

# Formation technique du client au test Xpert® Ebola

Utilisation CE-IVD uniquement



# Programme de la formation

- **Xpert® Ebola\***
  - Utilisation prévue
  - 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 correctement le kit de cartouche Xpert<sup>®</sup> Ebola\*
  - 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



- Conception à double cible : Chaque cible couvrant des souches connues du virus Ebola Zaïre
  - Nucléoprotéine (NP)
  - Glycoprotéine (GP)
- Contrôles intégrés pour chaque échantillon individuel
  - Contrôle de vérification des sondes (CVS)
  - Contrôle d'adéquation de l'échantillon (CAE)
  - Contrôle interne Cepheid (CIC)
- 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® Ebola\* est un test par RT-PCR conçu pour la détection qualitative de l'ARN du **virus Ebola Zaïre** dans le sang total veineux sur EDTA, le sang périphérique prélevé au bout du doigt ou sur écouvillon buccal de sujets présentant les **signes et symptômes** de la maladie à virus Ebola (MVE), conjointement aux **facteurs de risque épidémiologiques**.

Ne pas réaliser le test Xpert Ebola à moins que le sujet ne réponde aux **critères cliniques et épidémiologiques** justifiant l'analyse de cas suspects.

Les résultats sont utilisés pour l'**identification présumptive du virus Ebola Zaïre**. L'identification définitive de l'infection par le virus Ebola Zaïre nécessite des tests complémentaires et des procédures de confirmation en collaboration avec les autorités de santé publique et d'autres autorités pour lesquelles une notification est exigée.

# Cibles et sondes

- Test qualitatif par transcription inverse-réaction en chaîne de la polymérase (RT-PCR) en temps réel pour la détection de l'ARN du virus Ebola Zaïre
- **Détection des séquences des gènes de la nucléoprotéine (NP) et de la glycoprotéine (GP)**



- **4 sondes (NP, GP, CIC et CAE)**

# Exigences pour le test

## Systèmes GeneXpert

- Logiciel GeneXpert Dx **v4.4 a** ou ultérieure
- Logiciel Xpertise **v6.2** ou ultérieure

## Kits de test (CE-IVD)\*

- GXEBOLA-CE-50

## Matériel nécessaire, mais non fourni

- Lancettes jetables pour le prélèvement au bout du doigt
- Écouvillons jetables *SWAB/E-50*
- Vortex
- Équipement de protection individuelle (EPI)
- Eau de Javel au 1:10
- Éthanol à 70 % 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, des lunettes de protection et des gants propres
- Pendant la préparation des cartouches, changer de gants entre les échantillons

## Paillasse

- Nettoyer systématiquement les surfaces de travail avec :
  - ✓ Une concentration finale d'eau de Javel ménagère de 1:10 (utilisée dans les 24 heures suivant la préparation)\*
  - ✓ Éthanol à 70 % ou éthanol dénaturé à 70 %
- *\* Veuillez consulter le manuel d'utilisation du GeneXpert pour obtenir les détails complets*
- 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 de pipette à filtre le cas échéant
- Suivre les exigences du fabricant pour l'étalonnage et la maintenance du matériel

# Manipulation des kits



# Contenu du kit Xpert® Ebola\*

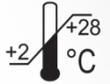
Test Xpert® Ebola	
Numéro de référence	<b>GXEBOLE-CE-50</b>
Boîte de cartouches	5
Boîte de kit	1
CD	Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF) Instructions pour l'importation du test Notice (PDF)
Cartouches par kit	50 (5 boîtes de 10)
Flacons de réactif échantillon	50 x 2,5 ml
Pipettes de transfert	50 x 1 ml



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<sup>®</sup> Ebola\*

- Conserver les cartouches et les réactifs du test Xpert Ebola à une température comprise entre 2 °C 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 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



# Avvertissements 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



# Avertissements et mises en garde

- 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 procédures environnementales d'élimination des déchets de l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs inutilisés. 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].

# Limites du test Xpert® Ebola\*

- Des résultats négatifs n'excluent pas l'infection par le virus Ebola Zaïre ou par d'autres virus Ebola, et ceux-ci ne doivent pas être utilisés comme seul critère pour la prise de décisions concernant la prise en charge du patient.
- Le niveau de virus Ebola présent dans le sang et les écouvillons buccaux de sujets qui présentent une infection systémique précoce est inconnu.
- L'obtention d'échantillons cliniques positifs pour Ebola étant difficile, le test Xpert Ebola a été évalué en utilisant un nombre limité d'échantillons artificiels enrichis avec le virus Ebola Zaïre vivant ou l'ARN du virus Ebola Zaïre. Le test n'a pas été évalué avec le sang et les écouvillons buccaux de sujets infectés par le virus Ebola Zaïre.
- Les échantillons de patients ayant reçu des traitements ou vaccins à base de séquences d'acide nucléique dérivées du virus Ebola Zaïre peuvent produire des résultats de test faussement positifs ou confondants.

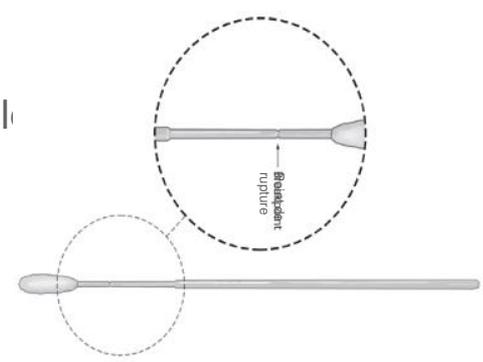
# Prélèvement, conservation et transport des échantillons



# Prélèvement d'échantillon de sang total veineux

- Les échantillons de sang total doivent être prélevés par ponction veineuse dans des tubes EDTA conformément aux directives du fabricant
- 100 µl minimum sont nécessaires
- Préparer un écouvillon\* afin de poursuivre la préparation de l'échantillon

Écouvillon\* - N° de réf. Cepheid SWAB/E-50 pour les kits CE-IVD



## Important :

**Procéder immédiatement à l'étape de préparation de l'échantillon pour s'assurer d'inactiver le virus Ebola**

*\*Directives de l'OMS sur la manière de prélever des échantillons de sang en toute sécurité :  
<http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/blood-collect-en.pdf>*

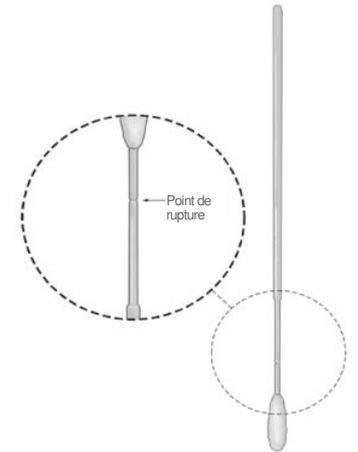
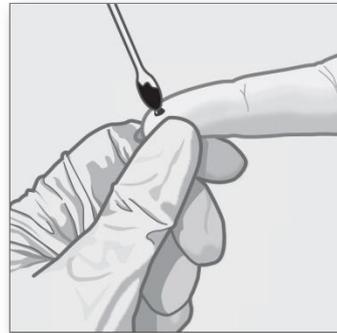
# Prélèvement de sang capillaire au bout du doigt

- Utiliser l'écouvillon\* pour prélever les échantillons de sang au bout du doigt
- Laisser le sang imprégner au moins les 2/3 de la tête de l'écouvillon

Écouvillon\* - N° de réf. Cepheid SWAB/E-50 pour les kits CE-IVD



Ponction avec la lancette

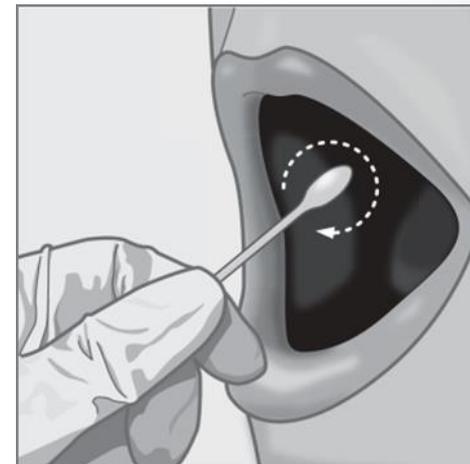


## Important :

**Procéder immédiatement à l'étape de préparation de l'échantillon pour s'assurer d'inactiver le virus Ebola**

# Prélèvement d'échantillon buccal

- Utiliser l'écouvillon SWAB/E-50 pour prélever des échantillons
- Mettre immédiatement l'extrémité de l'écouvillon au contact de l'intérieur de la joue
- Éviter de mettre l'écouvillon en contact avec une autre surface
- Les échantillons sur écouvillons peuvent être prélevés sur des personnes vivantes ou décédées
- Prélever l'échantillon conformément aux directives de l'OMS\*  
\*WHO/EVD/Guidance/Lab/14.2

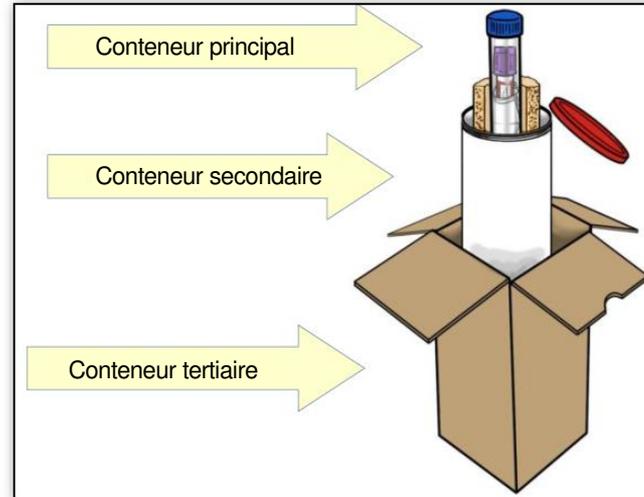


# Conservation des échantillons

Température	 Type d'échantillon	Durée de conservation
2-8 °C	Échantillon (de sang ou buccal) traité avec le réactif	72 heures
8-28 °C	Échantillon <b>buccal</b> traité avec le réactif	24 heures
	Échantillon de <b>sang</b> traité avec le réactif	48 heures
28-35 °C	Échantillon de <b>sang</b> traité avec le réactif	24 heures

# Transport des échantillons

- Transporter les échantillons traités avec le réactif d'inactivation de l'échantillon vers les laboratoires d'analyse conformément aux directives de l'OMS relatives au transport des échantillons contaminés par le virus Ebola



<http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/blood-collect-en.pdf>

# Préparation des cartouches



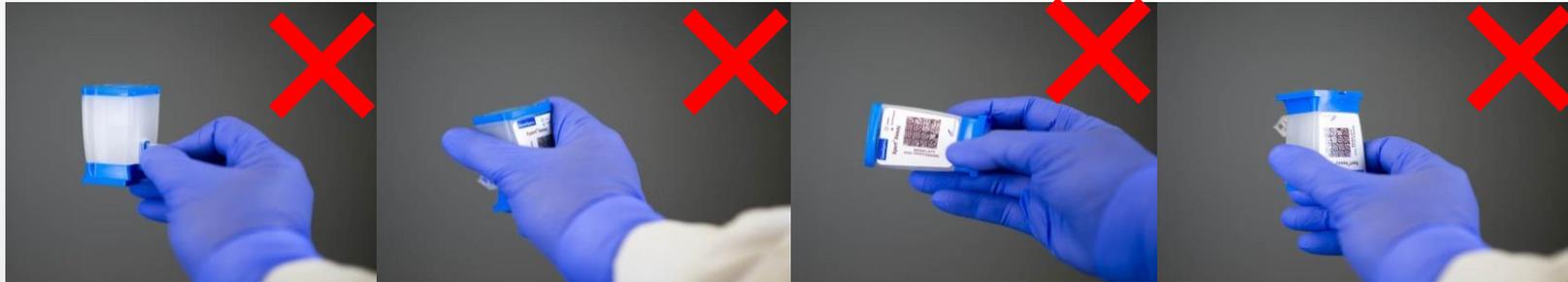
# Techniques appropriées de manipulation de la cartouche

## Correct

- Ne pas toucher le tube réactionnel
- Maintenir la cartouche à la verticale
- Ne pas pencher après l'ajout de l'échantillon



## Incorrect



# Préparation de la cartouche Xpert Ebola

## Sang total veineux dans des tubes EDTA

1



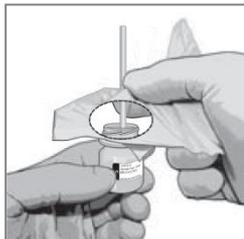
Étiqueter le flacon de réactif d'inactivation de l'échantillon avec l'ID de l'échantillon et ouvrir le couvercle

2



Placer l'écouvillon dans le tube EDTA. Laisser imprégner pendant 5 secondes

3



Insérer l'écouvillon dans le flacon de réactif d'inactivation de l'échantillon. Aligner la petite encoche sur le bord du flacon

4



Casser l'écouvillon en le pliant d'un côté

5



Fermer le couvercle du flacon de réactif d'inactivation de l'échantillon

6



Agiter l'échantillon au vortex pendant 10 secondes

7



Incuber à température ambiante pendant 20 minutes

8



Étiqueter le côté de la cartouche avec le même ID que sur le flacon de réactif d'inactivation de l'échantillon. Ouvrir le couvercle de la cartouche

9



Aspirer au moins 1 ml d'échantillon dans la pipette

10



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

11



Bien fermer le couvercle

12

Max.  
30 min.



Démarrer le test sur le système GeneXpert

# Préparation de la cartouche Xpert Ebola

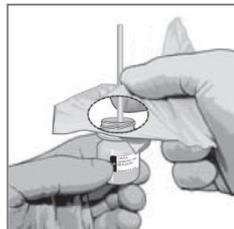
## Écouvillon imprégné de sang capillaire prélevé au bout du doigt ou écouvillon buccal

1



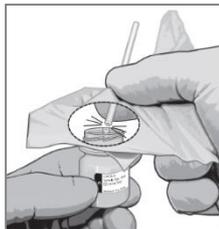
Étiqueter le flacon de réactif d'inactivation de l'échantillon avec l'ID de l'échantillon et ouvrir le couvercle

2



Insérer l'écouvillon dans le flacon de réactif d'inactivation de l'échantillon. Aligner la petite encoche sur le bord du flacon

3



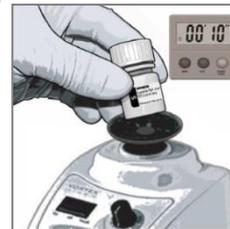
Casser l'écouvillon en le pliant d'un côté

4



Fermer le couvercle du flacon de réactif d'inactivation de l'échantillon

5



Agiter l'échantillon au vortex pendant 10 secondes

6



Incuber à température ambiante pendant 20 minutes

7



Étiqueter le côté de la cartouche avec le même ID que sur le flacon de réactif d'inactivation de l'échantillon. Ouvrir le couvercle de la cartouche

8



Aspirer au moins 1 ml d'échantillon dans la pipette

9



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

10



Bien fermer le couvercle

11

Max.  
30 min.



Démarrer le test sur le système GeneXpert

# 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

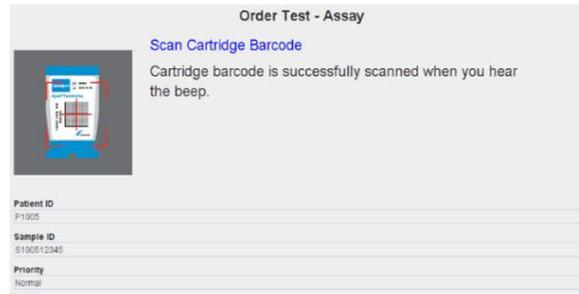


Placer la cartouche sur le tapis roulant dans les **30 minutes** qui suivent l'ajout de l'échantillon.

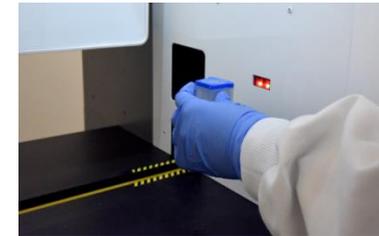
## 2 Messages indiquant de lire les codes-barres : N° d'identification de la cartouche / du patient et/ou de l'échantillon



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



## 3 Lire la cartouche



Pour des détails complets sur l'exécution d'un test, consulter la notice et les manuels d'utilisation de 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

Create Test

Patient ID  
Sample ID  
Patient ID 2  
Last Name

Name  
Select Assay Xpert® Ebola\*  
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

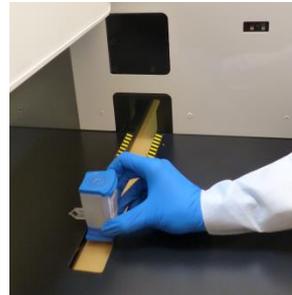
5 Le protocole de test est automatiquement sélectionné

6 Cliquer sur SOUMETTRE (SUBMIT)

7 Placer la cartouche sur le tapis roulant

**Order Test - Test Information**

<b>Patient ID</b> patientid	
<b>Sample ID</b> sampleid	
<b>Last Name</b> patient	<b>First Name</b> id
<b>Assay*</b> Xpert® Ebola*	
<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 de façon à inclure des contrôles internes permettant au système de détecter des modes d'échec spécifiques au sein de chaque cartouche.
  - Contrôles de vérification des sondes (CVS)
  - Contrôle interne Cepheid (CIC)
  - Contrôle d'adéquation de l'échantillon (CAE)

# Contrôles qualité internes

- **Contrôles 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

- **Contrôle interne Cepheid (CIC)**

- L'Armored RNA<sup>®</sup> inclus dans chaque cartouche
  - Vérifie le traitement adéquat du virus présent dans l'échantillon
  - Vérifie la lyse, la présence de l'organisme et détecte l'inhibition
  - Doit être positif dans un échantillon négatif
  - Peut être positif ou négatif dans un échantillon positif

- **Contrôle d'adéquation de l'échantillon (CAE) : HMBS (hydroxyméthylbilane synthase)**

- Vérifie que des cellules humaines ont été ajoutées à la chambre à échantillon de la cartouche

# Contrôles externes disponibles sur le marché

## Matériel de référence AccuPlex™ rEbola GP/NP

N° de référence	Description	Configuration	Conservation
0505-0001	Contrôle positif GP + NP	250 µl x 5 flacons	2-8 °C

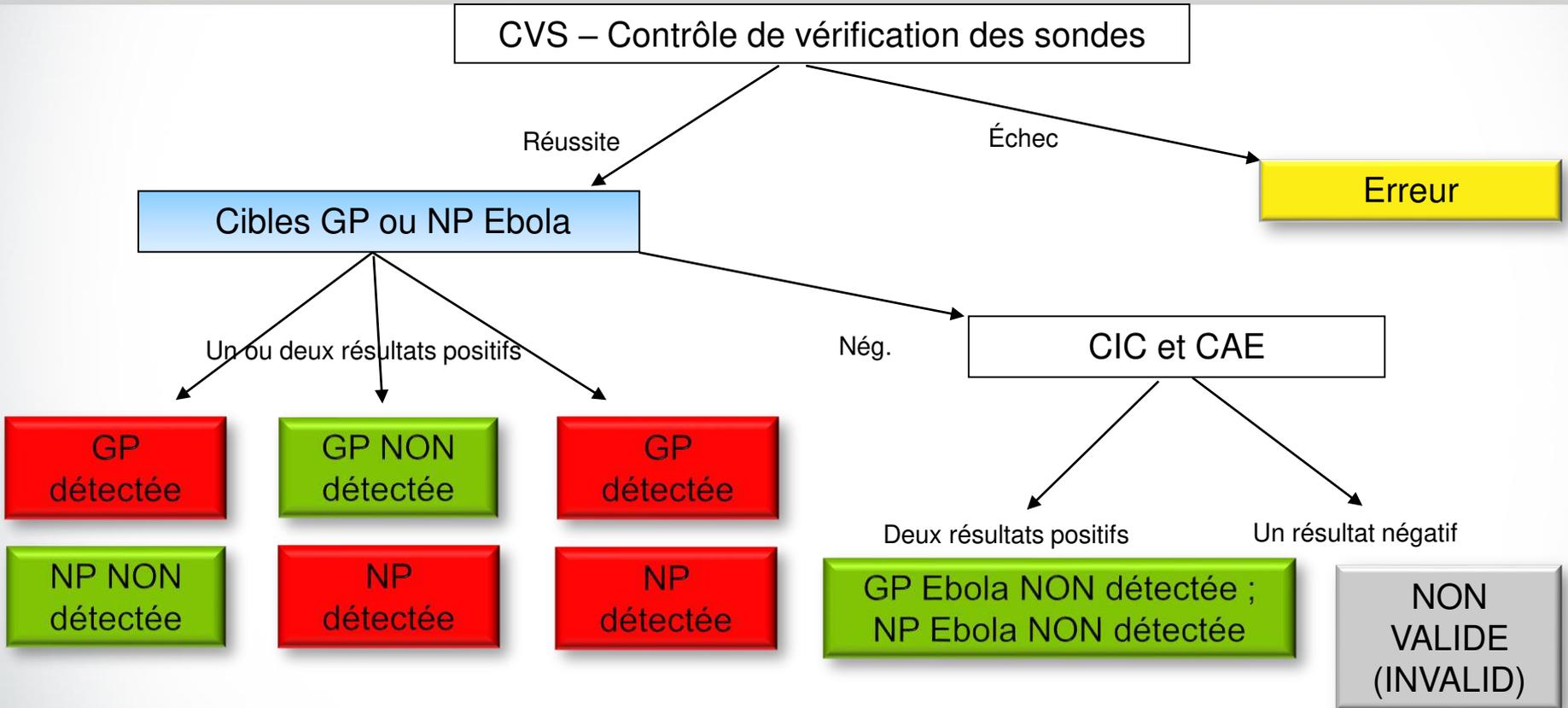
<http://www.seracare.com/>

- D'autres fournisseurs de matériel de contrôle qualité sont aussi disponibles.
- Les contrôles externes doivent être utilisés conformément aux organismes d'accréditation locaux ou régionaux, selon les besoins

# Interprétation des résultats

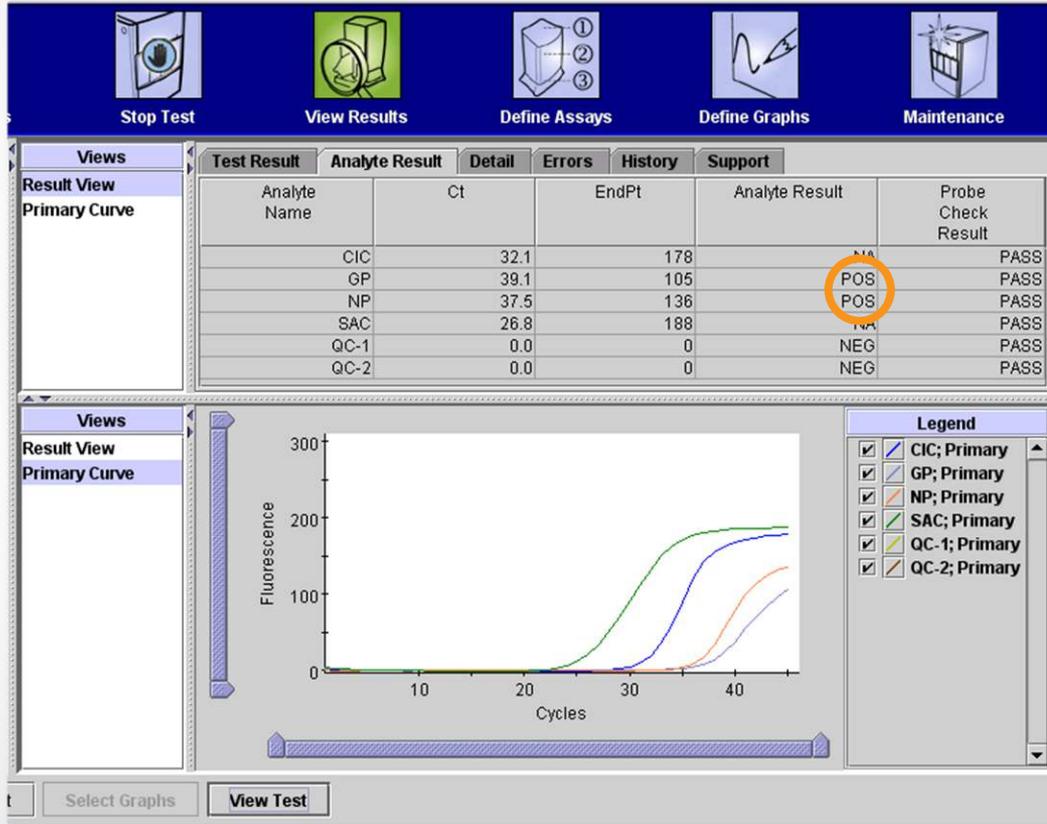


# Algorithme d'interprétation des résultats



# GP Ebola DÉTECTÉE ; (Ebola GP DETECTED); NP Ebola DÉTECTÉE (Ebola NP DETECTED)

Test Result **Ebola GP DETECTED;**  
**Ebola NP DETECTED**

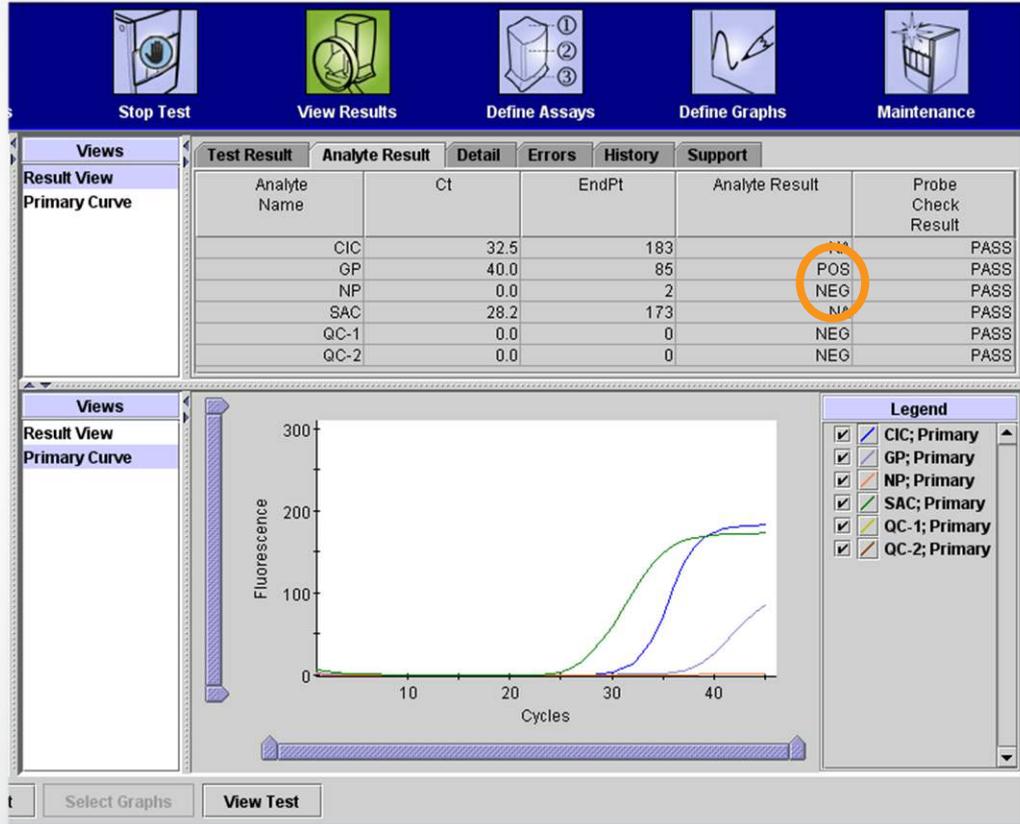


- Les cibles GP et NP du virus EBOLA sont détectées et les valeurs Ct sont dans la plage valide
- CAE : SO (sans objet)
  - Le CAE est ignoré en raison de l'amplification des cibles du virus EBOLA
- CIC : SO (sans objet)
  - Le CIC est ignoré en raison de l'amplification des cibles du virus EBOLA
- Vérification des sondes : RÉUSSITE

# GP Ebola DÉTECTÉE ; (Ebola GP DETECTED;) NP Ebola NON DÉTECTÉE (Ebola NP NOT DETECTED)

Test Result

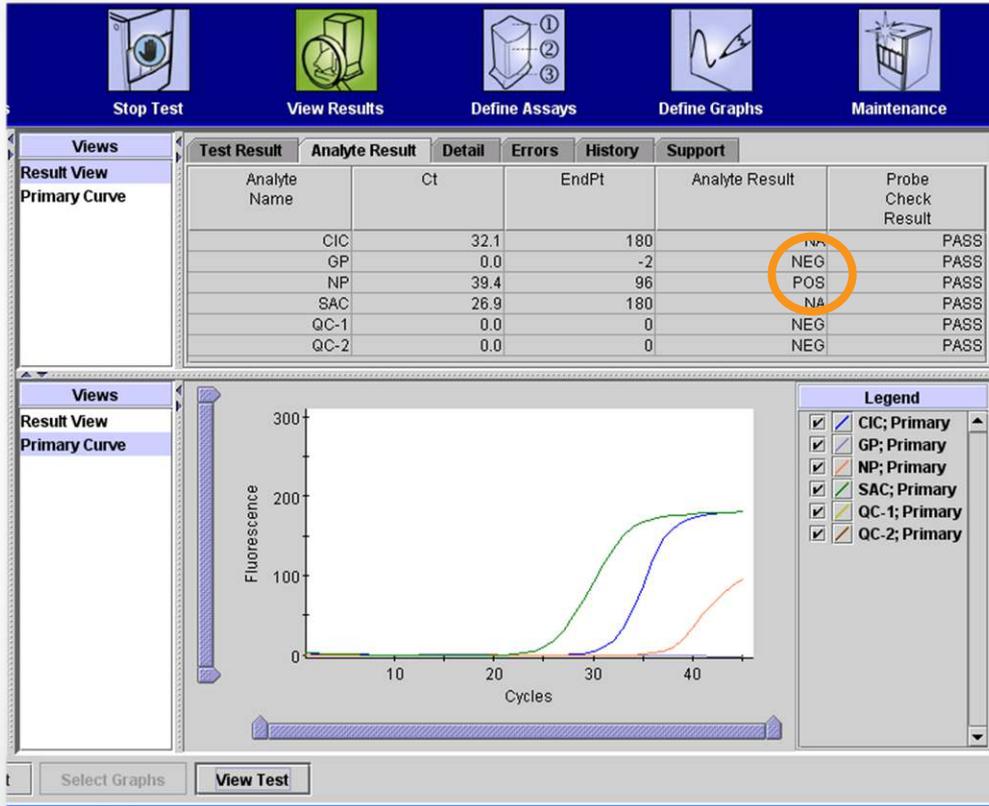
**Ebola GP DETECTED;**  
**Ebola NP NOT DETECTED**



- La cible GP du virus EBOLA est détectée et la valeur Ct est dans la plage valide
- CAE : SO (sans objet)
  - Le CAE est ignoré en raison de l'amplification des cibles du virus EBOLA
- CIC : SO (sans objet)
  - Le CIC est ignoré en raison de l'amplification des cibles du virus EBOLA
- Vérification des sondes : RÉUSSITE

# GP Ebola NON DÉTECTÉE ; (Ebola GP NOT DETECTED;) NP Ebola DÉTECTÉE (Ebola NP DETECTED)

Test Result  
Ebola GP NOT DETECTED;  
Ebola NP DETECTED

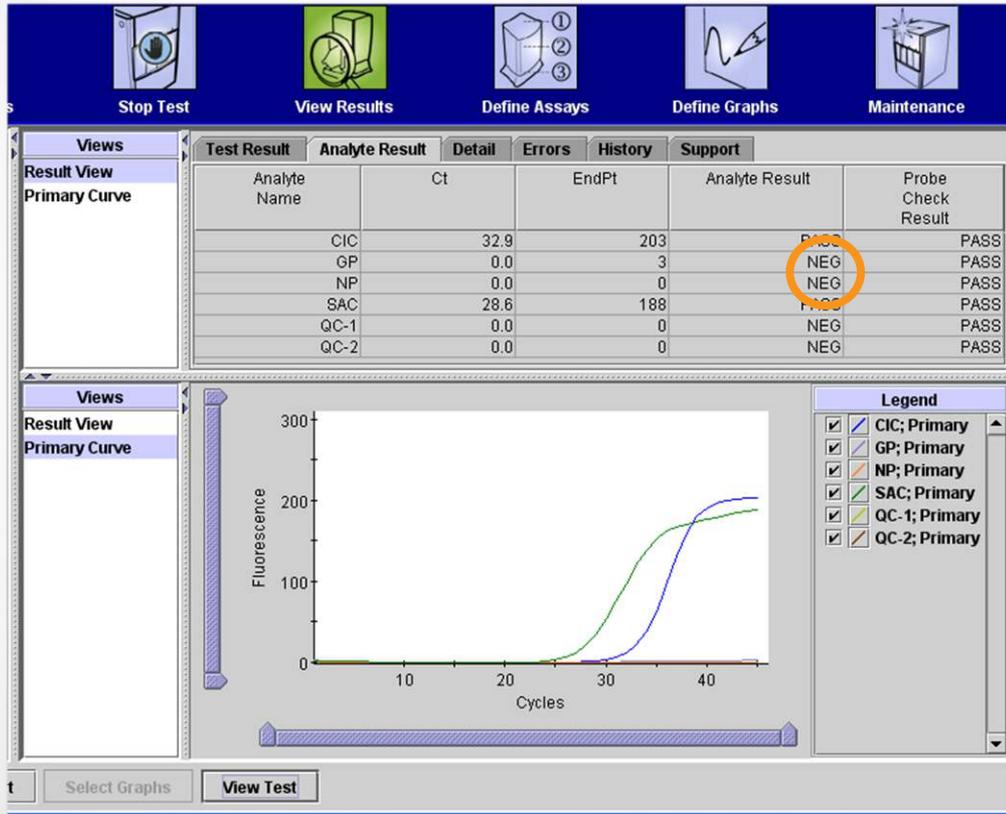


- La cible NP du virus EBOLA est détectée et la valeur Ct est dans la plage valide
- CAE : SO (sans objet)
  - Le CAE est ignoré en raison de l'amplification des cibles du virus EBOLA
- CIC : SO (sans objet)
  - Le CIC est ignoré en raison de l'amplification des cibles du virus EBOLA
- Vérification des sondes : RÉUSSITE

GP Ebola NON DÉTECTÉE ; (Ebola GP NOT DETECTED;)  
NP Ebola NON DÉTECTÉE (Ebola NP NOT DETECTED)

Test Result

Ebola GP NOT DETECTED;  
Ebola NP NOT DETECTED



- Les cibles GP et NP du virus EBOLA ne sont PAS détectées
- CAE : RÉUSSITE
  - La valeur Ct du CAE est dans la plage valide
- CIC : RÉUSSITE
  - La valeur Ct du CIC est dans la plage valide
- Vérification des sondes : RÉUSSITE

# Dépannage

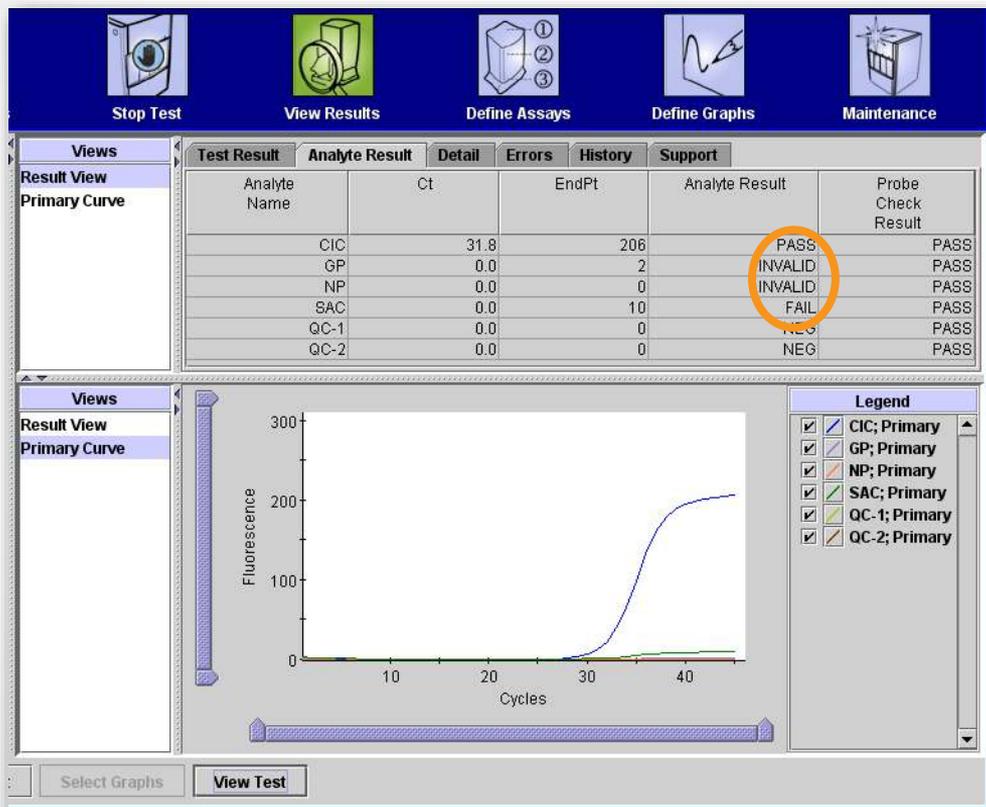


# Facteurs affectant négativement les résultats

- Prélèvement incorrect de l'échantillon
  - La charge virale dans l'échantillon est inférieure à la limite de détection du test
  - Les performances avec d'autres types d'échantillon 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

# Résultat NON VALIDE (INVALID)

Test Result **INVALID**



- La présence ou l'absence des cibles GP et NP du virus Ebola est impossible à déterminer.
- CAE : ÉCHEC (FAIL) ; le signal n'a pas de valeur Ct dans la plage valide et/ou un point final inférieur à la valeur minimum définie.
- Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi

## Causes possibles

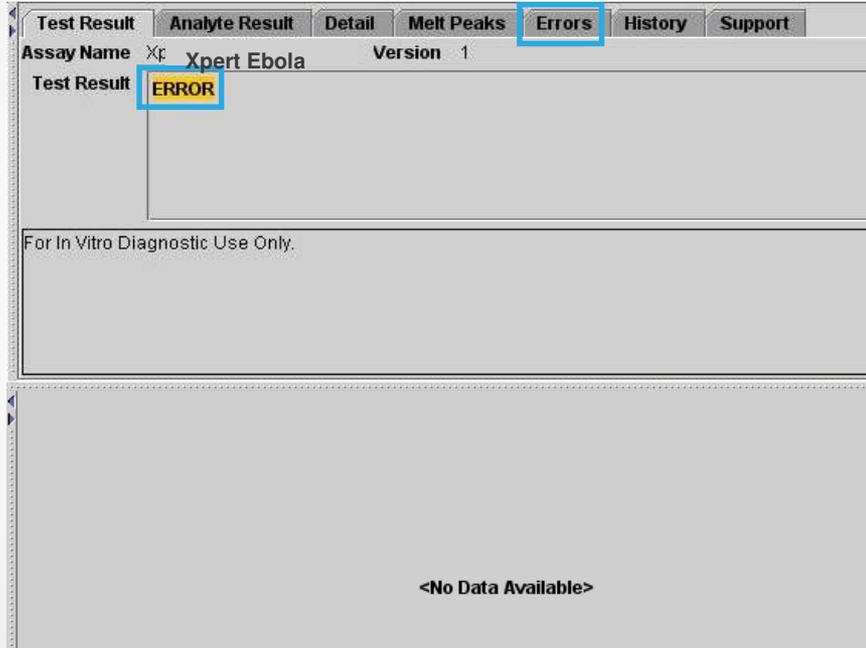
- Prélèvement ou préparation incorrect(e) de l'échantillon
- Présence des substances interférentes dans l'échantillon

## Solution

- Répéter le test en utilisant une cartouche neuve

# ERREUR (ERROR)

ERROR



La présence ou l'absence des cibles NP ou GP est impossible à déterminer. Répéter le test conformément à la procédure de répétition du test de la notice.

GP/NP : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

CAE : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

Vérification des sondes : ÉCHEC (FAIL) ; un ou tous les résultats de vérification des sondes ont échoué

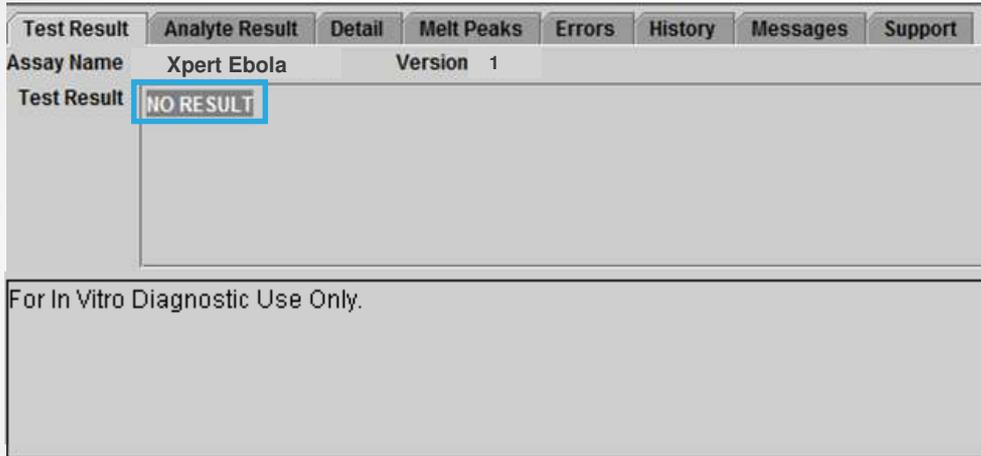
Si la vérification des sondes a réussi, l'erreur est due au dépassement de la limite de pression maximale au-delà de la plage acceptable ou à la défaillance d'un composant du système.

## Solution

Répéter le test en utilisant une cartouche neuve.

# PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

NO RESULT



La présence ou l'absence de GP/NP est impossible à déterminer.

Un résultat **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)** indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours.

GP/NP : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

CAE : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

Vérification des sondes : SO (sans objet)

## Causes possibles

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

- Test arrêté avec le bouton Arrêter un test
- Panne électrique

## Solution

- Rétablir l'alimentation

# 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



# Support technique

- Avant de contacter le service du support 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)
- Consignez une réclamation en ligne en utilisant le lien suivant : <http://www.cephaid.com/us/support> :  
*Créer un dossier d'assistance technique (Create a Support Case)*

Merci.



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

