

# Formation technique au test Xpert<sup>®</sup> HIV-1 Qual

Utilisation CE-IVD uniquement

*Centre de formation Cepheid*



# Programme de la formation

- **Xpert HIV-1 Qual**
  - Utilité clinique
  - Réactifs
  - Prélèvement de l'échantillon
  - 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<sup>®</sup> HIV-1 Qual et les kits de collecte des échantillons
  - Suivre les précautions appropriées de sécurité en laboratoire
  - Prélever les types d'échantillon appropriés et transporter l'échantillon
  - Effectuer la préparation de la cartouche et réaliser le test
  - Comprendre la stratégie de contrôle du test
  - Rapporter les divers résultats générés par le logiciel

# La solution Cepheid



- Détecte une cible
  - HIV-1
- Contrôles intégrés pour chaque échantillon individuel
  - Contrôle de vérification de la sonde (CVS)
  - Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE)
  - Adéquation du volume de l'échantillon (AVE)
- Résultats obtenus en environ 90 minutes
- Système de cartouche close réduisant au minimum le risque de contamination
- Résultats à la demande
- Accès aléatoire

# Utilisation prévue

- Le test Xpert HIV-1 Qual est un test diagnostique **qualitatif *in vitro*** conçu pour détecter les acides nucléiques totaux du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (HIV-1) en utilisant **du sang total (ST) humain** et des **gouttes de sang séché** provenant d'individus soupçonnés d'être infectés par le HIV-1.
- Le test Xpert HIV-1 Qual est destiné à faciliter le diagnostic d'une infection au HIV-1 conjointement avec le tableau clinique et d'autres marqueurs biologiques.
- Ce test n'est pas destiné à être utilisé comme test de dépistage de l'infection par le HIV-1 dans les dons de sang.
- Ce test utilise la technologie de **transcription inverse-réaction en chaîne de la polymérase (RT-PCR)**.

# Cibles et sondes

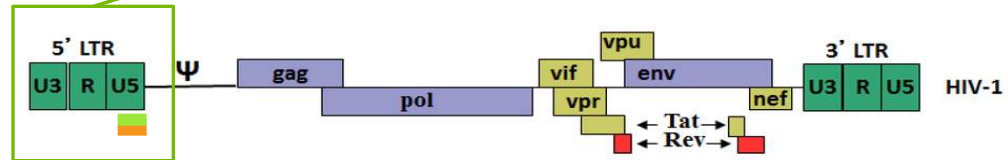
- **Cible**

- HIV-1

- **Sondes**

- 1 sonde se lie au CTE

- 2 sondes se fixent à l'**extrémité 3'** de la **région 5'LTR** de l'ARN du HIV-1 (ne se fixent pas au HIV-2)



- **En fonction du groupe HIV, l'une des sondes se fixe.**

# Exigences pour le test

## Systèmes GeneXpert

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

## Kits de test (CE-IVD)

- GXHIV-QA-CE-10

## Protocole de sang total pour le prélèvement d'échantillon

- Tubes EDTA

## Protocole de gouttes de sang séché pour le prélèvement d'échantillon

Kit de collecte de gouttes de sang séché (*papier buvard Whatman 903 ou équivalent*)  
Ciseaux et/ou pinces stériles  
ThermoMixer® C Eppendorf (*référence Eppendorf 5382 000.015*)  
Smartblock™ Eppendorf (portoir pour flacons) (*référence Eppendorf 5309 000.007*)

## Autres fournitures

- Équipement de protection individuelle (EPI)
- Eau de Javel à 1:10 et éthanol ou éthanol dénaturé à 70 %

## 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 le traitement, changer de gants entre les échantillons

## Paillasse

- Nettoyer systématiquement les surfaces de travail avec :
  - ✓ eau de Javel domestique, diluée à 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 HIV-1 Qual

Numéro de référence	GXHIV-QA-CE-10
Tests par kit	10
Autre réactif	Réactif échantillon
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) et 10 (100 µL)
Conservation	2 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.*

# Conservation et manipulation du kit Xpert HIV-1

- Conserver les cartouches et les réactifs du test Xpert HIV-1 Qual à une température comprise entre **2 et 28 °C**
- Respecter les procédures 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
- Avec le système GeneXpert, démarrer le test dans les **30 minutes** qui suivent l'ajout de l'échantillon à la cartouche
- Avec le système Infinity, placer la cartouche sur le tapis roulant dans les **30 minutes** qui suivent l'ajout de l'échantillon.



# 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 l'avoir retirée de son 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



# Limites du test Xpert HIV-1 Qual

- Les performances du test Xpert HIV-1 Qual n'ont pas été démontrées pour des **échantillons autres** que ceux validés, c.-à-d., le **sang total et les gouttes de sang séché**
- Les performances du test Xpert HIV-1 Qual 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 faussement négatifs.
- La présence d'inhibiteurs dans les échantillons peut produire des résultats non valides (invalid).

*Se reporter à la notice actuelle pour de plus amples informations.*

# Prélèvement, conservation et transport des échantillons



# Prélèvement de sang total

- Collecter les échantillons de sang total dans des tubes EDTA conformément aux directives du fabricant
- Une fois le sang prélevé, mélanger l'échantillon en retournant doucement le tube **10 fois**
- **100 µL** minimum sont nécessaires pour effectuer le test



Tube EDTA



Tube d'héparine



# Prélèvement de gouttes de sang séché

- Collecter un échantillon de goutte de sang séché
- Les gouttes de sang séché doivent être recueillies sur des cartes de papier buvard Whatman 903, Munktell ou un produit équivalent à partir de sang obtenu par :
  - piqure du talon
  - piqure du doigt
  - piqure du orteil
  - recueilli dans un tube avec EDTA
- S'assurer que le sang recouvre l'intégralité du cercle (environ 60 à 70  $\mu\text{L}$ ). Afin de permettre la répétition du test, au moins deux cercles doivent être remplis pour chaque échantillon.
- Sécher la carte à l'air à température ambiante pendant au moins 4 heures. Emballer chaque carte dans un sachet refermable individuel contenant un sachet de produit déssicant.







<https://www.spotonsciences.com/knowledge-center/dbs-technology/>





Pour plus de détails sur la préparation des gouttes de sang séché et le conditionnement, veuillez consulter le chapitre correspondant dans le « *WHO DBS drug resistance testing Manual* »



# Prélèvement, transport et conservation des échantillons

	Avant de réaliser le test	<b>Température (°C)</b>	<b>Durée de conservation</b>
	Sang total prélevé sur anticoagulant EDTA		8 heures
			24 heures
	72 heures		

Envoyés aux laboratoires de test dans des sachets refermables individuels contenant du dessiccant

	Avant de réaliser le test	<b>Température (°C)</b>	<b>Durée de conservation</b>
	Gouttes de sang séché	 	12 semaines
			8 semaines

# Préparation de la cartouche



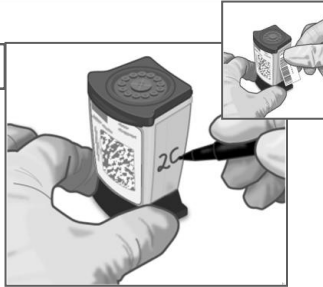
# Préparation de la cartouche - sang total

1



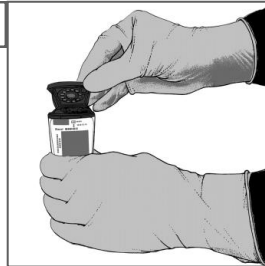
Étiqueter le flacon de réactif échantillon avec l'ID de l'échantillon

2



Étiqueter le côté de la cartouche avec le même ID que sur le flacon de réactif échantillon

3



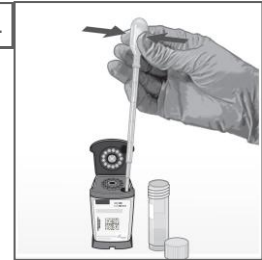
Ouvrir le couvercle de la cartouche.



4e repère 1 mL  
3e repère 750 µL

\*Test HIV-1 Qual  
Pipette de transfert 1 mL

4



Utiliser la pipette de transfert\* fournie (ou une pipette automatique) pour transférer 750 µL du réactif échantillon dans la chambre à échantillon de la cartouche

5 x7



Mélanger l'échantillon de sang total en retournant le flacon au moins sept fois



Poire supérieure

Remplir jusqu'ici 100 µL

\*\*Test HIV-1 Qual - micropipette de transfert 100 µL

6



Transférer immédiatement 100 µL de sang total à l'aide de la micropipette\*\* fournie (ou d'une pipette automatique) dans la même chambre à échantillon

7



Bien fermer le couvercle

Démarrer le test dans le délai précisé dans la notice.

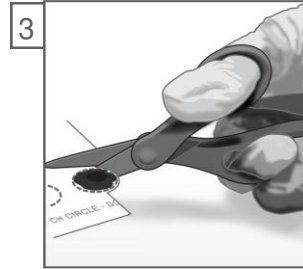
# Préparation de la cartouche - gouttes de sang séché



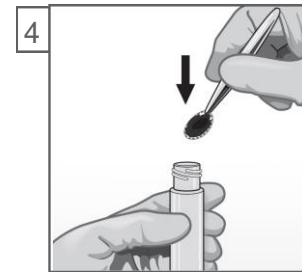
Régler le ThermoMixer C sur 56 °C



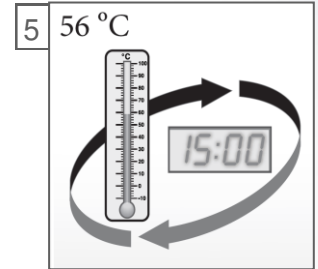
Étiqueter le flacon de réactif échantillon avec l'ID de l'échantillon



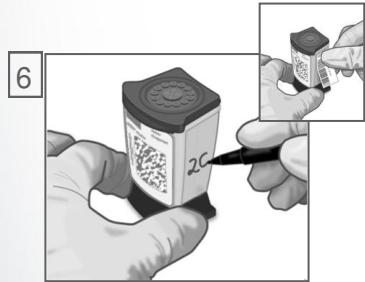
À l'aide de ciseaux stériles, découper une goutte de sang séché de la carte en papier buvard en suivant les pointillés. Si la ligne de pointillés est perforée, utiliser une pince pour détacher la goutte de sang séché



Placer une goutte de sang séché dans le flacon de réactif échantillon et vérifier qu'elle est immergée dans le tampon



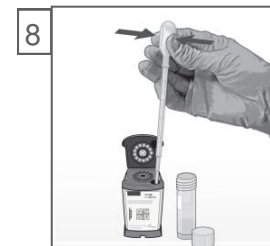
Incuber ce flacon dans le ThermoMixer C pendant  
•15 minutes à  
•56 °C à 500 tr/min



Étiqueter le côté de la cartouche avec le même ID que sur le flacon de réactif échantillon



Ouvrir le couvercle de la cartouche



Utiliser la pipette de transfert\* fournie (ou une pipette automatique) pour transférer l'ensemble du liquide depuis le flacon dans la chambre à échantillon de la cartouche



Bien fermer le couvercle

Démarrer le test dans le délai précisé dans la notice.

# Exécuter un test

## 1 Créer un test

GeneXpert



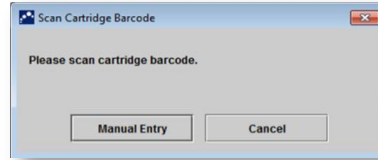
Démarrer le test dans les **30** minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon à la cartouche

GeneXpert  
Infinity



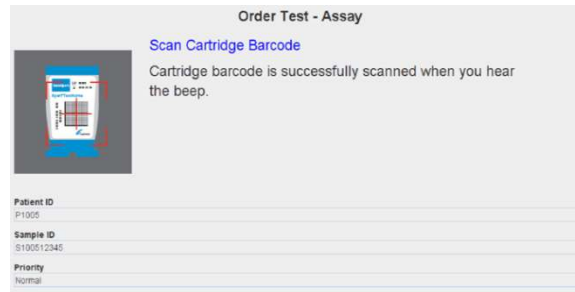
Placer la cartouche sur le tapis roulant dans les **30** minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon.

## 2 Lire les messages du code-barres : ID de cartouche / de patient et/ou d'échantillon



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

## 3 Lire la cartouche



*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 automatiquement sélectionné

**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

The screenshot shows the 'Create Test' window with the following fields and values:

- Patient ID: [Empty]
- Sample ID: [Empty]
- Patient ID 2: [Empty]
- Last Name: [Empty]
- Select Assay: **Xpert HIV-1 Qual** (highlighted)
- Select Module: A3 (highlighted)
- Reagent Lot ID\*: 16119
- Expiration Date\*: 2016/1/17
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Notes: [Empty]

At the bottom, the 'Start Test' button is highlighted with an orange box and a mouse cursor is pointing at it.



# Créer un test sur le logiciel Xpertise Dx

4 Remplir les champs requis

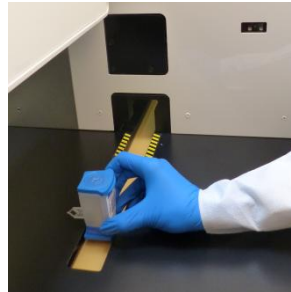
5 Le protocole de test est automatiquement sélectionné

6 Cliquer sur SOUMETTRE (SUBMIT)

7 Placer la cartouche sur le tapis roulant

**Order Test - Test Information**

<b>Patient ID</b> patientid	
<b>Sample ID</b> sampleid	
<b>Last Name</b> patient	<b>First Name</b> id
<b>Assay*</b> Xpert HIV-1 Qual	
<b>Reagent Lot ID*</b> 12102	<b>Cartridge S/N*</b> 282769448
<b>Expiration Date*</b> 2018/11/04	<b>Priority</b> Normal
<b>Test Type</b> Specimen	
<b>Sample Type</b> Other	<b>Other Sample Type</b>
<b>Notes</b>	



# Protocole Xpert automatisé





# Contrôles qualité



- **Contrôle du système – 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.
- **Contrôles qualité du test**
  - 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 du traitement de l'échantillon (CTE)
    - Contrôle de vérification de la sonde (CVS)

# Contrôles qualité internes

- **Adéquation du volume de l'échantillon (AVE)**
  - Vérifie que le volume d'échantillon correct est ajouté à la cartouche
- **Contrôle de vérification de la sonde (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
    - remplissage du tube réactionnel
    - intégrité de la sonde
    - stabilité du colorant
- **Contrôle de traitement de l'échantillon (CTE)**
  - ARN blindé
    - Vérifie que le traitement de l'échantillon est adéquat
    - Vérifie la lyse et la présence de l'organisme et détecte l'inhibition de la PCR
    - Doit être positif dans un échantillon négatif
    - Peut être positif ou négatif dans un échantillon positif

# Contrôles externes disponibles sur le marché

**AcroMetrix®** <http://www.lifetechnologies.com/acrometrix>

N° de référence	Description	Configuration	Conservation
964003	HIV-1 High control (Contrôle haut)	5 flacons de 1,2 mL	≤ -20 °C
964002	HIV-1 Mid control (Contrôle moyen)	5 flacons de 1,2 mL	≤ -20 °C
964001	HIV-1 Low control (Contrôle bas)	5 flacons de 1,2 mL	≤ -20 °C

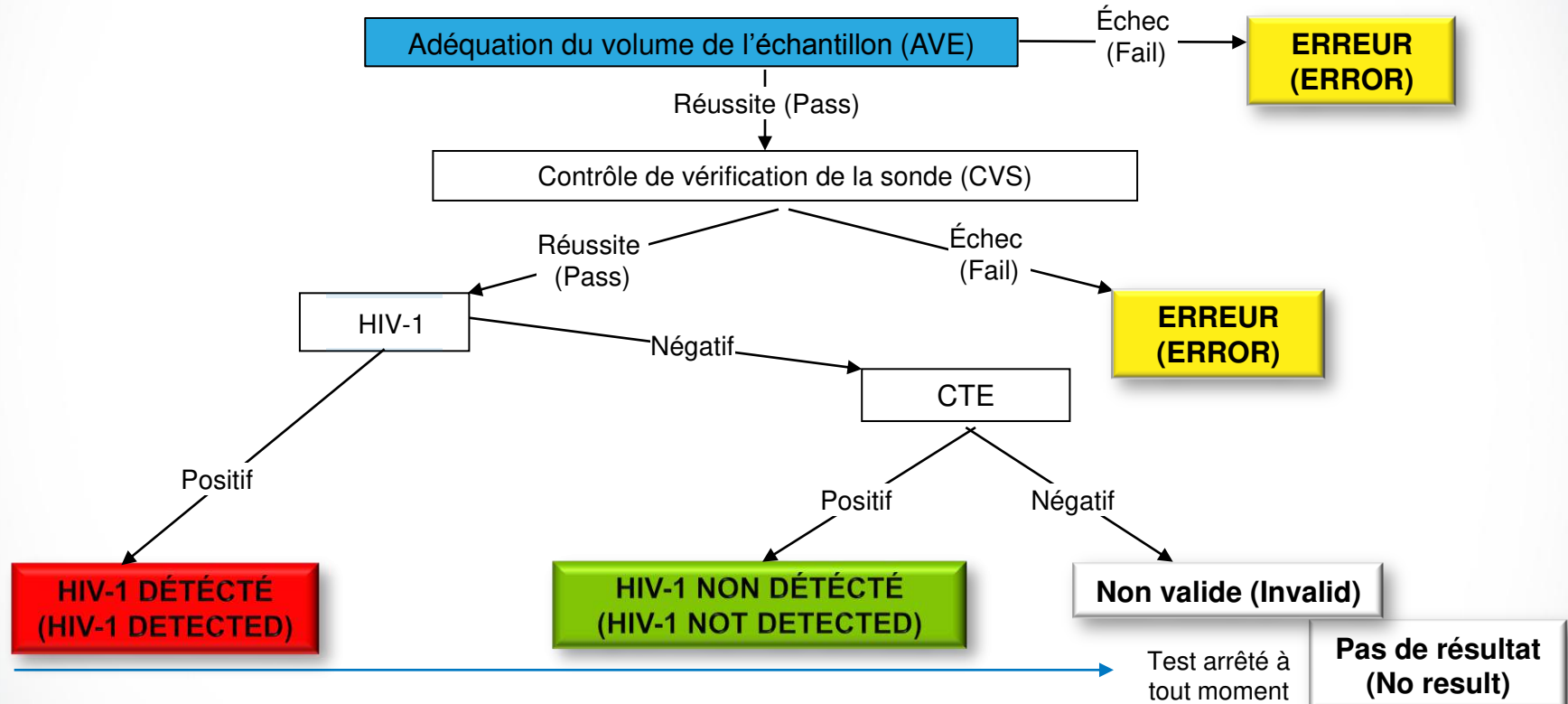
1. Prendre 1 flacon du matériel de contrôle
2. Le décongeler à température ambiante et bien mélanger
3. Immédiatement après la décongélation, placer le flacon dans de la glace
4. Transférer toute la quantité (1,2 mL) en utilisant la pipette de transfert du kit Xpert HIV-1 et l'ajouter à la chambre d'échantillon de la cartouche du test Xpert HIV-1
5. Fermer le couvercle et lancer le test sur le GeneXpert

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

# Interprétation des résultats

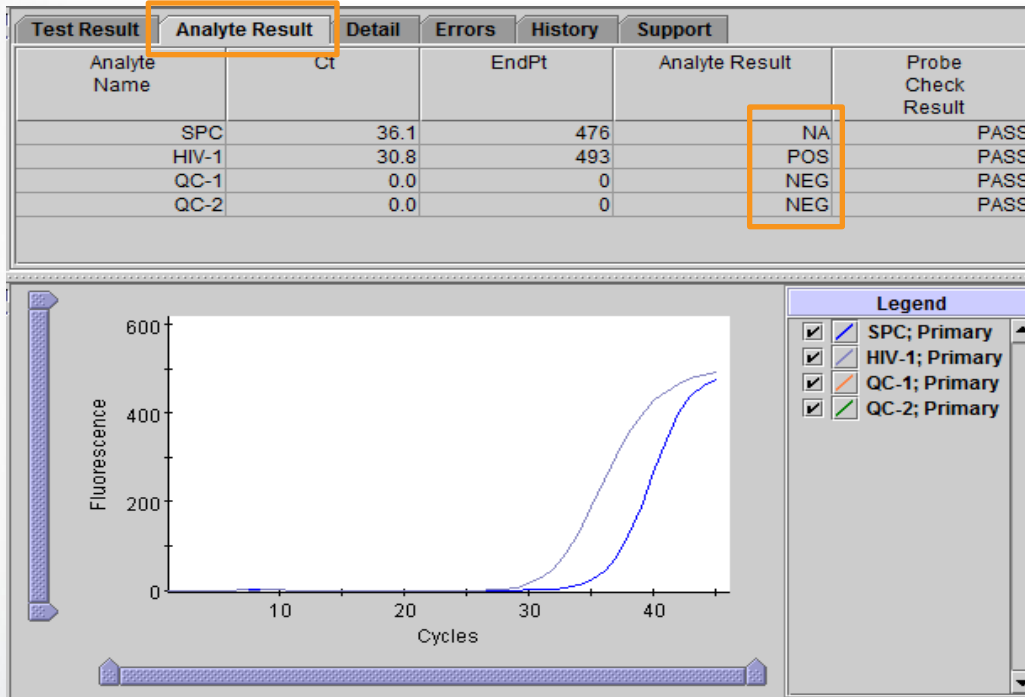


# Algorithme d'interprétation des résultats



# HIV-1 DÉTECTÉ (HIV-1 DETECTED)

HIV-1 DETECTED

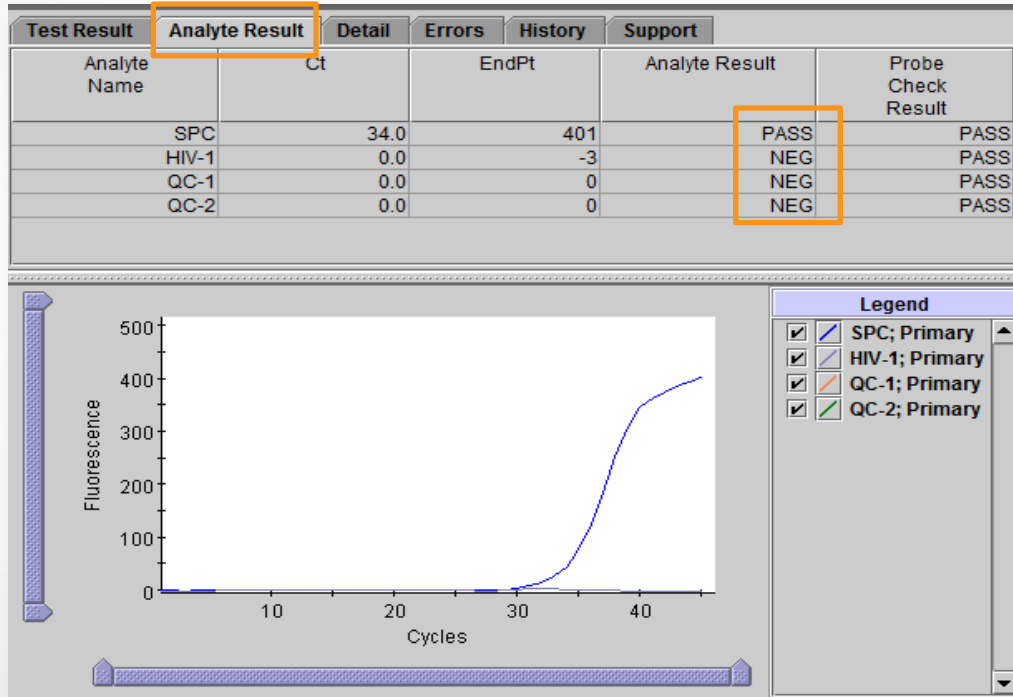


Le HIV-1 cible est détecté

- CTE : SO (sans objet) (NA) est ignoré lorsque la cible HIV-1 est amplifiée
- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)

# HIV-1 NON DÉTÉCTÉ (HIV-1 NOT DETECTED)

HIV-1 NOT DETECTED



Le HIV-1 cible n'est PAS détecté

– CTE : RÉUSSITE (PASS)

La valeur Ct du CTE est dans la plage valide

– Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)



# Dépannage



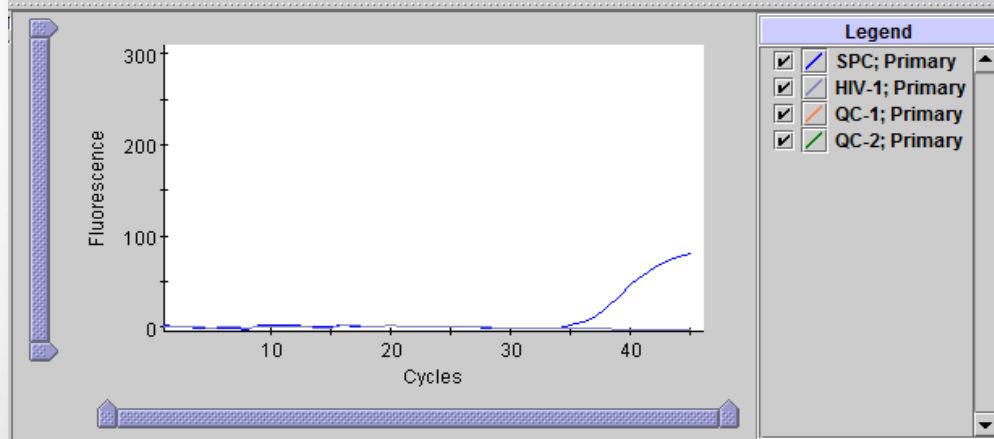
# Facteurs affectant négativement les résultats

- Prélèvement incorrect de l'échantillon
  - Les performances avec d'autres dispositifs de prélèvement et d'autres types d'échantillon n'ont pas été évaluées
- Transport ou conservation incorrect de l'échantillon prélevé
  - Consulter la notice pour obtenir des consignes de manipulation appropriée
- Procédure de test incorrecte
  - Une modification des procédures de test, une erreur technique et une confusion entre les échantillons peuvent avoir un impact sur les résultats des tests
  - Il est nécessaire de bien respecter la notice pour éviter des résultats erronés
- Substance interférente
  - Des résultats faussement négatifs ou des résultats non valides peuvent être observés en cas de présence de substances interférentes

# Résultat NON VALIDE (INVALID)

INVALID

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
SPC	39.9	80	FAIL	PASS	
HIV-1	0.0	-3	INVALID	PASS	
QC-1	0.0	0	NEG	PASS	
QC-2	0.0	0	NEG	PASS	



La présence ou l'absence de la cible HIV-1 ne peut pas être déterminée

- CTE : ÉCHEC (FAIL)
  - La valeur Ct du CAE n'est pas dans la plage valide
- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)

## Causes possibles

- Prélèvement d'échantillon incorrect (p. ex. utilisation du tube d'héparine)
- Préparation incorrecte de l'échantillon
- Conservation incorrecte des cartouches
- Traitement inefficace de l'échantillon dans la cartouche
- Présence d'inhibiteurs dans l'échantillon

## Solution

- Répéter le test avec une nouvelle cartouche et un nouvel échantillon

# Interférence avec le test

- Substances potentiellement interférentes
  - 5 substances endogènes au total ont été évaluées
  - Des niveaux élevés de ces substances endogènes n'affectaient pas la spécificité du test ou n'interféraient pas avec la détection du HIV-1

Substance	Tested Concentration
Albumin (BSA)	90 mg/mL
Bilirubin	0.2 mg/mL
Hemoglobin	5 mg/mL
Human DNA	4 µg/mL
Triglycerides	30 mg/mL

# Résultat ERREUR (ERROR) (2096/2097)

ERROR

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Troubleshoot					
#	Description	Detail			
1	Operation terminated	Error 2097: Assay-Specific Termination Error #2: 46, 29, 1, 0			

L'adéquation du volume d'échantillon (AVE) [Sample Volume Adequacy (AVE)] réussit si elle répond aux critères d'acceptation validés.

Code d'erreur	Cause	Solution
<b>2096</b>	Aucun échantillon ajouté	<ul style="list-style-type: none"><li>– Vérifier que l'échantillon a été ajouté à la cartouche</li><li>– Vérifier que la cartouche est chargée dans les 30 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon</li></ul>
<b>2097</b>	Volume d'échantillon insuffisant	<ul style="list-style-type: none"><li>– Vérifier que le volume d'échantillon minimum est ajouté à la cartouche</li><li>– Vérifier que la cartouche est chargée dans les 30 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon</li></ul>

# PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

NO RESULT

The screenshot shows a software interface with a top navigation bar containing tabs: Test Result, Analyte Result, Detail, Melt Peaks, Errors, History, Messages, and Support. Below the navigation bar, the 'Assay Name' is 'Xpert MTB-RIF Ultra' and the 'Version' is '1'. The 'Test Result' field displays 'NO RESULT' in a blue box. Below this, there is a section labeled 'For In Vitro Diagnostic Use Only.' and at the bottom, the text '<No Data Available>' is displayed.

- Impossible de déterminer la présence ou l'absence du **bacille de Koch**.
  - CIBLE 1 : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)
  - CONTRÔLE : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)
- Vérification de la sonde : SO (sans objet)

## Causes possibles

Un résultat PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) indique que les données recueillies étaient insuffisantes.

- Test arrêté avec le bouton d'arrêt du test
- Panne électrique

## Solution

- Rétablir l'alimentation
- Répéter le test en utilisant une cartouche neuve

# Procédure de répétition du test

1



Éliminer la cartouche usagée

*Suivre les directives 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 GeneXpert



# 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'étiquette de service de l'ordinateur)
- Consigner une réclamation en ligne à l'adresse : <http://www.cepheid.com/us/support>

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



Merci.



[www.Cepheid.com](http://www.Cepheid.com)

