche de test	Billes de réactif
	Réactifs d'éluion et de rinçage
CD du kit	Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF) – .gxa
	Instructions pour l'importation du test
	Notice (PDF)
	Fichier de rapport du logiciel ONCore Software – .onc
Conservation	2 °C à 28 °C



Les cartouches contiennent des substances qui présentent un danger chimique ; veuillez consulter la notice et la fiche de données de sécurité pour des informations plus détaillées.

Composants du kit de lyse Xpert FFPE

Kit de lyse Xpert FFPE	
Numéro de référence	GXFFPE-LYSIS-CE-10
Tests par kit	10
Tubes de lyse (1,5 ml)	10
Flacons pour échantillon (5 ml)	10
réactif de lyse FFPE	13 ml
Protéinase K (PK)	250 µl
Conservation	2 °C à 28 °C



Les kits contiennent des substances qui présentent un danger chimique ; veuillez consulter la notice et la fiche de données de sécurité pour des informations plus détaillées.

Bonnes pratiques de laboratoire

Configuration du laboratoire de PCR

- Préparation de la cartouche/du réactif → Ajout de l'échantillon → Détection

Conservation des échantillons et des réactifs

- Conserver les échantillons séparément des réactifs pour éviter de contaminer les réactifs.

Matériel

- Utiliser des embouts de pipette avec filtre, si nécessaire.
- Suivre les recommandations du fabricant pour l'étalonnage et la maintenance du matériel de laboratoire.



Bonnes pratiques de laboratoire, suite

Nettoyage

- Nettoyer les surfaces de travail avec une dilution d'eau de Javel domestique* au 1/10, puis avec une solution d'éthanol à 70 %. Essuyer les surfaces de travail pour les sécher.

Personnel

- Porter une blouse propre et des gants.
- Changer de gants entre les échantillons.

Paillasse

- Nettoyer régulièrement la paillasse.
- Veiller à ce qu'il n'y ait pas de poussière à l'arrière de l'instrument.

* La concentration finale en chlore actif doit être de 0,5 %, quelle que soit la concentration de l'eau de Javel de ménage dans votre pays



Conservation et manipulation du Xpert Breast Cancer STRAT4 et du kit de lyse Xpert FFPE

- Conserver les kits de tests entre 2 °C et 28 °C.
- Ne pas utiliser de cartouches périmées.
- Chaque cartouche à usage unique est utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser des cartouches usagées.
- N'ouvrir la cartouche qu'au moment de l'utiliser.
 - Démarrer le test dans les 30 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon à la cartouche.
 - La stabilité intégrée pour les systèmes Infinity est de 6 heures.
- Éviter toute contamination croisée pendant les étapes de manipulation des échantillons.
 - Changer de gants d'un échantillon à l'autre.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée ou qui a été agitée.
 - L'agitation ou la chute de la cartouche après l'ouverture de son couvercle peut entraîner des résultats non valides.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.
- Ne pas utiliser une cartouche qui a fui.
- Ne pas substituer les réactifs par d'autres réactifs.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le contenu est devenu visiblement trouble ou a changé de couleur.



Avertissements et précautions :

- Utiliser des techniques appropriées lors de la manipulation des échantillons et des réactifs du kit pour éviter ou réduire au minimum tout risque de contamination par RNase et/ou DNase.
- Lors de la manipulation d'échantillons, ne pas réutiliser les lames de macrodissection, les embouts de pipette, les tubes ou flacons pour éviter tout risque de contamination croisée.
- Le retrait (grattage) incomplet de la région tumorale de la lame pour la préparation du lysat FFPE peut entraîner une quantité de matériel insuffisante pour le test et donc un taux de résultats indéterminés/NON VALIDES (INVALID) plus élevé que prévu.
- Traiter tous les échantillons biologiques, y compris les cartouches usagées, avec les précautions habituelles.
- Le tissu FFPE doit être traité avec le kit de lyse Xpert FFPE.
- Porter des gants de protection jetables, des blouses de laboratoire et des lunettes de protection pour manipuler les échantillons et les réactifs.
- Respecter les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.

Préparation de l'échantillon



Exigences relatives au tissu FFPE

- Les coupes/rubans de tissu FFPE peuvent être utilisés.
- Observer les directives ASCO/CAP pour la préparation du tissu FFPE.
- Les échantillons doivent être fixés uniquement dans une solution de formaldéhyde à 10 % neutre tamponnée pendant 6 à 72 heures.
- Le lysat FFPE doit être préparé à partir du bloc de tumeur FFPE ayant la plus grande région de carcinome mammaire approprié (cellularité tumorale de 30 % au minimum).
- Si la macrodissection est requise, utiliser une lame colorée à l'HE adjacente du bloc de tumeur FFPE comme guide pour marquer la lame non colorée.
- Pour les échantillons tumoraux de moins de 10 mm² contenant moins de 30 % de tumeur, l'utilisation d'une procédure de lysat concentré ou de plus d'une coupe de 4 à 5 µm peut être nécessaire pour obtenir des résultats valides.
- La qualité de certains échantillons de tissu FFPE âgés de plus de 10 ans peut être insuffisante pour l'analyse GeneXpert (l'ARM se dégrade avec le temps, même dans les tissus FFPE).

Préparation des lames/rubans, suite

1. Réaliser deux sections de tissu et placer chacune d'entre elles sur une lame de verre distincte.
2. Colorer une des lames à l'HE.
3. Les anatomopathologistes examinent la lame HE pour distinguer les zones tumorales et non tumorales.
4. En présence de zones tumorales appropriées (> 30 % et sans CCIS), l'intégralité de la section de la seconde lame peut être utilisée. En option, elle peut être macrodisséquée pour retirer des zones spécifiques à tester.



Tissu FFPE



Image par Thomas Sherwood



Image par Cepheid

Instructions de grattage

Étiqueter un tube de lyse de 1,5 ml (fourni) pour chaque échantillon à traiter.

- Si aucune macrodissection n'est requise :
 - En utilisant une lame de rasoir neuve ou un scalpel neuf pour chaque échantillon de tissu à traiter, extraire (gratter) totalement la coupe de tumeur invasive du tissu de la lame et la placer dans le tube de lyse de 1,5 ml étiqueté.
- Si une macrodissection est requise :
 - Examiner la lame colorée à l'HE (anatomopathologiste).
 - Identifier (et délimiter) la zone tumorale à sélectionner pour le test. Se rapporter à la notice du test Xpert pour connaître le nombre de lames ou la cellularité tumorale minimale nécessaire.
 - Marquer la zone tumorale à utiliser pour le test sur la face arrière de la lame ou des lames non colorées en les alignant avec la lame colorée à l'HE correspondante et en y transposant le contour de la zone identifiée.
 - Procéder à la macrodissection (anatomopathologiste ou technicien).
 - En utilisant une lame de rasoir neuve ou un scalpel neuf pour chaque échantillon de tissu à traiter, extraire (gratter) totalement le tissu de tumeur invasive au contour délimité de la lame (voir la figure 1) et le placer dans le tube de lyse de 1,5 ml étiqueté.

Figure 1 : Exemple d'extraction de tissu correcte (recommandé) et incorrecte (non recommandé) d'une lame



Images par Cepheid

Carte de préparation de lysat Xpert FFPE

Préparation du lysat FFPE* Xpert® *FFPE - Fixé au formol et inclus dans la paraffine

Consulter la notice pour obtenir les instructions détaillées, les précautions et les avertissements.

Pour obtenir un exemplaire de la FDS, consulter le site www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com

Service d'assistance technique de Cepheid
Bureau aux Etats-Unis
(888) 838-3222, choix 2
techsupport@cepheid.com

Bureau en Europe
+33 563 82 53 19
support@cepheideurope.com



- 1 Prélever la coupe de tissu ou la macrodissection de la lame par grattage.



- 2 Transférer le tissu au tube de 1,5 ml fourni.



- 3 Ajouter 1,2 ml de réactif de lyse FFPE au tube de 1,5 ml contenant le tissu FFPE.



- 4 Ajouter 20 µl de Protéinase K (PK) au même tube de 1,5 ml. Fermer le bouchon du tube.



- 5 Mélanger au vortex pendant 5 secondes à vitesse maximale.



- 6 Centrifuger brièvement le tube pour retirer le liquide du couvercle.



- 7 Incuber l'échantillon à 80 °C pendant 30 minutes.



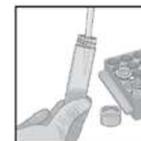
- 8 Mélanger au vortex pendant 5 secondes à vitesse maximale.



- 9 Centrifuger brièvement le tube pour retirer le liquide du couvercle.



- 10 Transférer tout le contenu dans le flacon d'échantillon de 5 ml fourni.



- 11 Ajouter 1,2 ml d'éthanol ≥ 95 % au flacon pour échantillon de 5 ml.



- 12 Fermer le flacon avec le bouchon et mélanger l'échantillon au vortex pendant 15 secondes à vitesse maximale.



REMARQUE : Le lysat préparé avec l'éthanol reste stable jusqu'à 1 semaine à une température comprise entre 2 et 8 °C. La stabilité est maintenue jusqu'à 4 semaines à une température ≤ -20 °C.

Traitement des échantillons de tissu FFPE

1. Préchauffer un bloc chauffant à 80 °C.
2. Ajouter 1,2 ml de réactif de lyse FFPE au tube de 1,5 ml contenant la coupe ou le ruban de coupes FFPE.
3. Ajouter 20 µl de Protéinase K (PK) au même tube de lyse de 1,5 ml.
4. Fermer le bouchon du tube.
5. Mélanger l'échantillon au vortex en continu pendant 5 secondes à vitesse maximale.
6. Centrifuger brièvement le tube pour retirer le liquide du couvercle.
7. Incuber le tube de lyse de 1,5 ml contenant l'échantillon et le réactif de lyse dans un bloc chauffant réglé sur 80 °C pendant 30 minutes.
8. Mélanger l'échantillon au vortex en continu pendant 5 secondes à vitesse maximale.
9. Centrifuger brièvement le tube pour retirer le liquide du couvercle.
10. À l'aide d'une pipette, transférer la totalité du contenu (~1,2 ml) dans un flacon pour échantillon de 5 ml (fourni).
11. Marquer l'identité de l'échantillon à être traité sur chaque flacon.
12. Ajouter 1,2 ml d'éthanol ≥ 95 % au flacon pour échantillon de 5 ml.
13. Fermer le flacon avec le bouchon et mélanger l'échantillon au vortex en continu pendant 15 secondes à vitesse maximale.

Transport et conservation des échantillons Xpert Breast Cancer STRAT4

Échantillon	Température de transport et de conservation (°C)	Durée de conservation
Ruban, dans un tube de 1,5 ml	2-8 °C	2 semaines
Section de lame	2-8 °C	1 mois
Section(s) de macrodissection, dans un tube de 1,5 ml	2-8 °C	2 semaines
Lysat préparé, avec de l'éthanol	2-8 °C	1 semaine
	≤ -20 °C	1 mois
	-80 °C	Long terme

Carte de préparation de cartouche Xpert Breast Cancer STRAT4

Préparation de la cartouche Xpert® Breast Cancer STRAT4

Consulter la notice pour obtenir les instructions détaillées, les précautions et les avertissements.

Pour obtenir un exemplaire de la FDS, consulter le site www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com

Service d'assistance technique de Cepheid
Bureau aux États-Unis
(888) 838-3222, choix 2
techsupport@cepheid.com

Bureau en Europe
+33 563 82 53 19
support@cepheid europe.com



REMARQUE : Si la préparation du lysat FFPE, décrite au verso de cette carte, vient d'être terminée, l'étape 2 des instructions ci-dessous peut être ignorée.

- 1 Se procurer une cartouche et un lysat FFPE préparé pour chaque échantillon devant être resté.



- 2 Mélanger le lysat FFPE au vortex pendant 15 secondes.



- 3 Ouvrir le couvercle de la cartouche Xpert.



- 4 Pipetter 520 µl du lysat préparé à partir du flacon de 5 ml et le transférer dans la chambre échantillon.



- 5 Fermer le couvercle de la cartouche Xpert.



- 6 Démarrer le test dans le délai précisé dans la notice.

Procédure du test - Préparation de la cartouche

**Si un instrument
GeneXpert Dx
est utilisé :**

- Démarrer le test dans les 30 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon préparé à la cartouche.

**Si un instrument
GeneXpert
Infinity
est utilisé :**

- Commander le test et à mettre la cartouche sur le tapis roulant dans les 30 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon préparé à la cartouche.
- La durée de conservation intégrée restante est suivie par le logiciel Xpertise[®], de sorte que les tests soient exécutés avant la péremption de ces éléments, qui a lieu au bout de 6 heures à bord.

Étapes de test automatisées Xpert Breast Cancer STRAT4





Élimination des déchets

- Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés capables de transmettre des agents infectieux exigeant des précautions standard.
- Suivre les consignes environnementales d'élimination des déchets de l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs non utilisés. Ces matériaux peuvent présenter des caractéristiques de déchets chimiques dangereux exigeant des procédures d'élimination spécifiques au niveau national ou régional.
- En l'absence de directives claires de la réglementation nationale ou régionale sur l'élimination appropriée, les échantillons biologiques et les cartouches usagées doivent être éliminés conformément aux directives de manipulation et d'élimination des déchets médicaux de l'OMS [Organisation mondiale de la Santé].

Contrôle qualité

*Consulter la notice pour obtenir
des informations complètes*



Contrôle du système de l'instrument – contrôle de l'état

- Le contrôle du système d'instrument vérifie les composants optiques, la température du module et l'intégrité mécanique de chaque cartouche.
 - Si les contrôles du système échouent, un résultat de test ERREUR (ERROR) sera indiqué.



Stratégie de contrôle du test de Cepheid

- Chaque cartouche Xpert est un dispositif de test clos.
 - Cepheid a conçu des contrôles internes permettant au système de détecter des modes de défaillance spécifiques au sein de chaque cartouche.
 - Contrôle des réactifs : Contrôle de vérification de la sonde (CVS)
 - Contrôle d'adéquation de l'échantillon : Gène de référence (CYFIP1)
 - Contrôle interne Cepheid : Armored RNA (CIC)



Contrôle de vérification de la sonde – (CVS)

- Après la préparation de l'échantillon, la reconstitution des billes, le remplissage des tubes réactionnels (avant les cycles thermiques), plusieurs mesures de fluorescence sont effectuées à différentes températures.
- Les mesures sont comparées aux valeurs par défaut, établies par Cepheid.
- Les contrôles de vérification de la sonde détectent :
 - Absence du réactif spécifique de la cible (Target Specific Reagent, TSR) et/ou des billes de réactif enzymatique, qui contiennent toutes les amorces, les sondes et les matrices de contrôle interne
 - Reconstitution incomplète des réactifs
 - Remplissage incomplet des tubes réactionnels
 - Dégradation des sondes
- Si la vérification de la sonde échoue, le résultat de test rendu sera ERREUR (ERROR).

Contrôle d'adéquation de l'échantillon – CAE

- Le contrôle d'adéquation de l'échantillon (CAE) assure que des cellules humaines et de l'ARN humain ont été ajoutés à la chambre d'échantillon. Le CAE réussit s'il répond aux critères d'acceptation validés.
- Contrôle CYFIP1 : Protéine 1 cytoplasmique interagissant avec FMR1
 - Ce gène de référence est utilisé pour normaliser les niveaux d'expression pour les récepteurs ESR1, PGR, ERBB2 et MKi67.
 - Il sert également de contrôle d'adéquation de l'échantillon (CAE) assurant que l'échantillon contient une quantité suffisante d'ARN.
- Un signal CYFIP1 minime est requis pour que le résultat du test soit valide.
- Un CAE négatif peut être imputable aux raisons suivantes :
 - ARN insuffisant
 - Lyse inefficace de l'échantillon
 - Prélèvement incorrect de l'échantillon
 - Mélange insuffisant de l'échantillon
- En cas d'échec du CAE dans un échantillon négatif pour l'analyte, un résultat de test NON VALIDE (INVALID) sera indiqué.

Contrôle interne Cepheid – CIC

- Le contrôle interne Cepheid (CIC) permet d'assurer que l'échantillon a été correctement traité.
- Le CIC est un Armored RNA®.
- Vérifie que la réactions de RT-PCR s'est déroulée avec une inhibition minimale.

Contrôles externes STRAT4*

Fournisseur	Nom du contrôle	Description	Configuration	Temp. de conservation
Horizon DX** www.horizondiscovery.com	STRAT4 FFPE Control A	ESR1 POS PGR POS ERBB2 NÉG MKi67 POS	Lames à coupes	4 °C
	STRAT4 FFPE Control B	ESR1 POS/NÉG PGR POS ERBB2 POS MKi67 POS/NÉG	Lames à coupes	4 °C
	STRAT4 FFPE Control C	ESR1 NÉG PGR NÉG ERBB2 NÉG MKi67 POS/NÉG	Lames à coupes	4 °C

*Les contrôles externes sont encore en développement.

** Autre revendeur : ATCC

Noter : Pour les échantillons négatifs, un manque de cellules humaines produira un résultat NON VALIDE (INVALID)

Des contrôles externes peuvent être utilisés conformément aux exigences des organisations d'accréditation locales, régionales et nationales, selon les besoins

Configuration des contrôles externes FFPE STRAT 4

Le contrôle FFPE Xpert Breast Cancer STRAT4			
Cibles	STRAT4 FFPE Control A	STRAT4 FFPE Control B	STRAT4 FFPE Control C
ESR1	pos	pos (près du seuil)	nég
PGR	pos	pos	nég
ERBB2	nég	pos	nég
MKi67	pos	pos (près du seuil)	pos



Image par Cepheid



Emballage :
Contrôles FFPE, instructions, certificat d'analyse

Analyse des résultats

*Consulter la notice pour obtenir
des informations complètes*



Résultats

- Xpert Breast Cancer STRAT4 donne un résultat de test POSITIF (POSITIVE) ou NÉGATIF (NEGATIVE) pour chaque cible.
- Le rapport final indique le résultat individuel de chaque cible.
- Une cible est considérée comme Positive quand elle présente une surexpression d'ARNm par rapport au gène de référence.
- Pour qu'ESR1 et ERBB2 produisent un résultat valide, le contrôle CYFIP1 doit produire un résultat RÉUSSITE (PASS).
- Pour que PGR et MKi67 produisent un résultat valide, le contrôle CYFIP1 doit produire un résultat RÉUSSITE (PASS) et le CYFIP1 alternatif doit être POS.
- Si le CYFIP1 alternatif est NEG, PGR et MKi67 produisent un résultat Indéterminé (Indeterminate).

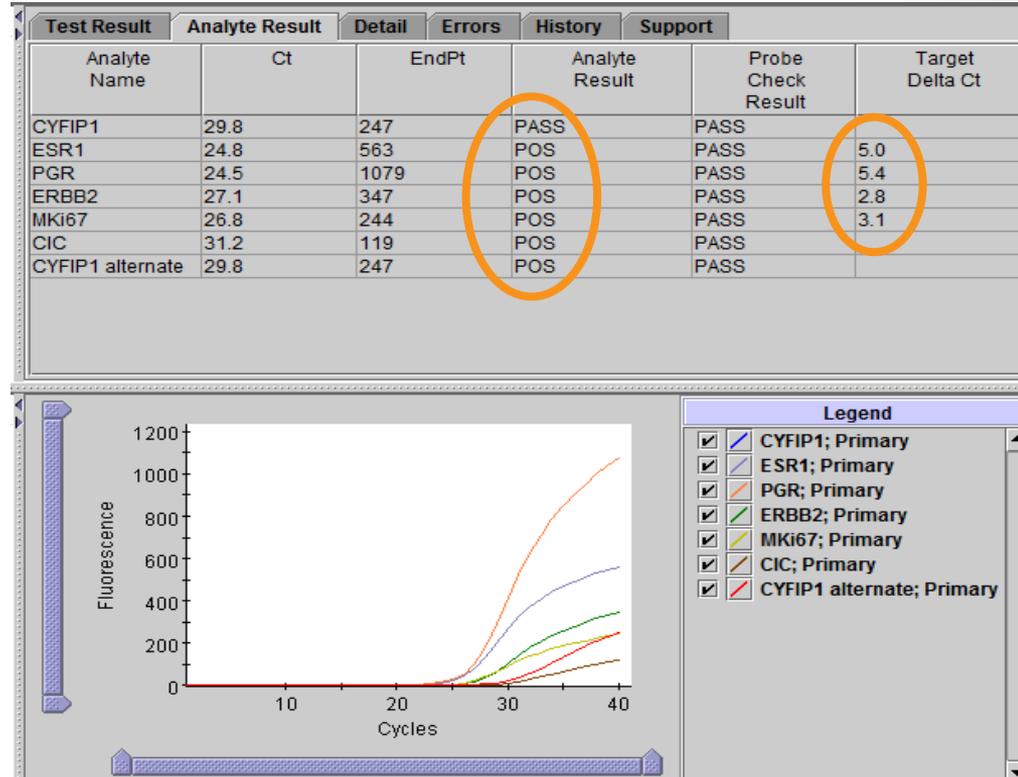
Sommaire des résultats

Résultat affiché	CYFIP1	CYFIP1 alternatif	CIC
ESR1 POSITIF (ESR1 POSITIVE)	RÉUSSITE (PASS)	POS / NÉG	POS / NÉG
ESR1 NÉGATIF (ESR1 NEGATIVE)	RÉUSSITE (PASS)	POS / NÉG	POS / NÉG
PGR POSITIF (PGR POSITIVE)	RÉUSSITE (PASS)	POS / NÉG	POS / NÉG
PGR NÉGATIF (PGR NEGATIVE)	RÉUSSITE (PASS)	POS	POS / NÉG
ERBB2 POSITIF (ERBB2 POSITIVE)	RÉUSSITE (PASS)	POS / NÉG	POS / NÉG
ERBB2 NÉGATIF (ERBB2 NEGATIVE)	RÉUSSITE (PASS)	POS / NÉG	POS / NÉG
MKi67 POSITIF (MKi67 POSITIVE)	RÉUSSITE (PASS)	POS / NÉG	POS / NÉG
MKi67 NÉGATIF (MKi67 NEGATIVE)	RÉUSSITE (PASS)	POS	POS / NÉG
PGR INDÉTERMINÉ (PGR INDETERMINATE)	RÉUSSITE (PASS)	NÉG	POS / NÉG
MKi67 INDÉTERMINÉ (MKi67 INDETERMINATE)	RÉUSSITE (PASS)	NÉG	POS / NÉG
RÉPÉTER LE TEST (REPEAT TEST)	RÉUSSITE (PASS)	POS / NÉG	NÉG
NON VALIDE (INVALID)	ÉCHEC (FAIL)	NÉG	POS / NÉG
ERREUR (ERROR)	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)
PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

POSITIF (POSITIVE)

Test Result
ESR1 POSITIVE;
PGR POSITIVE;
ERBB2 POSITIVE;
MKi67 POSITIVE

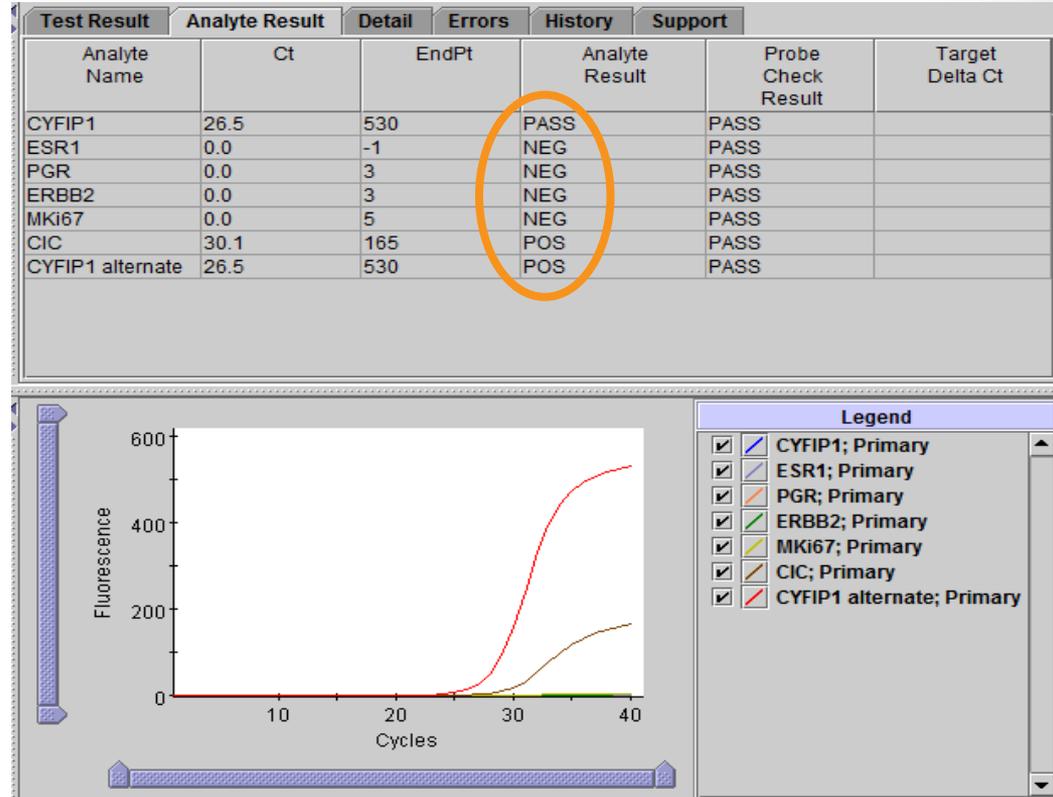
- Le transcrit d'ARNm cible est surexprimé et présente un delta Ct au-dessus du réglage du seuil
- CYFIP1 RÉUSSITE (PASS) ; le transcrit d'ARNm présente une valeur Ct dans la plage valide et la valeur finale est au-dessus du réglage du seuil
- CVS RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi



NÉGATIF (NEGATIVE)

Test Result
ESR1 NEGATIVE;
PGR NEGATIVE;
ERBB2 NEGATIVE;
MKi67 NEGATIVE

- Le transcrit d'ARNm cible n'est pas surexprimé et présente un Ct Delta en dessous du réglage du seuil.
- CYFIP1 RÉUSSITE (PASS) ; le transcrit d'ARNm présente une valeur Ct dans la plage valide et la valeur finale est au-dessus du réglage du seuil.
- CVS RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi



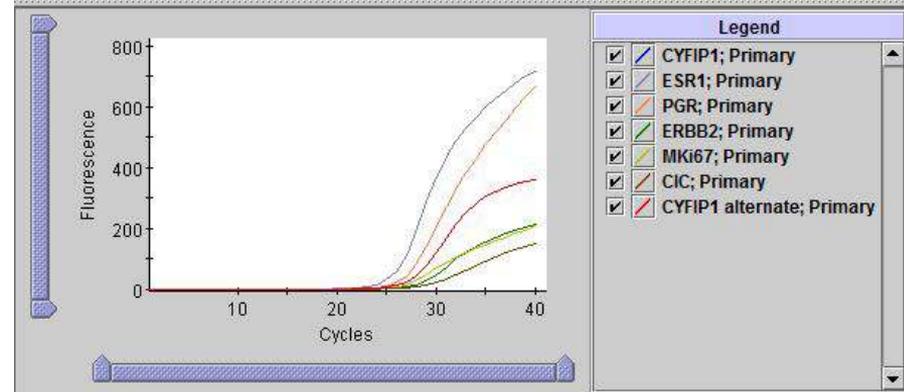
Résultats mixtes

- La cible est positive ou négative pour la surexpression de l'ARNm par rapport au gène de référence.
- Le transcrit d'ARNm de CYFIP1 présente une valeur Ct dans la plage valide et la valeur finale est au-dessus du réglage du seuil
- CVS RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi

Test Result

ESR1 POSITIVE;
PGR POSITIVE;
ERBB2 NEGATIVE;
MKi67 POSITIVE

Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	Target Delta Ct
CYFIP1	26.8	360	PASS	PASS	
ESR1	24.3	717	POS	PASS	2.5
PGR	25.9	668	POS	PASS	0.8
ERBB2	28.5	214	NEG	PASS	-1.7
MKi67	27.4	206	POS	PASS	-0.7
CIC	29.9	152	POS	PASS	
CYFIP1 alternate	26.8	360	POS	PASS	



Logiciel ONCore

- Le logiciel OnCore est installé sur l'ordinateur Gx



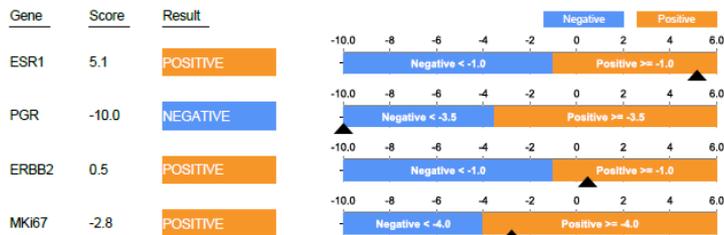
- Transforme les résultats GxDx ou Xpertise en rapport.
- Fournit une représentation graphique des données.
- Montre la proximité du résultat de chaque cible par rapport aux seuils.
- Nécessite un fichier .onc exclusif qui se situe sur le disque des ADF du test

Patient ID:
Patient ID 2:

Sample ID: c_BC.350003.4x
Reagent Lot: 01001
Start Date: 11/22/16 09:22:24

Test Result:

ESR1 POSITIVE
PGR NEGATIVE
ERBB2 POSITIVE
MKI67 POSITIVE



Comments:



Raisons pour répéter le test avec le lysat concentré

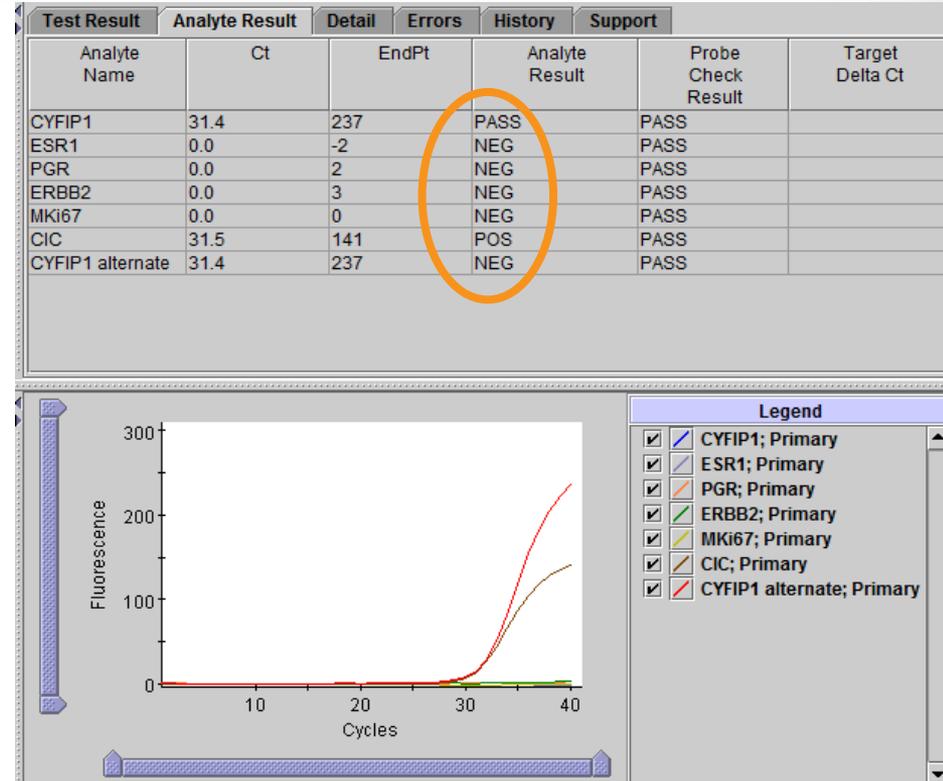
- Un résultat **INDÉTERMINÉ (INDETERMINATE)** indique que l'échantillon ne contenait pas suffisamment de matériel pour que l'analyse de **PGR et/ou MKi67 produise un résultat.**
- Un résultat **NON VALIDE (INVALID)** indique l'échec du contrôle de référence.
 - L'échantillon n'a pas été traité correctement
 - La PCR a été inhibée
 - La qualité de l'ARN prélevé dans la tumeur était inadéquate
- Que ce soit l'un ou l'autre de ces deux cas, répéter le test avec un lysat FFPE plus concentré.

INDÉTERMINÉ (INDETERMINATE)

Test Result	ESR1 NEGATIVE; PGR INDETERMINATE; ERBB2 NEGATIVE; MKi67 INDETERMINATE
-------------	--

Le niveau d'expression des ARNm de PGR et/ou MKi67 ne peut pas être déterminé.

- CYFIP1 alternatif (CYFIP1 alternate) – NÉG ; le cycle seuil (Ct) n'était pas dans la plage valide ou la valeur finale était en dessous du réglage du seuil
- CVS RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi

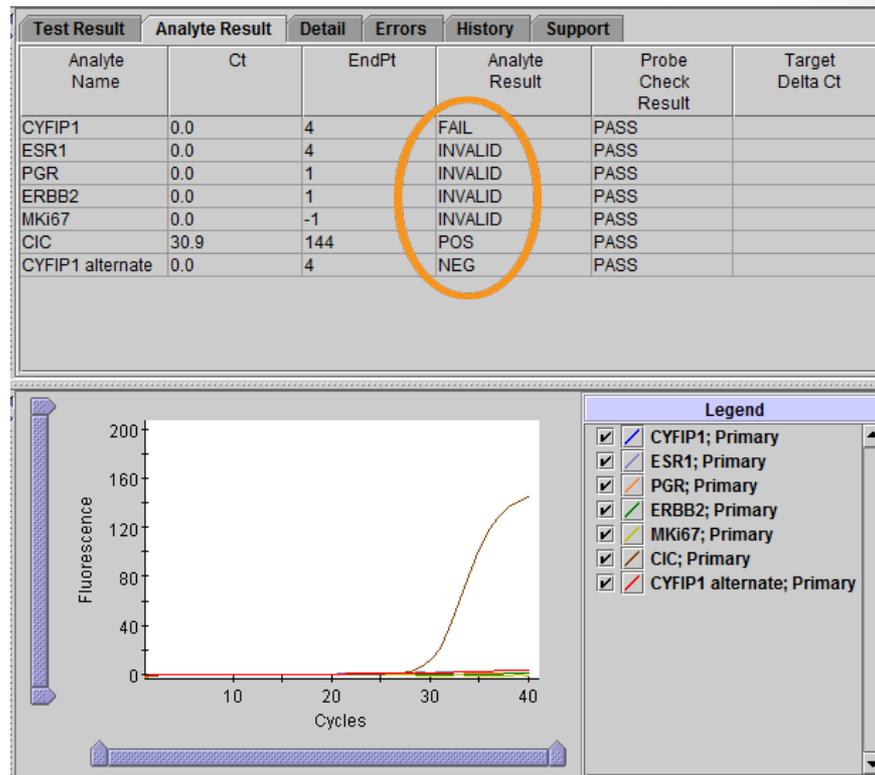


NON VALIDE (INVALID)

Test Result **INVALID**

Les niveaux d'expression des ARNm cibles ne peuvent pas être déterminés.

- CYFIP1 - ÉCHEC (FAIL) – Le cycle seuil (Ct) n'était pas dans la plage valide ou la valeur finale était en dessous du réglage du seuil.
- CYFIP1 alternatif (CYFIP1 alternate) - NÉG
- CVS RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi



Procédure de retest Xpert Breast Cancer STRAT4 - pour les résultats Indéterminés (Indeterminate) ou Non valides (Invalid)

PROCÉDURE DE RETEST Xpert® Breast Cancer STRAT4

pour les résultats Indéterminé (Indeterminate) ou Non valide (Invalid) – Préparation du lysat FFPE concentré

Consulter la notice pour obtenir les instructions détaillées, les précautions et les avertissements.

Pour obtenir un exemplaire de la FDS, consulter le site www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com

Service d'assistance technique de Cepheid
Bureau aux États-Unis
(888) 838-3222, choix 2
techsupport@cepheid.com

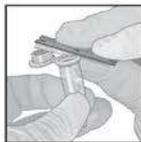
Bureau en Europe
+33 563 82 53 19
support@cepheidurope.com



- 1 Prélever la coupe de tissu ou la macrodissection de la lame par grattage.



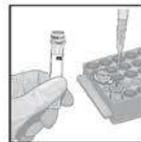
- 2 Transférer le tissu au tube de 1,5 ml fourni.



- 3 Ajouter 260 µl de réactif de lyse FFPE au tube de 1,5 ml contenant le tissu FFPE.



- 4 Ajouter 5 µl de Protéinase K (PK) au même tube de 1,5 ml. Fermer le bouchon du tube.



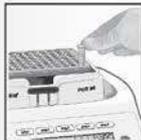
- 5 Mélanger au vortex pendant 5 secondes à vitesse maximale.



- 6 Centrifuger brièvement le tube pour retirer le liquide du couvercle.



- 7 Incuber l'échantillon à 80 °C pendant 30 minutes.



- 8 Mélanger au vortex pendant 5 secondes à vitesse maximale.



- 9 Centrifuger brièvement le tube pour retirer le liquide du couvercle.



- 10 Ajouter 260 µl d'éthanol à ≥ 95 % au même tube de lyse de 1,5 ml.



- 11 Fermer le bouchon et mélanger au vortex pendant 15 secondes à vitesse maximale.



- 12 Centrifuger brièvement le tube pour retirer le liquide du couvercle.



REMARQUE : Le lysat préparé avec l'éthanol reste stable jusqu'à 1 semaine à une température comprise entre 2 et 8 °C. La stabilité est maintenue jusqu'à 4 semaines à une température ≤ -20 °C.



Raisons pour répéter le test avec le lysat conservé

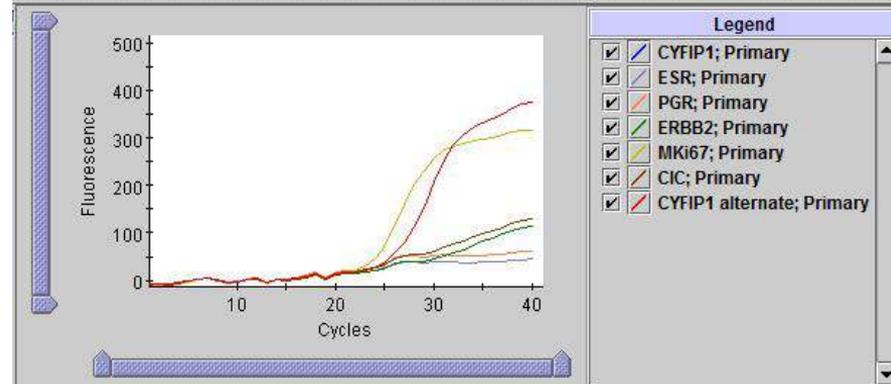
- Un résultat **RÉPÉTER LE TEST (REPEAT TEST)** indique que le contrôle interne (CIC) a échoué. L'échantillon n'a pas été traité correctement.
- Un résultat **ERREUR (ERROR)** indique que le contrôle de vérification de la sonde a échoué, possiblement en raison d'un tube réactionnel mal rempli, de la détection d'un problème d'intégrité de la sonde, d'un dépassement des limites de pression maximale ou de la détection d'une erreur de positionnement de vanne.
- Un résultat **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)** indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours ou une panne de courant s'est produite.
- Dans ces cas, répéter le test en utilisant une nouvelle quantité aliquote de 520 µl du lysat FFPE conservé.

RÉPÉTER LE TEST (REPEAT TEST)

Test Result REPEAT TEST

- Les niveaux d'expression des ARNm cibles ne peuvent pas être déterminés.
- CIC – NÉG ; le contrôle interne présente un cycle seuil (Ct) en dehors de la plage valide.

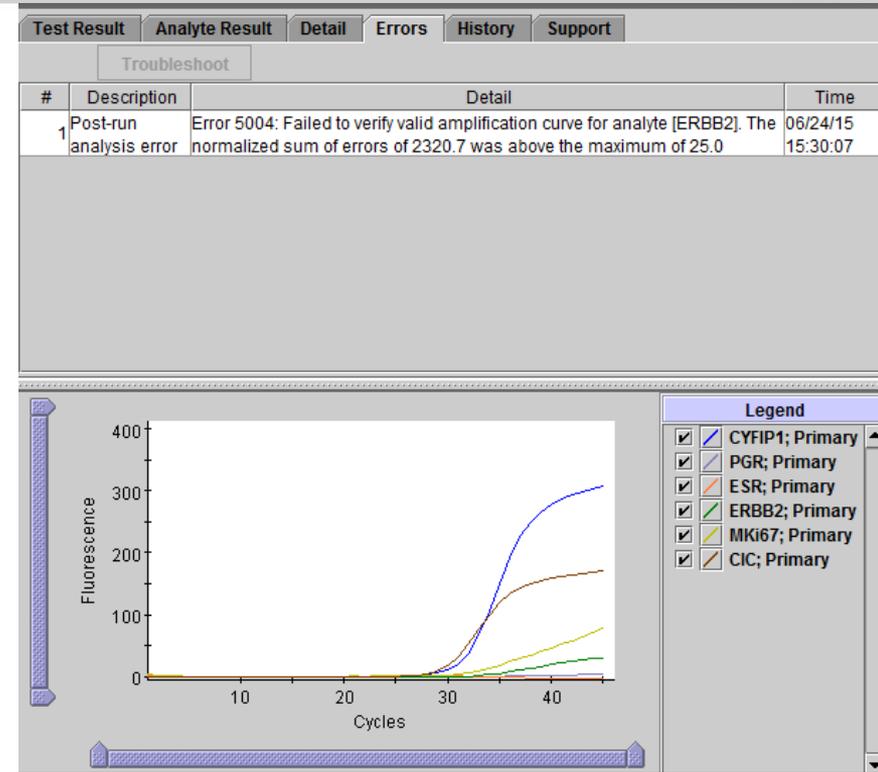
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	Target Delta Ct
CYFIP1	22.8	375	PASS	PASS	
ESR	23.7	44	POS	PASS	-0.9
PGR	20.8	60	POS	PASS	2.0
ERBB2	24.2	113	NEG	PASS	-1.4
MKI67	21.7	317	POS	PASS	1.1
CIC	22.3	131	NEG	PASS	
CYFIP1 alternate	22.8	375	POS	PASS	



ERREUR (ERROR)

Test Result **ERROR**

- Les niveaux d'expression des ARNm cibles ne peuvent pas être déterminés.
 - Vérification de la sonde ÉCHEC (FAIL)* ; échec d'un ou de tous les résultats de vérification de la sonde.
- * Si la vérification de la sonde a réussi, l'erreur est due au dépassement de la limite de pression maximale, à une erreur d'ajustement de la courbe ou à la défaillance d'un composant du système.



PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

Test Result **NO RESULT**

- Les niveaux d'expression des ARNm cibles ne peuvent pas être déterminés.
- Un résultat PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) indique que les données recueillies étaient insuffisantes.
 - Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours.
- CVS – S.O. (sans objet)

Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	Target Delta Ct
CYFIP1	0.0	0	NO RESULT	NA	
ESR1	0.0	0	NO RESULT	NA	
PGR	0.0	0	NO RESULT	NA	
ERBB2	0.0	0	NO RESULT	NA	
MKi67	0.0	0	NO RESULT	NA	
CIC	0.0	0	NO RESULT	NA	
CYFIP1 alternate	0.0	0	NO RESULT	NA	

<No Data Available>

Procédure de retest Xpert Breast Cancer STRAT4 – pour les résultats Pas de résultat (No Result), Répéter le test (Repeat Test) ou Erreur (Error)

PROCÉDURE DE RETEST Xpert® Breast Cancer STRAT4

pour les résultats Pas de résultat (No Result), Répéter le test (Repeat Test) ou Erreur (Error)

Consulter la notice pour obtenir les instructions détaillées, les précautions et les avertissements.

Pour obtenir un exemplaire de la FDS, consulter le site www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com

Service d'assistance technique de Cepheid
Bureau aux États-Unis
(888) 838-3222, choix 2
techsupport@cepheid.com

Bureau en Europe
+33 563 82 53 19
support@cepheideurope.com



1 Se procurer une nouvelle cartouche et le lysat FFPE conservé pour chaque échantillon devant être retesté.



2 Mélanger le lysat FFPE au vortex pendant 15 secondes.



3 Ouvrir le couvercle de la cartouche Xpert.



4 Pipeter 520 µl du lysat conservé à partir du flacon de 5 ml et le transférer dans la chambre échantillon.



5 Fermer le couvercle de la cartouche Xpert.



6 Démarrer le test dans le délai précisé dans la notice.



Facteurs affectant négativement les résultats

- **Échantillon inapproprié ou traitement incorrect du lysat FFPE**
 - Consulter la notice pour la préparation du lysat.
 - Pour les tests contenant un CAE, un échantillon ne contenant pas de cellules humaines entraînera un résultat de test non valide si l'analyse est négatif.
- **Transport ou conservation incorrect de l'échantillon prélevé ou du lysat FFPE**
 - Les conditions de conservation et de transport sont spécifiques de l'échantillon.
 - Consulter la notice pour obtenir des consignes de manipulation appropriée.
- **Procédure de test incorrecte**
 - Une modification des procédures de test peut altérer les performances du test.
 - Une erreur technique ou une confusion entre les échantillons peut avoir un impact sur les résultats du test.
 - Il est nécessaire de bien respecter la notice pour éviter des résultats erronés.
- **Substance interférente**
 - Des résultats de test faussement négatifs ou des résultats non valides peuvent être observés en cas de présence de substances interférentes.
- **Nombre de cellules humaines ou contenu tumoral de l'échantillon insuffisants**

Limites

- Consulter la notice pour obtenir la liste complète des limites.



Assistance technique

- Cepheid offre une assistance technique sur place, par téléphone, par fax et par e-mail.
- Les coordonnées des bureaux Cepheid sont disponibles sur notre site Internet à <http://www.cepheid.com/support>
 - Sélectionner l'option Nous contacter (Contact Us) pour accéder aux coordonnées
 - Remplir le formulaire en ligne pour Créer un dossier d'assistance technique (Create a Support Case)
- Avant de contacter le service d'assistance technique de Cepheid, recueillir les informations suivantes :
 - Nom du produit
 - Numéro de lot
 - Numéro de série de l'instrument
 - Messages d'erreur (le cas échéant)
 - Version logicielle et, le cas échéant, le « Service Tag » (numéro d'étiquette de service de l'ordinateur)

Merci.



www.Cepheid.com