

Formation relative au test : formation au test Xpert® FII & FV

*Formation technique uniquement
pour les produits US-IVD et CE-IVD*



Programme de la formation

- Formation au test Xpert FII & FV
 - Utilité clinique
 - Conservation et manipulation du kit
 - Collecte, transport et conservation des échantillons
 - Préparation de la cartouche
 - Cibles du test
 - Analyse du résultat
 - Contrôle qualité
 - Débat et questions-réponses



Objectifs de la formation

À la fin de la formation, les utilisateurs seront en mesure de :

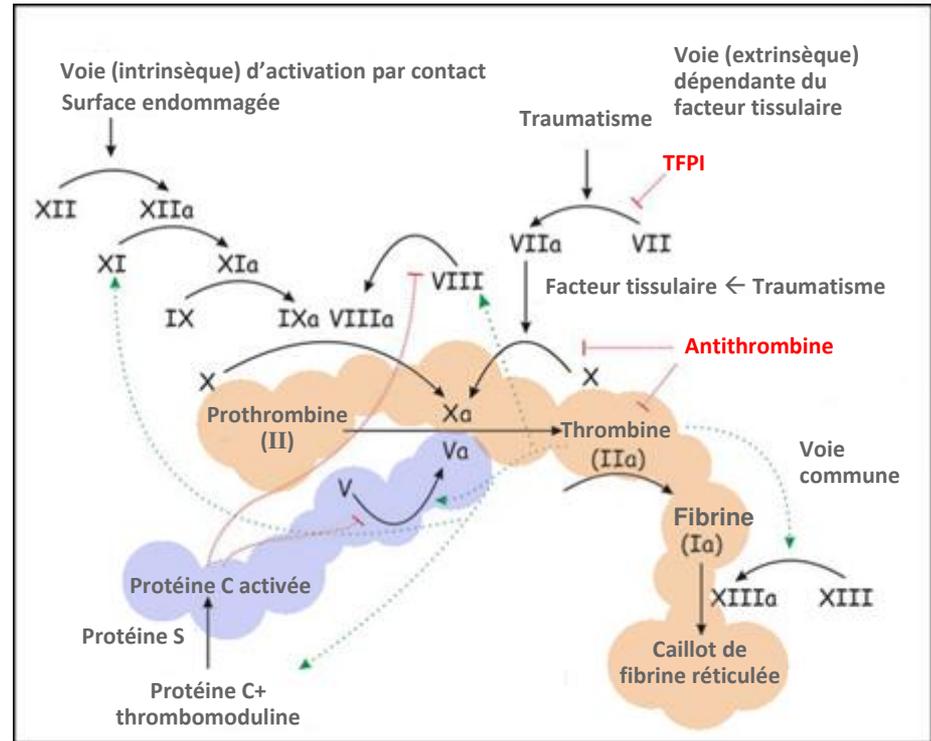
- Conserver et manipuler le matériel du test Xpert FII & FV.
- Suivre les précautions correctes de sécurité en laboratoire.
- Collecter les types d'échantillon appropriés et transporter l'échantillon.
- Effectuer la préparation de la cartouche et réaliser le test.
- Rapporter les divers résultats générés par le logiciel.
- Éliminer le matériel usagé.

FII & FV Leiden



Quelles sont les mutations FII et FV Leiden ?

- Les mutations du facteur II (G20210A) et du facteur V Leiden (G1691A) sont associées à un risque accru de thrombose veineuse.
- Ces mutations sont respectivement présentes dans 2 % et 5 % de la population générale.
- Mutation du facteur II ou de la prothrombine (G20210A)
 - remplacement de G par A au niveau du nucléotide 20210 dans la région 3' non traduite du gène
 - associée à une augmentation des taux plasmatiques de la prothrombine
- Mutation du facteur V Leiden (G1691A)
 - remplacement de G par A au niveau du nucléotide en position 1691 du gène du facteur V
 - entraînant la substitution de l'arginine, acide aminé, par la glutamine dans la protéine facteur V,
 - provoquant la résistance au clivage par la protéine C activée (PCA).



Génotypes

	Normal	Hétérozygote	Homozygote (mutant)
Facteur II	GG	GA	AA
Facteur V	GG	GA	AA

La solution Cepheid



- Détection simultanée
 - Allèles normaux et mutants du facteur II et du facteur V
- Un contrôle interne pour chaque échantillon individuel
 - Contrôle de vérification de la sonde (CVS)
- Résultats obtenus en environ 30 minutes
- Facile et simple à utiliser
 - Système de cartouche fermée
- Résultats à la demande, 24 heures sur 24 et 7 jours sur 7
- Accès aléatoire

Utilisation prévue

Le test Xpert® Factor II & Factor V est un test de génotypage de diagnostic qualitatif *in vitro* pour la détection des allèles du facteur II et du facteur V dans du sang total prélevé sur anticoagulant EDTA ou citrate de sodium.

Le test est réalisé sur le logiciel du système Cepheid GeneXpert® Dx version 4.0 ou supérieur.

Ce test est destiné à fournir les résultats pour les mutations du facteur II (G20210A) et du facteur V Leiden (G1691A) comme une aide au diagnostic chez les individus suspectés d'être atteints d'une thrombophilie.

Exigences : système et réactifs

Systèmes GeneXpert

- Modules à 6 couleurs
- Logiciel GXDX ou logiciel Xpertise v4.0 ou version ultérieure

Kits de tests

- GXFIIFV-10

Collecte de l'échantillon

- Tube de collecte de sang total prélevé sur EDTA ou citrate de sodium

Matériel nécessaire, mais non fourni

- Pipette pour distribuer 50 µl de sang total recueilli sur anticoagulant citrate de sodium ou EDTA à l'aide d'embouts avec filtre résistant aux aérosols.
- Eau de Javel
- Éthanol à 70 % ou éthanol dénaturé

Composants du kit Xpert FII & FV

Tests par kit	10
CD du kit	Fichiers de définition du test (Assay Definition Files, ADF)
	Instructions pour l'importation du test
	Notice
Conservation	2 °C à 28 °C



Le réactif de lyse contient du thiocyanate de guanidine (H302, H316, H320, H402, EUH031), qui est nocif en cas d'ingestion, provoque une légère irritation cutanée et une irritation des yeux, est nocif pour les organismes aquatiques et qui, en contact avec de l'acide, libère un gaz toxique.

Transport et conservation des échantillons du test Xpert FII & FV

Échantillon	Température de transport et de conservation (°C)	Durée de conservation
Sang total dans de l'EDTA ou Sang total dans des tubes d'anticoagulant de citrate de sodium	2 °C à 8 °C	15 jours
	22 °C à 28 °C (température ambiante)	24 heures
	-20 °C ou -80 °C	3 mois



- Laisser le sang congelé se décongeler complètement à température ambiante.
- Il n'est pas recommandé de congeler/décongeler le sang plus d'une fois.

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.
- Effectuer régulièrement la maintenance sur l'instrument GeneXpert.

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.

Pailleasse

- Nettoyer régulièrement la pailleasse.
- 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 domestique dans le pays concerné*

Conservation et manipulation du kit Xpert FII & FV

- Conserver les kits de test 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 15 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon à la cartouche.
- Éviter toute contamination croisée pendant les étapes de manipulation des échantillons.
 - Changer de gants s'ils entrent en contact avec l'échantillon ou s'ils semblent humides.
 - Changer de gants avant de quitter la zone de travail et au moment d'entrer dans la zone de travail.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée ou qui a été agitée après le transfert de l'échantillon dans la cartouche. 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.

Préparation de la cartouche Xpert FII & FV

Préparation de la cartouche Xpert® Factor II & Factor V

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

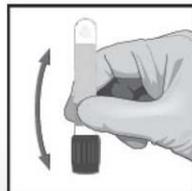
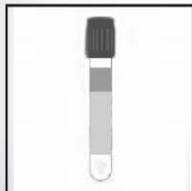
Pour obtenir un exemplaire de la FDS, consulter le site www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com

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



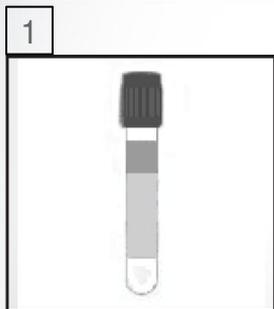
- 1 Se procurer le tube de collecte d'échantillon recueilli sur EDTA ou citrate de sodium.
- 2 Se procurer une cartouche Xpert Factor II & Factor V.
- 3 Mélanger doucement l'échantillon jusqu'à ce qu'il soit homogène, en retournant le tube d'échantillon 5 fois.
- 4 Ouvrir le couvercle de la cartouche Xpert.
- 5 En utilisant une pipette volumétrique munie d'un embout avec filtre résistant aux aérosols, aspirer 50 µl de l'échantillon.
- 6 Déposer l'échantillon sur la paroi inférieure de la chambre « S » de la cartouche.
- 7 Fermer le couvercle de la cartouche Xpert.
- 8 Charger la cartouche et lancer le test.



© 2013 Cepheid

301-2120F, Rév. A, septembre 2013

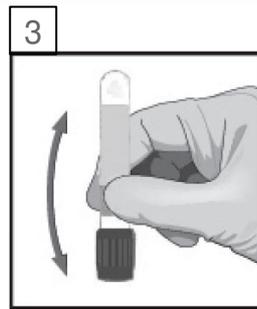
Préparation de la cartouche FII & FV



1
Se procurer le tube de collecte d'échantillon recueilli sur EDTA ou citrate de sodium.



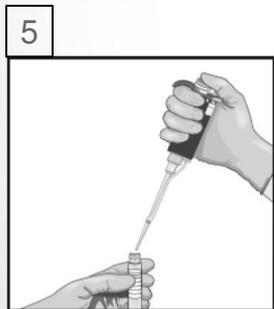
2
Se procurer une cartouche Xpert Factor II & Factor V.



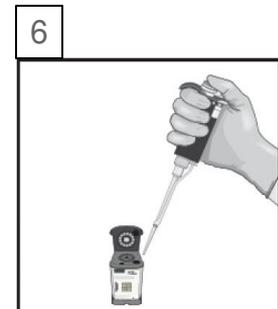
3
Mélanger doucement l'échantillon jusqu'à ce qu'il soit homogène, en retournant le tube d'échantillon 5 fois.



4
Ouvrir le couvercle de la cartouche Xpert.



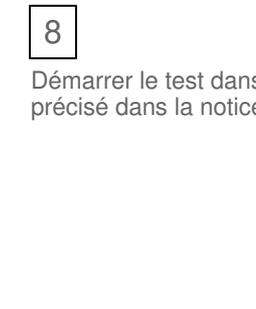
5
En utilisant une pipette volumétrique munie d'un embout avec filtre résistant aux aérosols, aspirer 50 µl de l'échantillon.



6
Déposer l'échantillon sur la paroi inférieure de la chambre « S » de la cartouche.



7
Fermer le couvercle de la cartouche Xpert.



8
Démarrer le test dans le délai précisé dans la notice.

Rapport combinatoire : ADF Xpert FII & FV

- La fonction combinatoire du logiciel GX v4.0 ou version ultérieure permet à l'opérateur de sélectionner l'une des trois options de rapport de test :
 - « Xpert FII », « Xpert FV » ou « Xpert FII & FV Combo »

Patient ID 12345
Sample ID 12345

	Name	Version
Select Assay	Xpert FV	1
Select Module	Xpert FV	1
Reagent Lot ID*	Xpert FII	1
	Xpert FII & FV Combo	1

Test Type Specimen
Sample Type Other Other Sample Type
Notes

Start Test Scan Cartridge Barcode Cancel

Rapport combinatoire : ADF Xpert FII & FV

- Sélectionner le test souhaité dans le menu déroulant « Sélectionner un test (Select Assay) ».

Name	Version
Xpert FV	1
Xpert FII	1
Xpert FII & FV Combo	1

- Seul le résultat pour le test sélectionné à cette étape sera rendu une fois que le test est démarré.
 - Exemple : si l'opérateur sélectionne « Xpert FII », une fois que le test démarre, il n'est pas possible de modifier cette option pour recueillir les données FII et FV

Étapes du test automatisé Xpert FII & FV



Contrôle qualité

*Consulter la notice pour obtenir
des informations complètes*



Stratégie de contrôle du test de Cepheid

- Chaque cartouche Xpert est un dispositif de test autonome.
 - Cepheid a conçu des méthodes moléculaires spécifiques de façon à inclure des contrôles internes permettant au système de détecter des modes d'échec spécifiques au sein de chaque cartouche.
 - Contrôle du système de l'instrument : contrôle de l'état
 - Contrôle endogène
 - Contrôle des réactifs : vérification de la sonde

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

- Le contrôle du système 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.

Contrôle de vérification de la sonde – CVS

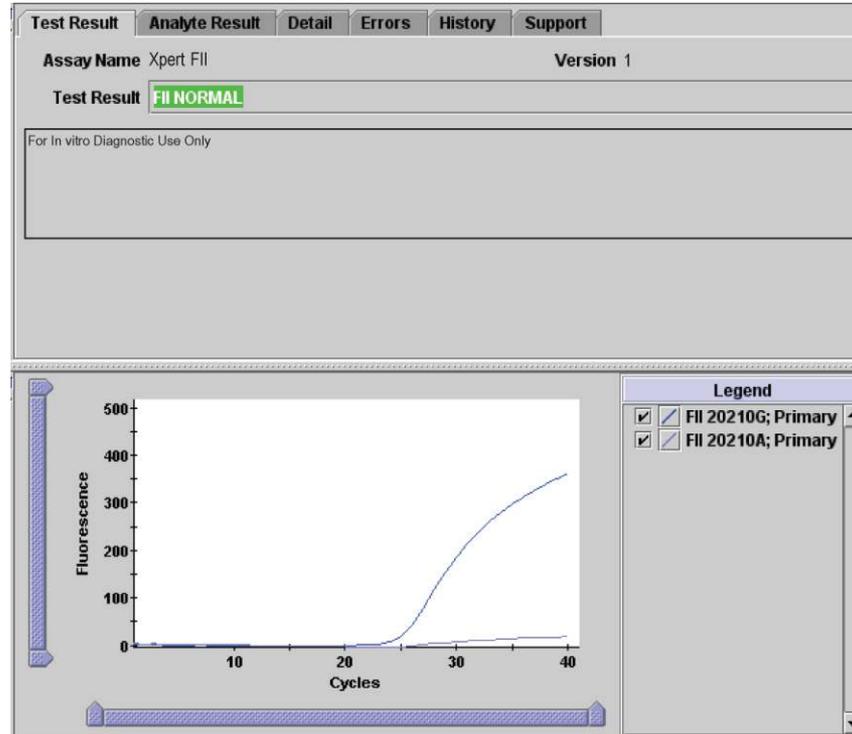
- Avant le début de la réaction PCR, le signal de fluorescence de la sonde est mesuré pour surveiller la réhydratation des billes, le remplissage des tubes réactionnels, l'intégrité de la sonde et la stabilité du colorant.
- Les mesures sont comparées aux valeurs par défaut, établies par Cepheid.
- les 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
- Le CVS réussit s'il répond aux critères d'acceptation attribués.
- Si la vérification de la sonde échoue, le résultat de test rendu sera ERREUR (ERROR).

Analyse des résultats

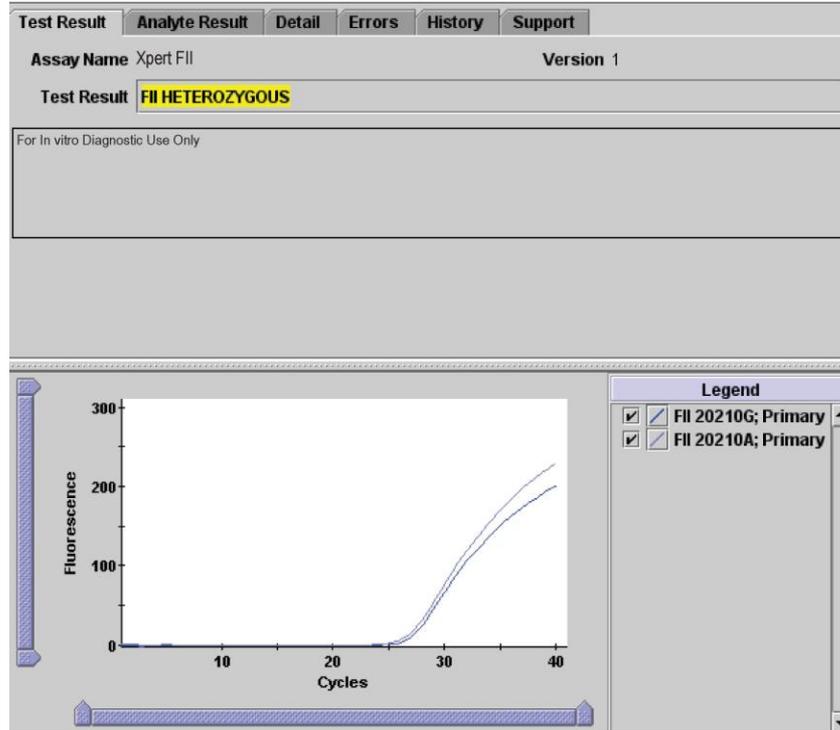
*Consulter la notice pour obtenir
des informations complètes*



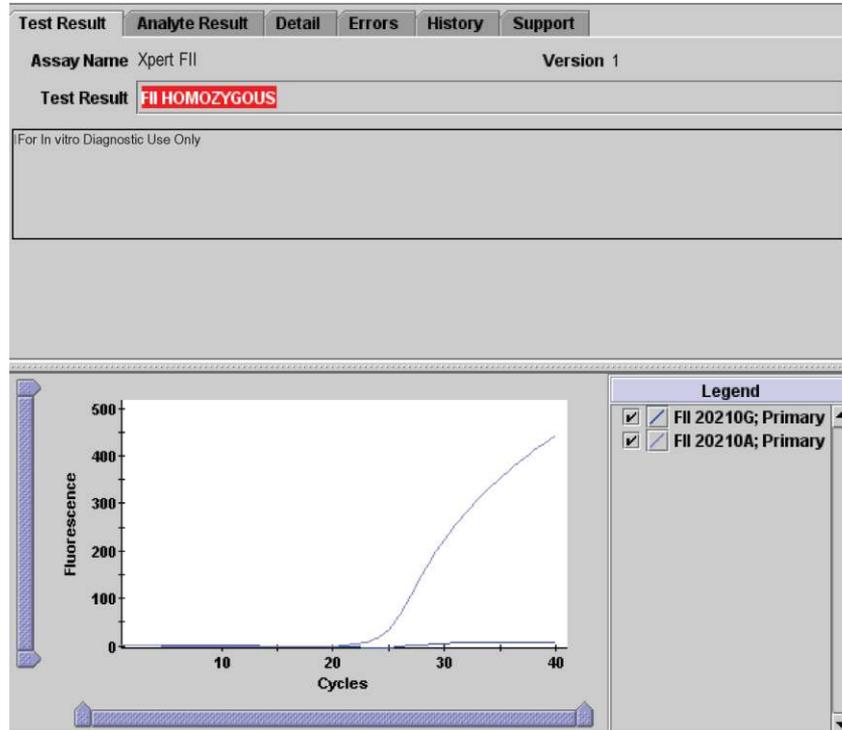
Résultat normal Xpert FII



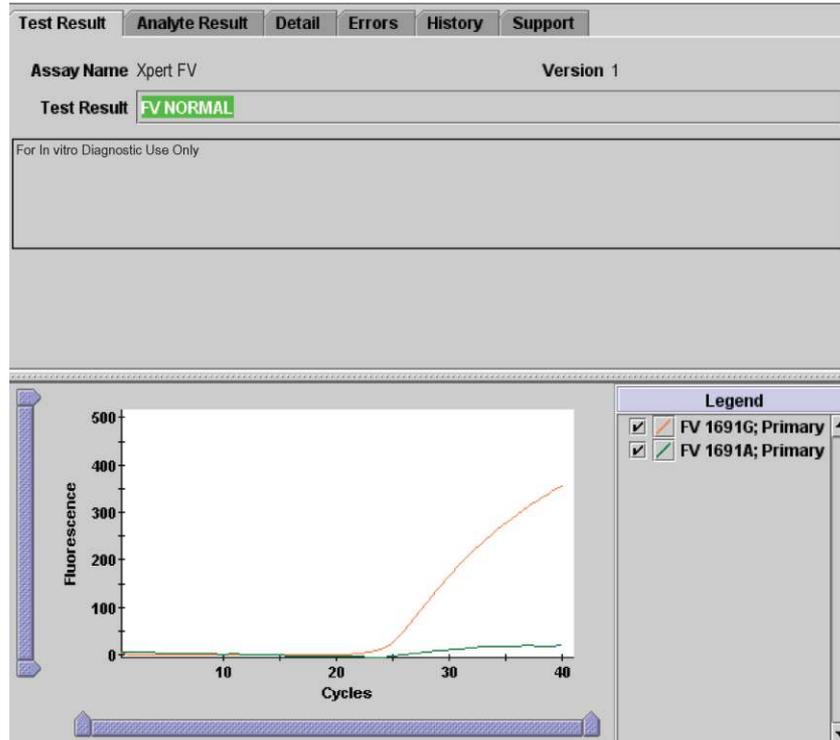
Résultat hétérozygote Xpert FII



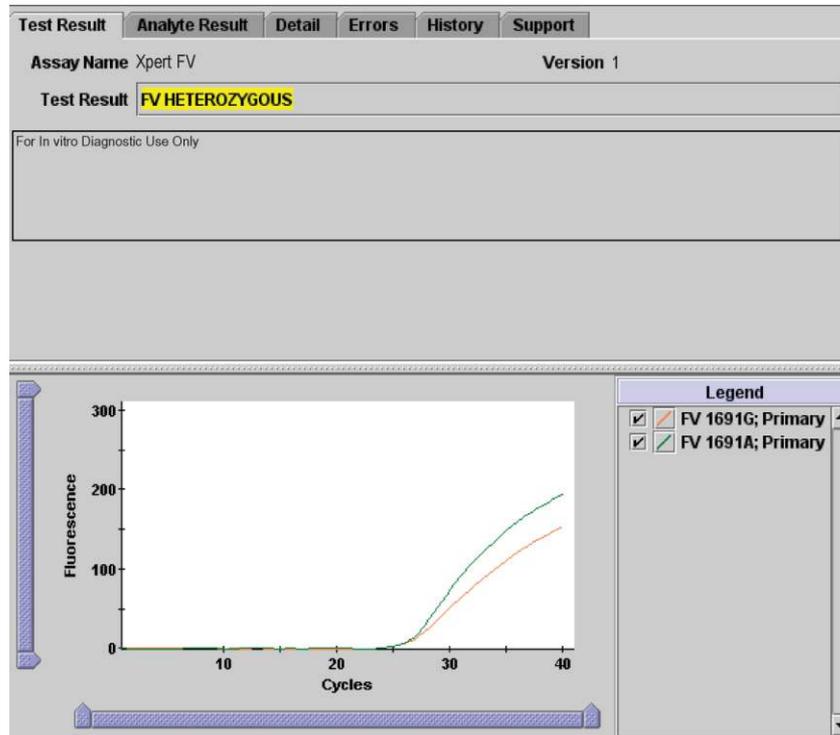
Résultat homozygote Xpert FII



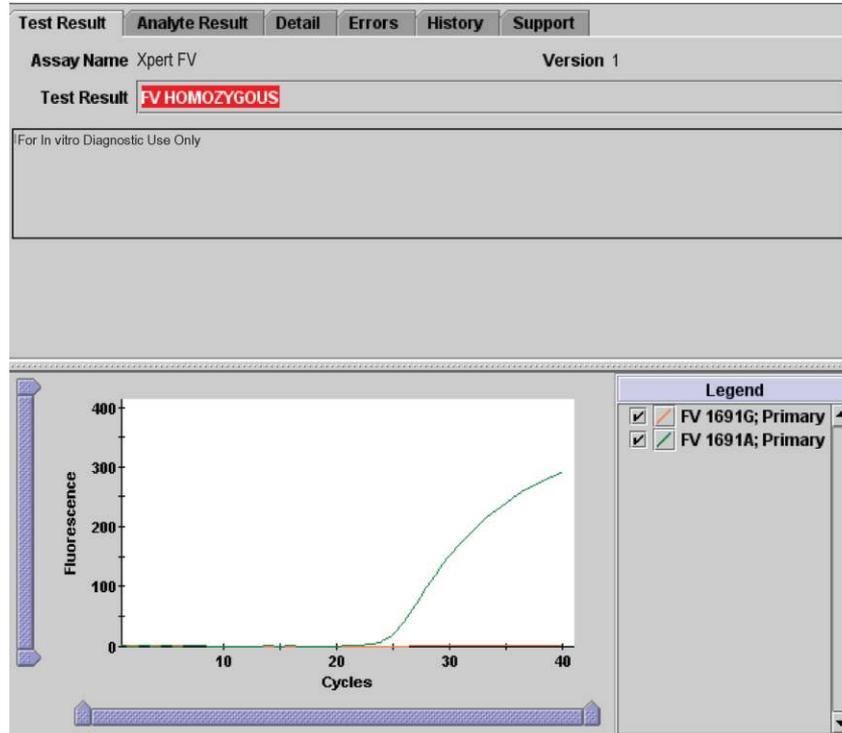
Résultat normal Xpert FV



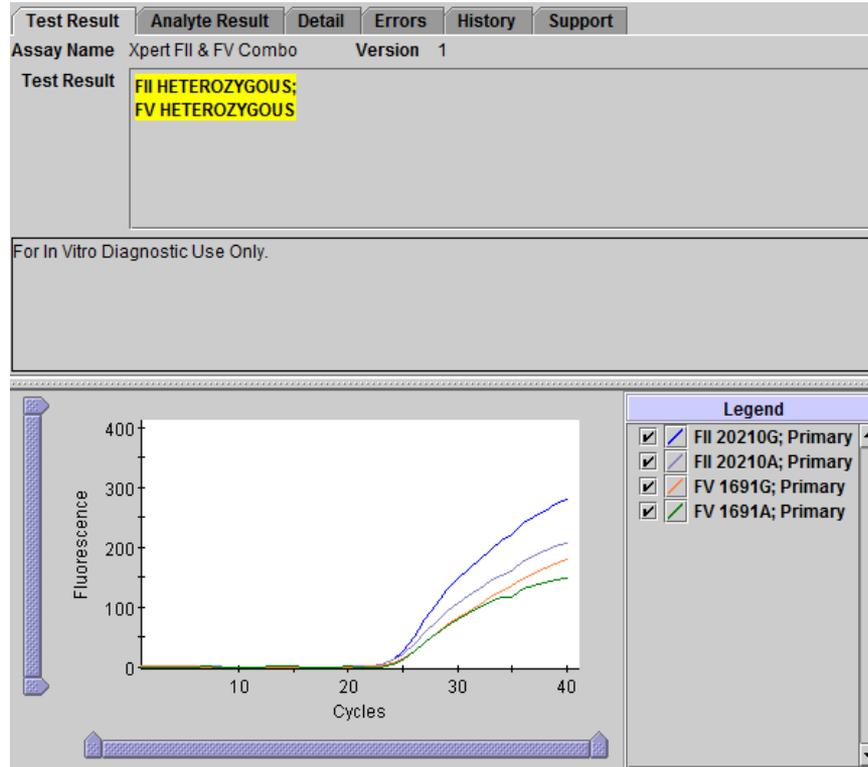
Résultat hétérozygote Xpert FV



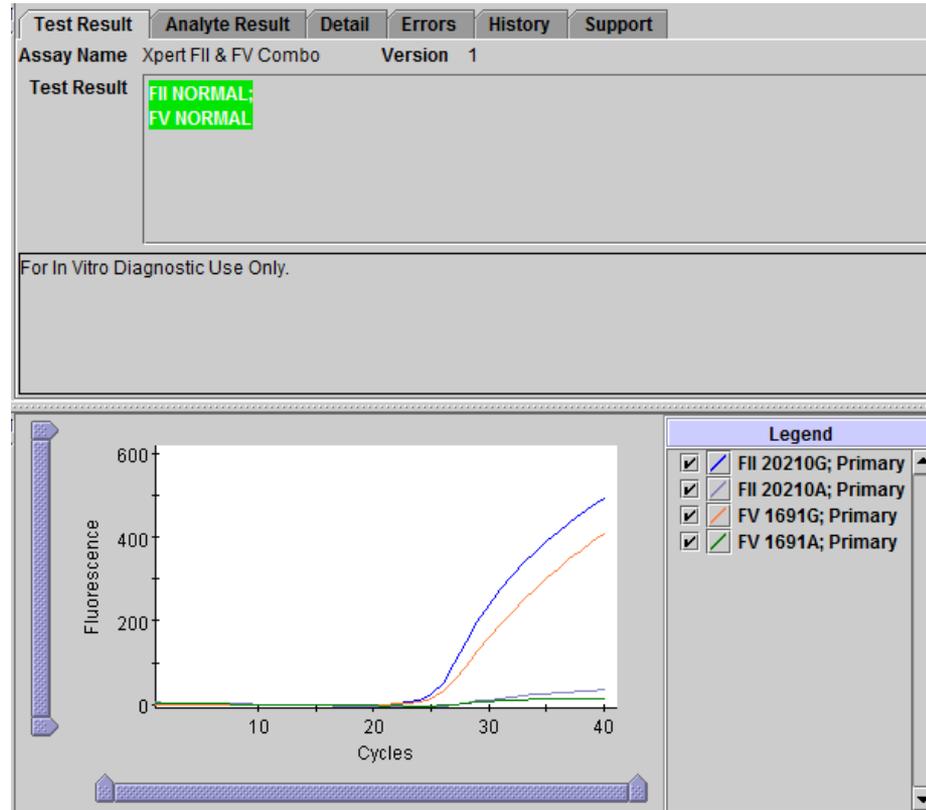
Résultat homozygote Xpert FV



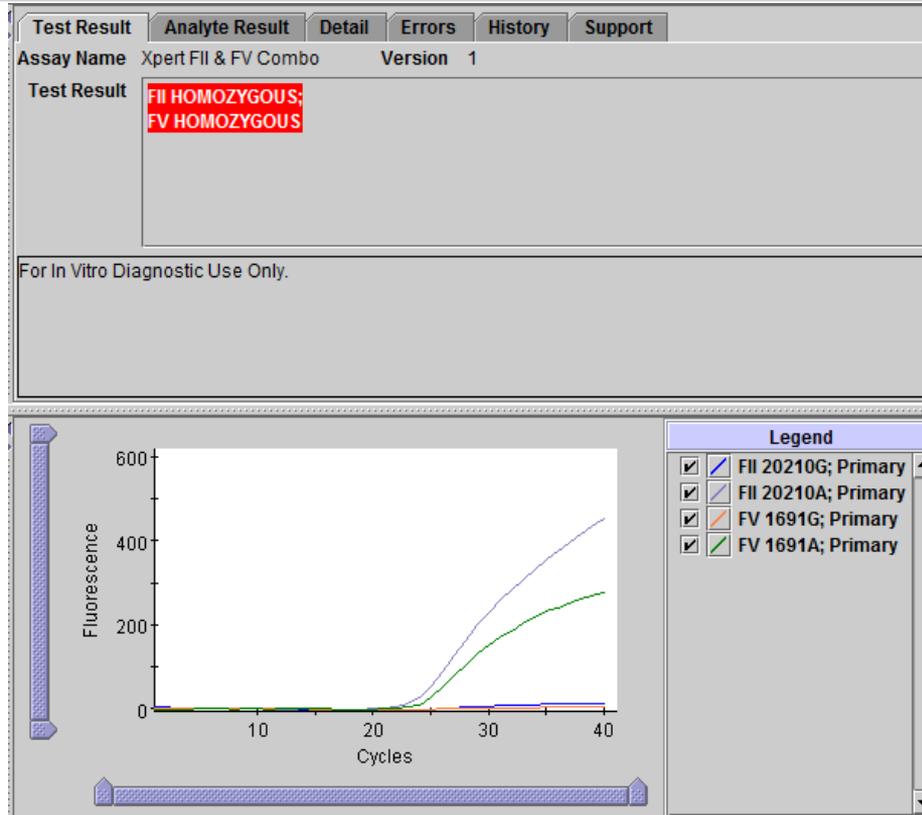
Résultat hétérozygote Xpert FII & FV Combo



Résultats normaux Xpert FII & FV Combo



Résultats homozygotes Xpert FII & FV Combo



Raisons pour lesquelles le test doit être répété

- Un résultat NON VALIDE (INVALID) indique que le CTE interne a échoué. L'échantillon n'a pas été traité correctement ou la PCR a été inhibée.
- Un résultat ERREUR (ERROR) indique que le test a été abandonné. Les causes possibles comprennent : un remplissage incorrect du tube réactionnel ; la détection d'un problème d'intégrité de la sonde de réactif ; le dépassement de la limite de pression maximale ; la défaillance d'un composant du système.
- Un résultat PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a arrêté un test qui était en cours, une erreur de chargement s'est produite, le logiciel a été fermé prématurément ou une panne de courant est survenue.

NON VALIDE (INVALID)

Test Result

INVALID

La présence ou l'absence des allèles normaux et mutants de facteur II et de facteur V est impossible à déterminer

- Vérification de la sonde—RÉUSSITE (Probe Check—PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
- NON VALIDE (INVALID) - La présence ou l'absence des allèles normaux et mutants de facteur II et de facteur V est impossible à déterminer :
 - L'amplification n'a pas eu lieu
 - Dans le test combinatoire, il y a une seule ou aucune courbe, le résultat est non valide
 - Dans de rares mutations du facteur V (A1696G, G1689A et A1692C)

ERREUR (ERROR)

Test Result

ERROR

La présence ou l'absence des allèles normaux et mutants de facteur II et de facteur V est impossible à déterminer

- ERREUR (ERROR)
- Vérification de la sonde—ÉCHEC* (Probe Check—FAIL*) ; échec d'un ou de plusieurs résultats de vérification de la sonde.
 - Le contrôle de vérification de la sonde a échoué et le test a été annulé, possiblement en raison d'un remplissage incorrect de tube réactionnel,
 - Un problème d'intégrité de la sonde a été détecté.
 - Des erreurs peuvent également être provoquées en cas de dépassement des limites de pression maximale
 - Défaillance d'un composant du système.

*Si la vérification de la sonde a réussi, l'erreur est due à une défaillance d'un composant du système.

PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

Test Result

NO RESULT

La présence ou l'absence des allèles normaux et mutants de facteur II et de facteur V est impossible à déterminer

- PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)
- Vérification de la sonde—SO (sans objet) (Probe Check—NA (not applicable))
- Les données recueillies sont insuffisantes pour produire un résultat de test (par exemple, cela peut se produire lorsque l'opérateur a interrompu un test en cours).

Procédure de répétition du test Xpert FII & FV

1



Éliminer la cartouche usagée.

Suivre les directives de sécurité de l'établissement pour l'élimination des cartouches.

2



Se procurer l'échantillon restant.

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

3



Se procurer une nouvelle cartouche.

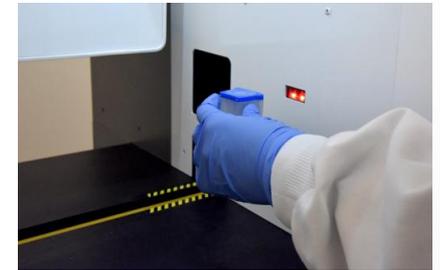
Étiqueter correctement la répétition du test sur la nouvelle cartouche.

Traiter l'échantillon conformément à la notice.

4



Exécuter le test sur le système.



Facteurs pouvant affecter négativement les résultats

- Les patients sous héparinothérapie et les patients qui ont reçu une transfusion sanguine peuvent avoir des échantillons sanguins qui interfèrent potentiellement avec les résultats de PCR et mènent à des résultats non valides ou erronés.
- La conservation incorrecte des échantillons collectés peut affecter le résultat
 - S'assurer que l'échantillon est bien mélangé et qu'il n'a pas été soumis à de nombreux cycles de congélation/décongélation.
 - Vérifier que le volume correct de sang a été ajouté à la chambre à échantillon
- Aucune inhibition n'a été observée lors de l'utilisation d'échantillons de sang total qui avaient été soumis à un cycle de congélation/décongélation (sang hémolysé).
- Aucune signification statistique n'a été observée entre les échantillons appariés prélevés dans de l'EDTA ou du citrate de sodium.

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.cephheid.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