

Formation technique au test Xpert® HCV Viral Load

Utilisation CE-IVD uniquement

Centre de formation Cepheid



Programme de la formation

- **Xpert® HCV Viral Load**
 - Utilité clinique
 - Réactifs
 - Prélèvement des échantillons
 - Conservation et manipulation du kit
 - Préparation de la cartouche
 - Contrôles qualité
 - Analyse des résultats
- **Discussion**



Objectifs de la formation

- **À la fin de la formation, l'utilisateur sera en mesure de :**
 - Conserver et manipuler de manière adéquate le kit de cartouches Xpert® HCV Viral Load et les kits de prélèvement d'échantillons
 - Suivre les consignes de sécurité en vigueur dans le laboratoire
 - Prélever et transporter un échantillon approprié
 - Préparer une cartouche et exécuter le test
 - Rapporter les divers résultats générés par le logiciel
 - Comprendre la stratégie de contrôle du test

La solution Cepheid



- Détecte et quantifie la cible
 - ARN du VHC
 - Résultats dans la plage linéaire de 10 à 100 000 000 UI/ml
- Contrôles internes intégrés pour chaque échantillon
 - Adéquation du volume de l'échantillon (AVE)
 - Contrôle de vérification des sondes (CVS)
 - Références internes quantitatives (Internal Quantitative Standards) RIQ-H et RIQ-B
- Délai approximatif de rendu des résultats
 - 105 minutes
- Système de cartouches closes réduisant au minimum le risque de contamination
- Résultats à la demande, 24 heures sur 24 et 7 jours sur 7
- Accès direct

Utilisation prévue

- Le test Xpert® HCV VL, effectué sur les systèmes GeneXpert®, est conçu pour la quantification rapide de l'ARN du virus de l'hépatite C (VHC) dans le sérum ou le plasma (EDTA) de patients infectés par le VHC. Le test emploie la technologie automatisée de réaction en chaîne de la polymérase après transcription inverse (RT-PCR), qui utilise la fluorescence pour détecter l'ARN d'intérêt et ainsi quantifier le VHC.
- Le test Xpert HCV VL quantifie les génotypes 1 à 6 du VHC dans la fourchette de 10 à 100 000 000 UI/ml.
- Le test Xpert HCV VL est destiné à faciliter la prise en charge des patients infectés par le VHC qui sont sous traitement antiviral.
- Le test mesure les niveaux d'ARN du VHC au démarrage et au cours du traitement. Il peut être utilisé pour prédire la réponse virologique soutenue et non soutenue au traitement anti-VHC.

Utilisation prévue - Remarques

- Les résultats du test Xpert HCV VL peuvent également être utilisés pour **confirmer une infection par le VHC chez les sujets positifs pour les anti-VHC**. Chez les sujets positifs pour les anti-VHC ayant un test négatif pour l'ARN du VHC, l'utilisation d'un autre test de dépistage des anticorps anti-VHC peut être envisagée pour distinguer l'exposition réelle au VHC de la fausse positivité biologique.
- **Des tests répétés de l'ARN** du VHC peuvent être indiqués chez les patients ayant été exposés au VHC au cours des 6 derniers mois ou présentant des signes cliniques d'une infection par le VHC.
- Le test n'est **pas** destiné à être utilisé comme test de dépistage du VHC dans les dons.

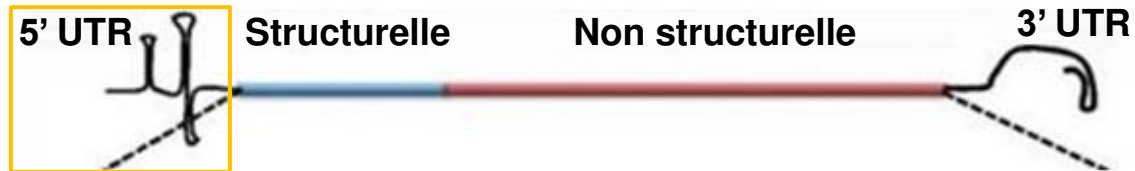
Cibles et sondes

Cibles

- Références internes quantitatives (Internal Quantitative Standards, RIQ-H et RIQ-B)
- Région la mieux conservée du génome ARN du VHC

Sondes

- 3 sondes (VHC, RIQ-H et RIQ-B)



Prérequis pour le test Xpert® HCV Viral Load

Systemes GeneXpert

- Logiciel GeneXpert Dx **v4.7b** ou ultérieure
- Logiciel Xpertise **v6.4b** ou ultérieure

Kits de test (CE-IVD)

- GXHCV-VL-CE-10

Prélèvement des échantillons

- Sang total prélevé dans des tubes de prélèvement (K2-EDTA, EDTA-PPT ou de sérum)

Autres fournitures

- Équipement de protection individuelle (EPI)
- Eau de Javel au 1:10
- Éthanol à 70 % ou éthanol dénaturé à 70 %
- Agitateur à Vortex
- Centrifugeuse pour la préparation du plasma

Facultatif

- Onduleur/dispositif de protection contre les surtensions
- Imprimante

Bonnes pratiques de laboratoire

Équipement de protection individuelle (EPI)

- Porter une blouse de laboratoire et des gants propres
- Pendant la préparation des cartouches, changer de gants entre les échantillons

Paillasse

- Nettoyer systématiquement les surfaces de travail avec :
 - ✓ eau de Javel domestique, diluée au 1:10.
 - ✓ solution d'éthanol à 70 %
- Après le nettoyage, s'assurer que les surfaces de travail sont sèches

Conservation des échantillons et des kits

- Conserver les échantillons à l'écart du kit pour prévenir toute contamination

Matériel

- Utiliser des embouts à filtre lorsque cela est recommandé
- Suivre les exigences du fabricant pour l'étalonnage et la maintenance du matériel

Manipulation des kits




Contenu du kit Xpert® HCV Viral Load

Numéro de référence	GXHCV-VL-CE-10
Cartouches par kit	10
CD du kit	Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF)
	Instructions pour l'importation du test
	Notice (PDF)
Pipettes de transfert	10 (1 ml)
Conservation	2 à 28 °C



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

Conservation et manipulation du kit Xpert® HCV Viral Load

- Conserver les cartouches et les réactifs du test HCV VL à une température comprise entre 2 et 28 °C 
- Respecter les consignes de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques
- Ne pas utiliser de tubes de réactif de prélèvement qui n'ont pas été validés par Cepheid
- Ouvrir le couvercle de la cartouche de test uniquement au moment d'ajouter l'échantillon, puis fermer le couvercle et continuer le traitement

Avertissements et mises en garde

- Ne pas agiter la cartouche
- Ne pas utiliser une cartouche... :
 - si elle semble humide, si elle a fui ou si l'étanchéité de son couvercle semble avoir été compromise
 - si elle semble endommagée
 - qui est tombée après son retrait de l'emballage
 - qui est tombée ou qui a été agitée après y avoir ajouté l'échantillon
 - dont le tube réactionnel est endommagé
 - qui a déjà été utilisée : chaque cartouche est à usage unique pour effectuer un seul test
 - qui est périmée
- Ne pas réutiliser les pipettes jetables usagées



Éliminer les cartouches et les réactifs du test Xpert conformément aux recommandations de l'établissement et du pays pour l'élimination des matières dangereuses

Avertissements et mises en garde

- Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés comme étant capables de transmettre des agents infectieux et exigent des précautions standard.
- Suivre les procédures environnementales d'élimination des déchets en vigueur dans l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs inutilisés. Ce matériel peut 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].

Xpert® HCV Viral Load - Limites

- Ce test n'est pas destiné à être utilisé comme **test de dépistage dans les dons**
- Les performances du test Xpert HCV VL n'ont pas été démontrées pour des échantillons autres que ceux validés, c.-à-d., le **plasma, le sérum**
- Les performances du test Xpert HCV VL n'ont pas été évaluées avec des échantillons traités par des méthodes autres que celles décrites dans la notice
- Le non-respect des procédures de test peut produire des résultats erronés
- La présence d'inhibiteurs dans les échantillons peut produire des résultats non valides

Prélèvement, conservation et transport des échantillons



Xpert® HCV Viral Load - Prélèvement

- **Sang total**

- Prélever les échantillons de sang total dans des tubes EDTA, EDTA-PPT ou de sérum conformément aux directives du fabricant.

Tube EDTA



Tube de sérum

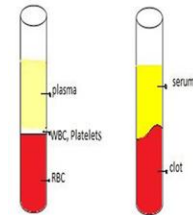


Tube d'héparine




- **Plasma/sérum**


- Centrifuger l'échantillon pour séparer le plasma/sérum et les globules rouges selon les instructions du fabricant
- Préparer au minimum 1,2 ml de plasma/sérum



Prélèvement, transport et conservation des échantillons

	Avant de réaliser le test	Température (°C)	Durée de conservation
	Sang total prélevé sur anticoagulant EDTA	+15 / +35 °C	24 heures
		+2 / +8 °C	72 heures

Les échantillons de plasma restent stables pendant trois cycles de congélation/décongélation au maximum.

	Avant de réaliser le test	Température (°C)	Durée de conservation
	Plasma et sérum	+15 / +35 °C	24 heures
		+2 / +8 °C	3 jours
		-70 / -18 °C	6 semaines

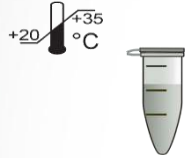
Préparation des cartouches



Préparation de la cartouche Xpert® HCV VL

Échantillon : Plasma/Sérum

1



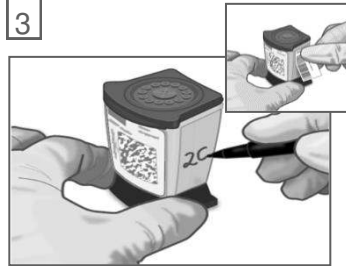
Si des échantillons congelés ou réfrigérés sont utilisés, les laisser à température ambiante jusqu'à ce qu'ils soient complètement dégelés et équilibrés à la température ambiante

2



Agiter au vortex l'échantillon équilibré pendant 15 secondes. Si l'échantillon est trouble, le centrifuger pendant quelques secondes

3



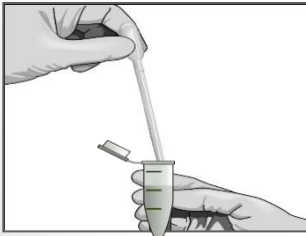
Étiqueter le côté de la cartouche avec le n° d'identification de l'échantillon

4



Ouvrir le couvercle de la cartouche

5



Pipeter au moins 1 ml de l'échantillon à l'aide de la pipette fournie*

6



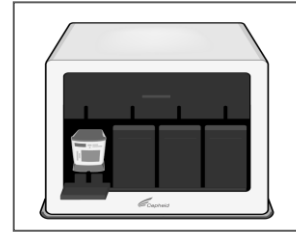
Vider lentement la pipette dans la chambre à échantillon de la cartouche

7



Bien fermer le couvercle. Démarrer le test dans le délai précisé dans la notice.

8



Démarrer le test sur votre instrument GeneXpert



*Pipette de transfert du test HCV VL

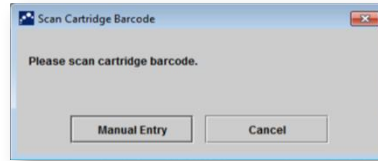
Exécuter un test

1 Créer un test

GeneXpert



2 Lire les messages du code-barres : N° d'identification de la cartouche / du patient et/ou de l'échantillon

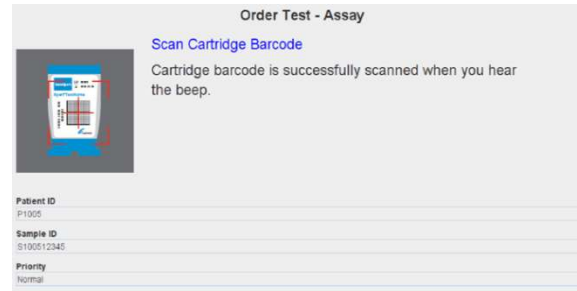


*Par défaut, ne pas cliquer sur
Saisie manuelle (Manual
Entry) ou Annuler (Cancel)*

3 Lire le code-barres



GeneXpert
Infinity



Pour des détails complets sur l'exécution d'un test, consulter la notice et les manuels d'utilisation GeneXpert Dx ou Xpertise Dx.

Créer un test sur le logiciel GeneXpert Dx

4 Remplir les champs requis

5 Le protocole de test est automatiquement sélectionné

6 Le module est sélectionné automatiquement
NE PAS LE CHANGER !

7 Cliquer sur Démarrer le test (Start Test)

8 Un voyant vert clignote sur le module Charger la cartouche dans le module et fermer la porte

Create Test

Patient ID
Sample ID
Patient ID 2
Last Name

Name
Select Assay: Xpert HCV Viral Load

Select Module: A3
Reagent Lot ID*: 16119 Expiration Date*: 2016/1/17

Test Type: Specimen
Sample Type: Other Other S

Notes

Start Test Scan Cartridge Barco



Créer un test sur le logiciel Xpertise Dx

4 Remplir les champs requis

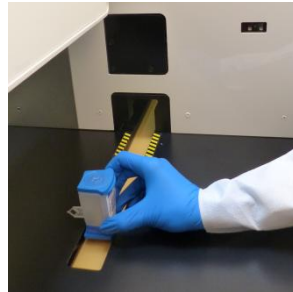
5 Le protocole de test est automatiquement sélectionné

6 Cliquer sur SOUMETTRE (SUBMIT)

7 Placer la cartouche sur le tapis roulant

Order Test - Test Information

Patient ID patientid	
Sample ID sampleid	
Last Name patient	First Name id
Assay* Xpert HCV Viral Load	
Reagent Lot ID* 12102	Cartridge S/N* 282769448
Expiration Date* 2018/11/04	Priority Normal
Test Type Specimen	
Sample Type Other	Other Sample Type
Notes	



Protocole Xpert automatisé



Contrôles qualité



- **Contrôles qualité du test Xpert HCV VL**
 - Chaque cartouche Xpert est un dispositif de test autonome
 - Cepheid a conçu des méthodes moléculaires spécifiques intégrant des contrôles internes afin de permettre au système de détecter certains modes d'échec au sein de chaque cartouche
 - Adéquation du volume de l'échantillon (AVE)
 - Contrôle de vérification des sondes (CVS)
 - Références internes quantitatives RIQ-B et RIQ-H pour la quantification de l'ARN du VHC

Contrôles qualité internes

- **Adéquation du volume de l'échantillon (AVE)**
 - Vérifie que le volume d'échantillon approprié a été ajouté à la cartouche
- **Contrôle de vérification des sondes (CVS)**
 - Avant l'étape de PCR, le signal de fluorescence est mesuré sur toutes les sondes et comparé aux paramètres d'usine par défaut à surveiller
 - réhydratation des billes
 - intégrité de la sonde
 - remplissage du tube réactionnel
 - stabilité du colorant
- **Référence interne quantitative, niveaux haut et bas (RIQ-H et RIQ-B)**
 - Résultats RIQ Bas [RIQ Low] (10^3 copies/ml) et RIQ Haut [RIQ High] (10^6 copies/ml)
 - 2 cibles Armored RNAs® non infectieuses
 - Vérifie que l'échantillon a été traité correctement
 - Détectent l'inhibition de la réaction RT-PCR associée à l'échantillon et la présence d'organismes
 - Les valeurs Ct et de fluorescence doivent toujours se situer dans la plage valide

Contrôles externes disponibles sur le marché

Thermofisher - <https://www.lifetechnologies.com>

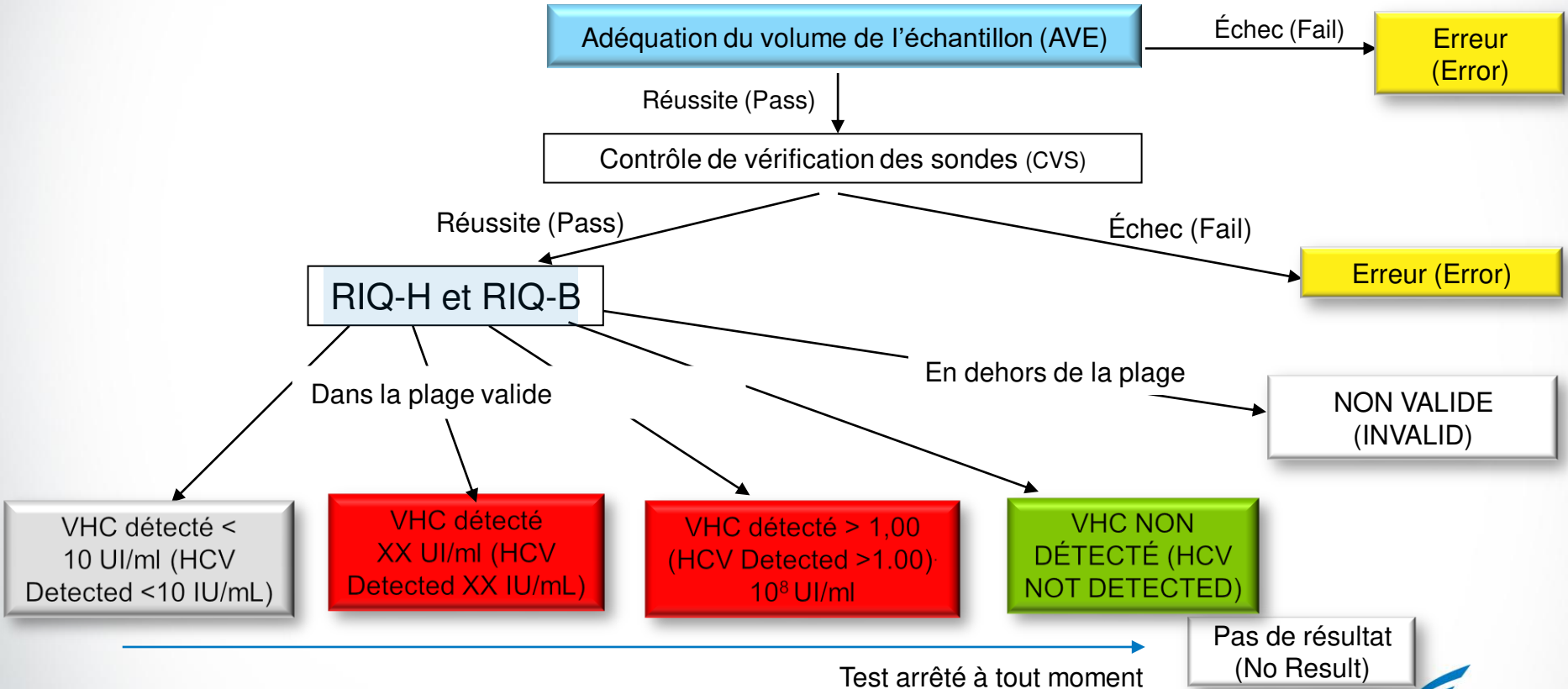
N° de référence	Description	Configuration	Conservation
963003	Positif pour le VHC Contrôle élevé	1,2 ml	- 70 °C
963002	Positif pour le VHC Contrôle moyen	1,2 ml	- 70 °C

- De nombreux fournisseurs de matériel de contrôle qualité autres que celui indiqué ci-dessus sont aussi disponibles.
- Les contrôles externes doivent être utilisés conformément aux organismes d'accréditation locaux ou régionaux, selon les besoins.

Interprétation des résultats



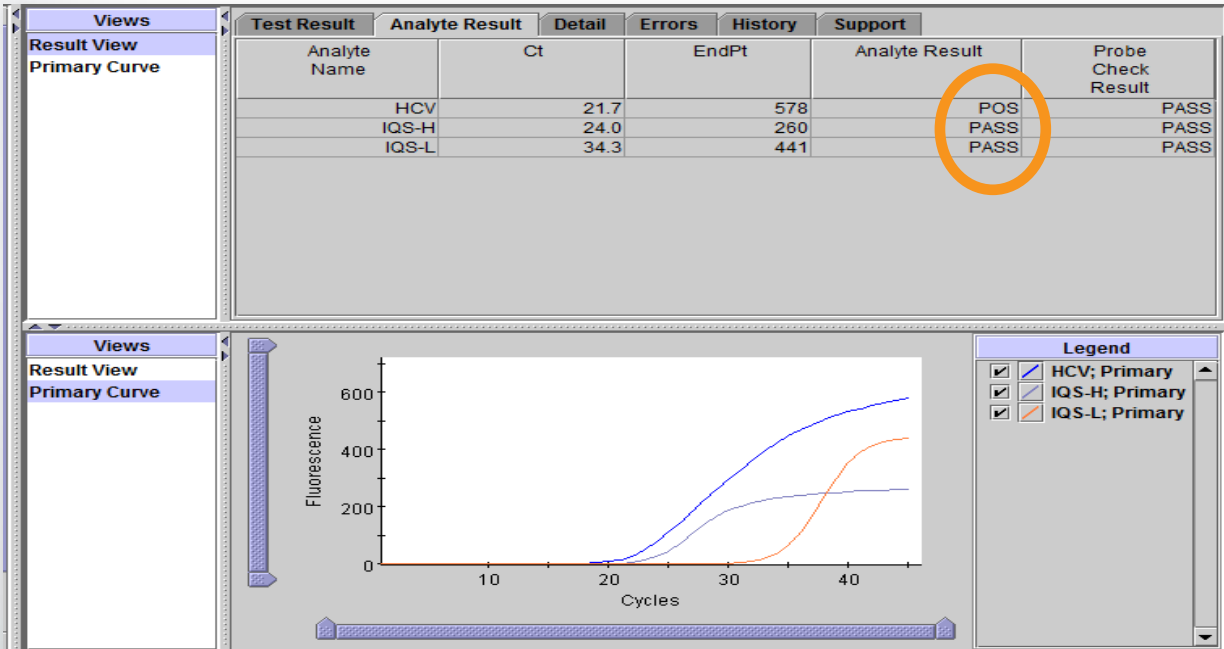
Algorithme d'interprétation des résultats



VHC DÉTECTÉ xx UI/ml (HCV DETECTED xx IU/mL)

Test Result **HCV DETECTED**

Test Result **HCV DETECTED 3.02E05 IU/mL (log 5.48)**



- Le VHC cible est détecté et rendu avec une valeur quantitative
 - L'ARN du VHC a un titre compris dans la plage linéaire du test et le critère d'évaluation est supérieur au seuil minimal
- RIQ-H : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct de la RIQ-H est dans la plage valide
- RIQ-B : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct de la RIQ-B est dans la plage valide
- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)

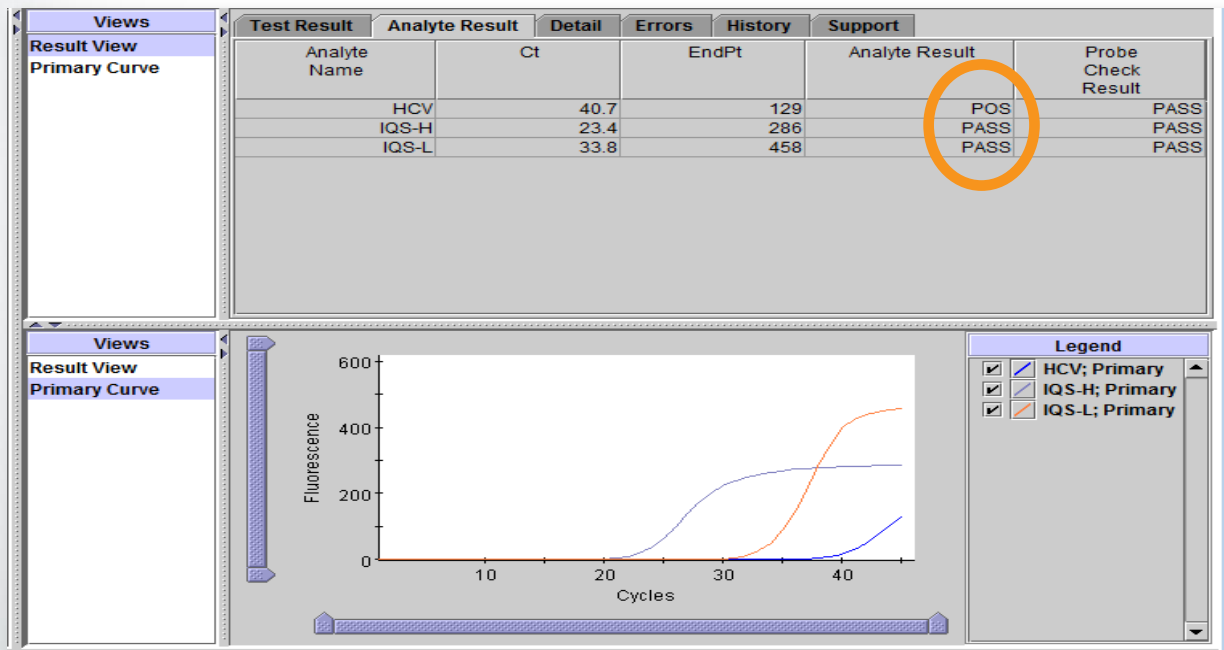
Exemple de calcul :

$$3,02E05 = 3,02 \times 10^5 = 302\,000 \text{ UI/ml}$$

VHC DÉTECTÉ <10 UI/ml

Test Result HCV DETECTED

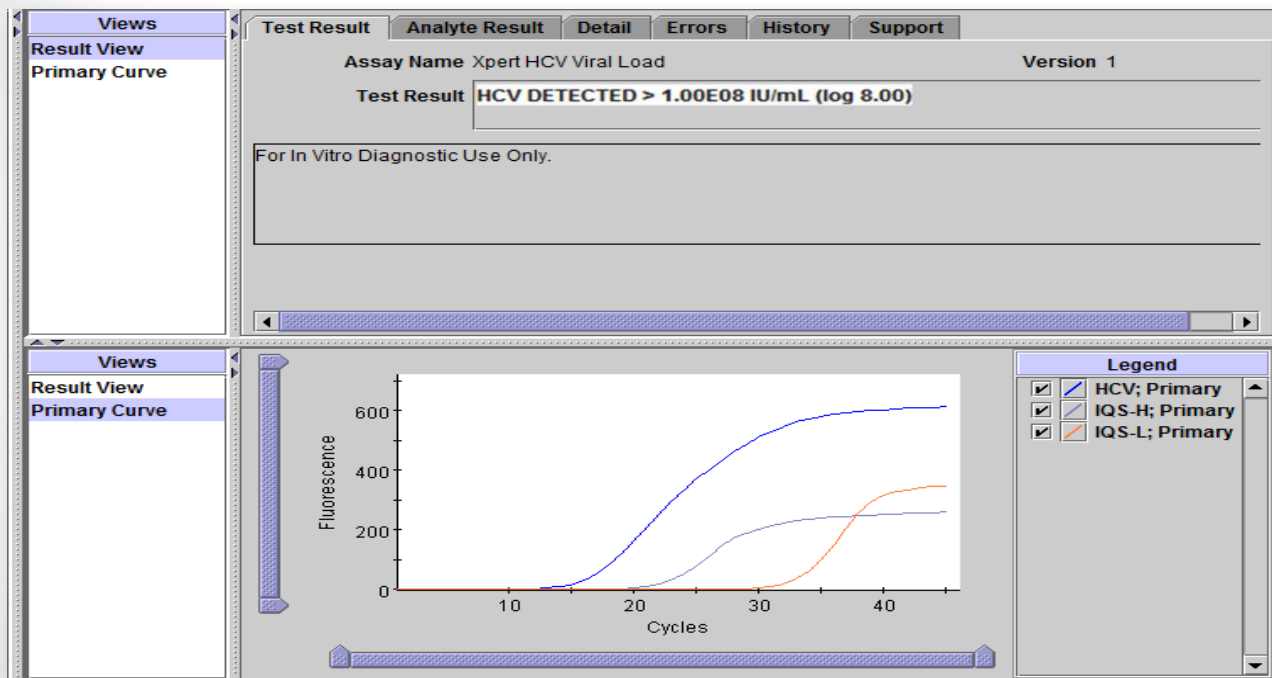
Test Result HCV DETECTED < 10 IU/mL (log 1.00)



- Le VHC cible est détecté en dessous de la plage quantitative du test
- RIQ-H : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct de la RIQ-H est dans la plage valide
- RIQ-B : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct de la RIQ-B est dans la plage valide
- Vérification des sondes : RÉUSSITE (PASS)

VHC DÉTECTÉ $>1 \times 10^8$ UI/ml

Test Result **HCV DETECTED**



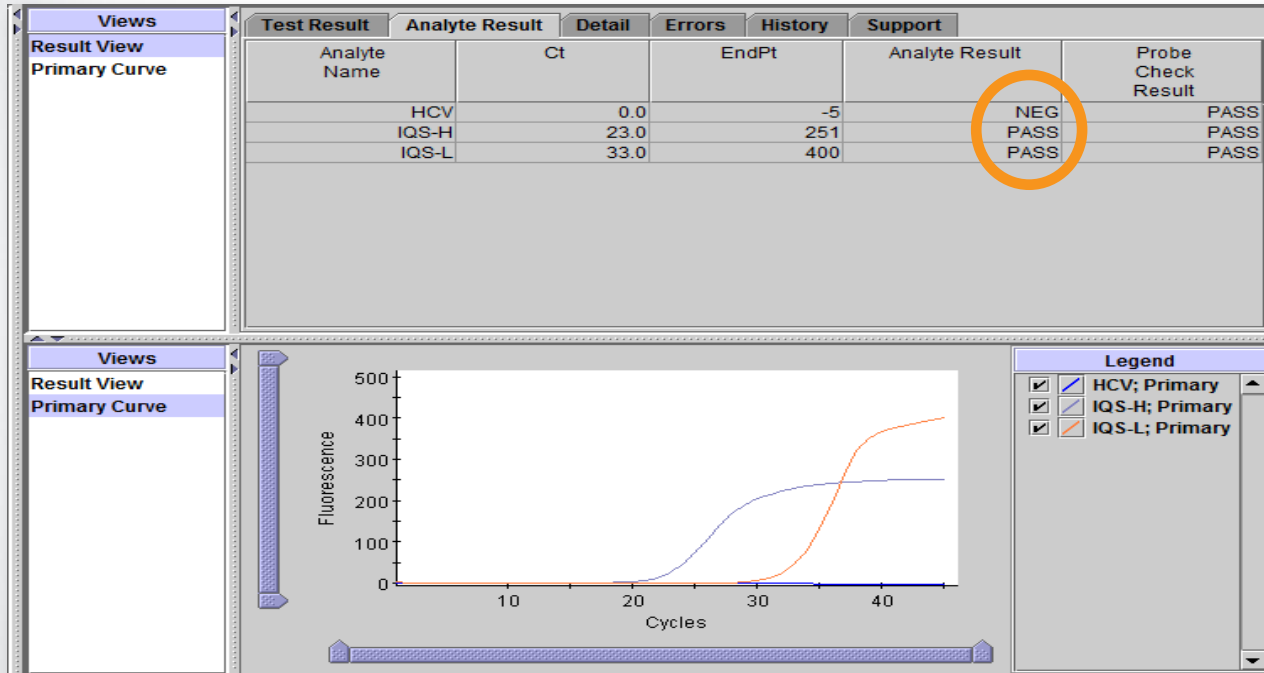
- Le VHC cible est détecté au-dessus de la plage quantitative du test
- RIQ-H : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct de la RIQ-H est dans la plage valide
- RIQ-B : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct de la RIQ-B est dans la plage valide
- Vérification des sondes : RÉUSSITE (PASS)

Exemple de calcul :

$$1 \times 10^8 = 100\,000\,000 \text{ UI/ml}$$

VHC NON DÉTECTÉ (HCV NOT DETECTED)

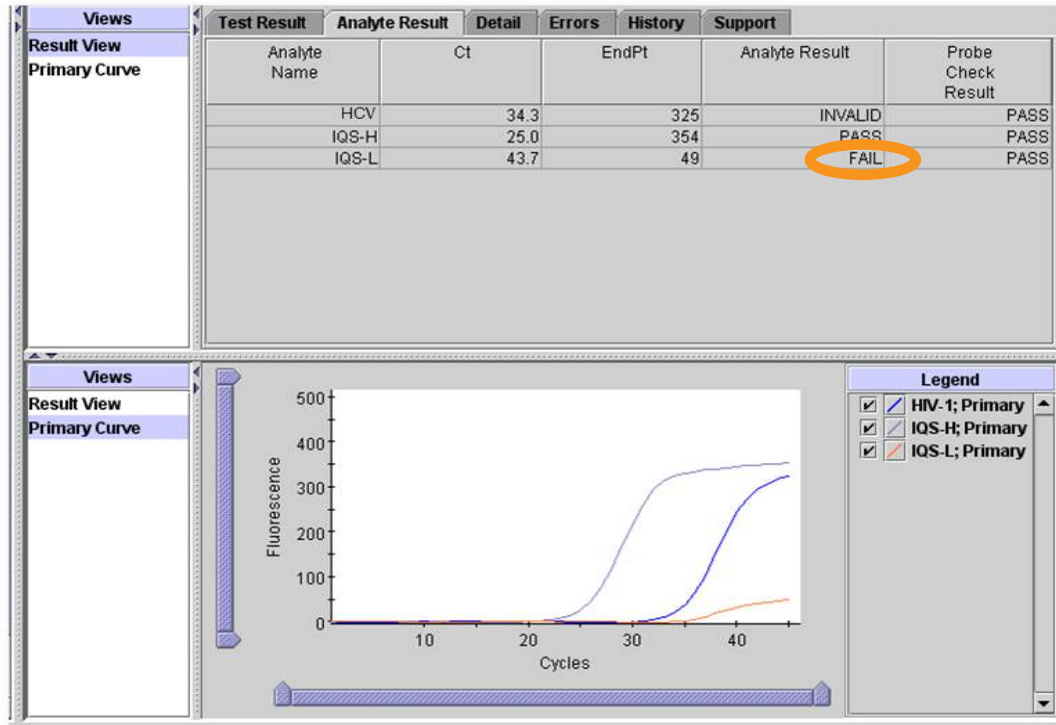
Test Result **HCV NOT DETECTED**



- Le VHC cible n'est pas détecté
- RIQ-H : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct de la RIQ-H est dans la plage valide
- RIQ-B : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct de la RIQ-B est dans la plage valide
- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)

Résultat NON VALIDE (INVALID)

Test Result **INVALID**

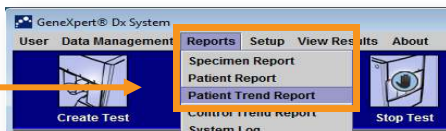


- La présence ou l'absence de l'ARN du VHC ne peut pas être déterminée
- RIQ-H et/ou RIQ-B : ÉCHEC (FAIL)
 - Les Ct (Cycle seuil) des contrôles internes quantitatifs ne sont pas dans la plage valide
 - Le critère d'évaluation est inférieur au seuil minimal défini.
- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)

Rapport d'évolution patient

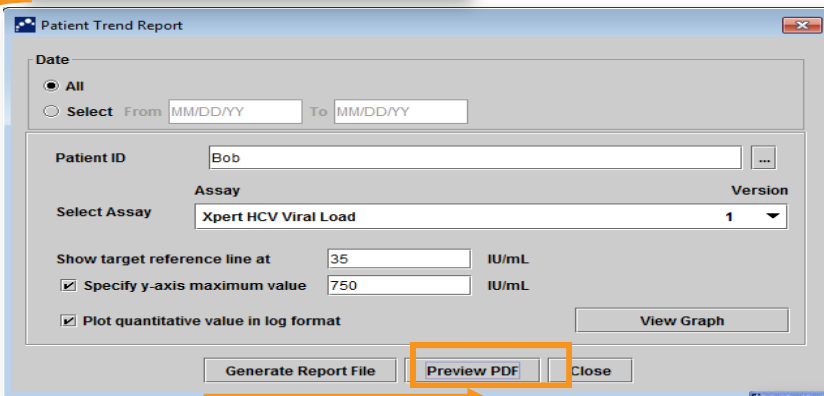
- Il est possible de surveiller un patient donné sur une période de temps en créant un rapport d'évolution

1 Sélectionner Rapports (Reports) et Rapport d'évolution patient (Patient Trend Report)



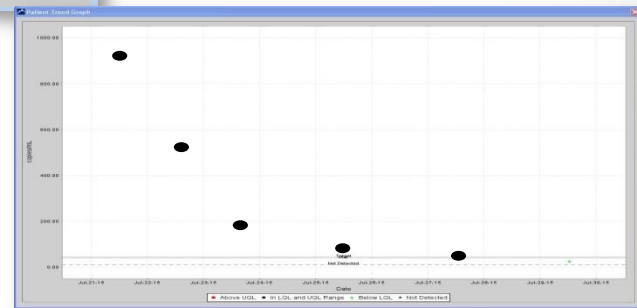
2 Choisir

- Intervalle de temps
- N° d'identification du patient (Patient ID)
- Test (Assay)
- Préférences cibles

The image shows the 'Patient Trend Report' configuration dialog box. It has several fields and options: 'Date' with 'All' selected and 'Select' options; 'Patient ID' with 'Bob' entered; 'Assay' with 'Xpert HCV Viral Load' selected and 'Version' set to '1'; 'Show target reference line at' with '35 IU/mL'; 'Specify y-axis maximum value' checked with '750 IU/mL'; and 'Plot quantitative value in log format' checked. There are buttons for 'View Graph', 'Generate Report File', 'Preview PDF', and 'Close'. The 'Preview PDF' button is highlighted with an orange box, and an arrow points from the fourth step of the instructions to it.

4 Prévisualiser le rapport

5 Afficher le rapport



Dépannage

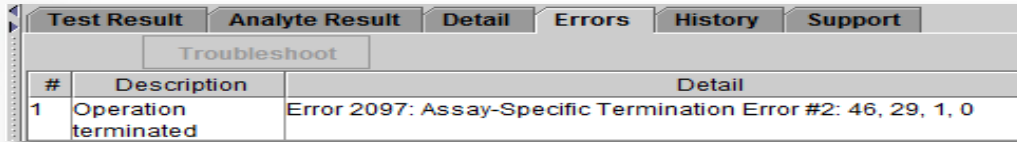


Facteurs affectant négativement les résultats

- Prélèvement incorrect de l'échantillon
 - Les performances avec d'autres dispositifs de prélèvement et d'autres types d'échantillons n'ont pas été évaluées.
- Transport ou conservation incorrect de l'échantillon prélevé
 - Les conditions de conservation et de transport sont spécifiques à l'échantillon
 - Consulter la notice pour obtenir des consignes de manipulation
- Procédure de test incorrecte
 - La modification des procédures de test peut altérer les performances du test
 - Il est nécessaire de bien respecter la notice pour éviter des résultats erronés

Erreurs 2096/2097

- **L'adéquation du volume de l'échantillon (AVE) vérifie que le volume approprié d'échantillon a été ajouté à la cartouche**

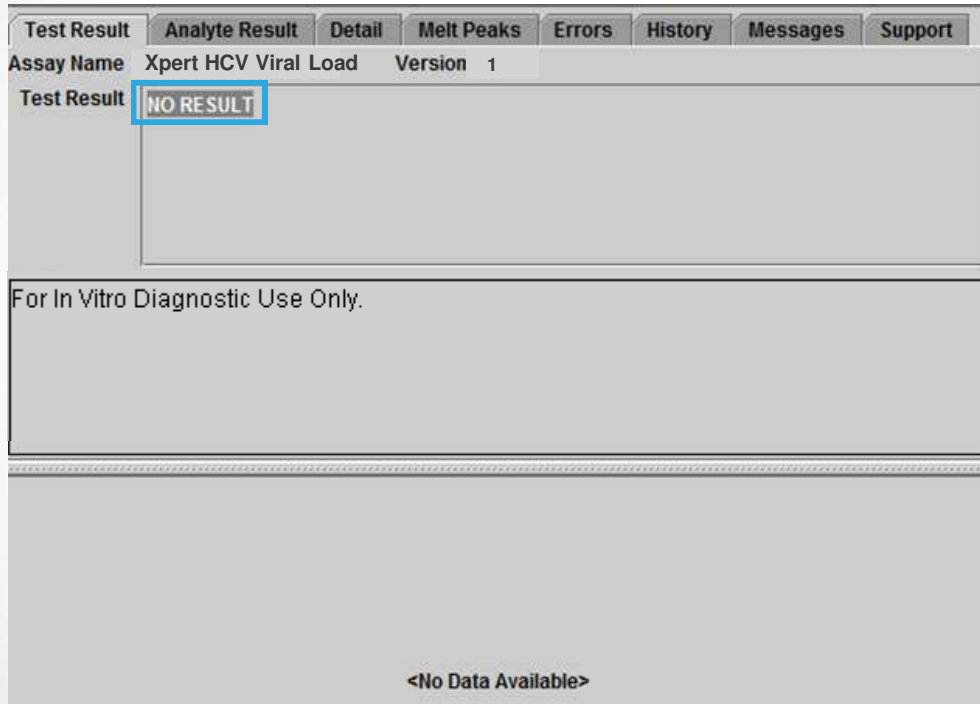


#	Description	Detail
1	Operation terminated	Error 2097: Assay-Specific Termination Error #2: 46, 29, 1, 0

Code d'erreur	Raison	Solution
2096	Aucun échantillon ajouté	Vérifier que l'échantillon a été ajouté à la cartouche
2097	Volume d'échantillon insuffisant	Vérifier que le volume d'échantillon minimum est ajouté à la cartouche

PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

NO RESULT



The screenshot shows a software interface with a tabbed menu at the top: 'Test Result', 'Analyte Result', 'Detail', 'Melt Peaks', 'Errors', 'History', 'Messages', and 'Support'. The 'Test Result' tab is active. Below the tabs, the 'Assay Name' is 'Xpert HCV Viral Load' and the 'Version' is '1'. The 'Test Result' field displays 'NO RESULT' in a blue-bordered box. Below this, there is a section for 'For In Vitro Diagnostic Use Only.' and at the bottom, the text '<No Data Available>' is displayed.

- La présence ou l'absence du VHC ne peut pas être déterminée.
- Un résultat PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) indique que les données recueillies étaient insuffisantes.
- RIQ-H ou RIQ-B : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)
- Vérification de la sonde : SO (sans objet)
- **Cause**
 - Test arrêté avec le bouton Arrêter le test
 - Panne électrique
- **Solution**
 - Rétablir l'alimentation
 - Répéter le test en utilisant une cartouche neuve

Xpert® HCV Viral Load - Interférence

- **Substances potentiellement interférentes**

- 5 substances endogènes au total ont été évaluées
- Il a été prouvé que des niveaux élevés de ces substances endogènes **n'affectaient pas** la spécificité du test et n'interféraient pas avec la capacité de détection du test HCV VL

Substance	Concentration analysée
Albumine	9 g/dl
Bilirubine	20 mg/dl
Hémoglobine	500 mg/dl
ADN humain	0,4 mg/dl
Triglycérides	3 000 mg/dl

- Il a été prouvé que les composants pharmaceutiques ci-dessous **n'interféraient pas avec la quantification** ou la spécificité du test Xpert HCV VL

Groupe	Médicaments
Contrôle	Sans objet
1	Zidovudine, saquinavir, ritonavir, interféron alfa-2b, clarithromycine
2	Sulfate d'abacavir, fosamprenavir calcique, peginterféron 2b, ribavirine
2	Fumarate de ténofovir disoproxil, lamivudine (3TC), sulfate d'indinavir, ganciclovir, chlorhydrate de valganciclovir. Aciclovir
4	Stavudine (d4T), efavirenz, lopinavir, enfuvirtide (T-20), ciprofloxacine
5	Névirapine, mésylate de nelfinavir, azithromycine, chlorhydrate de valaciclovir

Procédure de répétition du test

1



Éliminer la cartouche usagée

Suivre les consignes de sécurité de l'établissement pour l'élimination des cartouches

2



Se procurer l'échantillon restant, mélanger conformément à la notice

Si le volume d'échantillon restant est insuffisant ou si la répétition du test continue à rendre un résultat NON VALIDE (INVALID), ERREUR (ERROR) ou PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT), prélever un nouvel échantillon

3



Se procurer une nouvelle cartouche

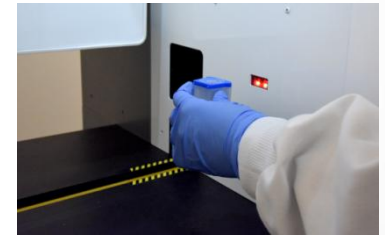
Étiqueter correctement la répétition du test sur la nouvelle cartouche

Traiter l'échantillon conformément à la notice

4



Exécuter le test sur le système



Assistance technique

- Avant de contacter le service d'assistance technique de Cepheid, recueillir les informations suivantes :
 - Nom du produit
 - Numéro de lot
 - Numéro de série du système
 - Messages d'erreur (le cas échéant)
 - Version logicielle et, le cas échéant, le « Service Tag » (numéro d'identification de l'ordinateur)
- Consigner une réclamation en ligne à l'adresse <http://www.cepheid.com/us/support> : *Créer un dossier d'assistance technique (Create a Support Case)*

Région	Téléphone	E-mail de l'assistance technique
États-Unis	+1.888.838.3222	techsupport@cepheid.com
Australie et Nouvelle-Zélande	+1800.107.884 (AU) +0800.001.028 (NZ)	techsupportANZ@cepheid.com
Brésil et Amérique latine	+55.11.3524.8373	latamsupport@cepheid.com
Chine	+86.021.5406.5387	techsupportchina@cepheid.com
France	+33.563.825.319	support@cepheideurope.com
Allemagne	+49.69.710.480.480	support@cepheideurope.com
Inde, Bangladesh, Bhoutan, Népal et Sri Lanka	+91.11.4835.3010	techsupportindia@cepheid.com
Italie	+39.800.902.567	support@cepheideurope.com
Japon	+0120.95.4886	support@japan.cepheid.com
Afrique du Sud	+27.861.22.76.35	support@cepheideurope.com
Royaume-Uni	+44.3303.332.533	support@cepheideurope.com
Belgique et Pays-Bas	+33.563.825.3319	support@cepheideurope.com
Autres pays d'Europe, du Moyen-Orient et d'Afrique	+33.563.825.319 +971.4.253.3218	support@cepheideurope.com



Merci.



www.Cepheid.com