

Formation technique au test Xpert® HBV Viral Load

Utilisation CE-IVD uniquement

Centre de formation Cepheid



Programme de la formation

- **Xpert® HBV Viral Load**
 - 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® HBV Viral Load et les kits de prélèvement d'échantillon
 - Suivre les précautions appropriées de sécurité en laboratoire
 - Prélever les types d'échantillon appropriés et transporter l'échantillon
 - Préparer la cartouche et lancer le test Xpert® HBV Viral Load
 - Comprendre la stratégie de contrôle du test
 - Rapporter les divers résultats générés par le logiciel

La solution Cepheid



- Détecte et quantifie la cible VHB
 - Des résultats fiables avec une plage linéaire entre 10 et 1 000 000 000 UI/ml
- Contrôles intégrés pour chaque échantillon individuel
 - Adéquation du volume de l'échantillon (AVE)
 - Contrôle de vérification de la sonde (CVS)
 - Référence interne quantitative (Internal Quantitative Standards, IQS), niveaux haut (H) et bas (L)
- Résultats obtenus en environ 60 minutes
- Système de cartouche close réduisant au minimum le risque de contamination
- Résultats à la demande, 24 heures sur 24 et 7 jours sur 7
- Accès aléatoire

Utilisation prévue

- Le test Xpert® HBV Viral Load est un test de diagnostic *in vitro* pour la **quantification** rapide de **l'ADN du virus de l'hépatite B (VHB)** dans le sérum ou le plasma humain (EDTA) d'individus infectés par le VHB de manière chronique, réalisé en utilisant les systèmes GeneXpert® automatisés.
- Le test Xpert® HBV Viral Load est validé pour la quantification de l'ADN du VHB sur les **génotypes A, B, C, D, E, F, G, H**
- Le test est prévu pour être utilisé conjointement au tableau clinique et aux autres marqueurs biologiques pour le **pronostic de la pathologie** et pour faciliter l'évaluation de la réponse virale au traitement antirétroviral, en mesurant la variation des taux plasmatiques ou sériques de l'ADN du VHB.
- Le test n'est pas conçu pour être utilisé en tant que test de dépistage d'une infection au VHB chez les donneurs de sang ni comme test diagnostique pour confirmer la présence d'une infection par le VHB.

Cibles et sondes

- **Cible**
 - ADN du VHB

- **Sondes**
 - 1 sonde pour référence interne quantitative - Haut
 - 1 sonde pour référence interne quantitative - Bas
 - 1 sonde pour VHB

Prérequis pour le test Xpert® HBV Viral Load

Systemes GeneXpert

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

Kits de test (CE-IVD)

- GXHBV-VL-CE-10

Prélèvement de l'échantillon

- Tubes de prélèvement K2-EDTA / PPT-EDTA ou de sérum

Autres fournitures

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

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 au 1:10
 - ✓ solution d'éthanol à 70 %
- Après le nettoyage, s'assurer que les surfaces de travail sont sèches

Conservation des spécimens, 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® HBV Viral Load

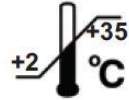
Numéro de référence	GXHBV-VL-CE-10
Tests par kit	10
CD du kit	Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF)
	Instructions pour l'importation du test
	Notice (PDF)
Pipettes de transfert	10 (1 ml)
Conservation	2 à 35 °C



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.

Avertissements et mises en garde

- Conserver les cartouches et les réactifs du test Xpert[®] HBV Viral Load à une température comprise entre 2 °C et 35 °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 uniquement au moment d'ajouter l'échantillon, puis fermer le couvercle et continuer le traitement
- Ne pas remplacer les réactifs du test Xpert[®] HBV Viral Load par d'autres réactifs



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® HBV Viral Load 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 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® HBV Viral Load

- Les performances du test Xpert® HBV Viral Load n'ont pas été démontrées pour des échantillons autres que ceux qui ont été validés, c.-à-d., le **sérum et le plasma**
- Les performances du test Xpert® HBV Viral Load 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

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

Prélèvement, conservation et transport des échantillons



Prélèvement des échantillons

- Le sang total doit être recueilli dans des tubes de prélèvement K2-EDTA, PPT-EDTA ou de sérum et centrifugé pour séparer le plasma ou le sérum des globules rouges, conformément aux directives du fabricant.






Pas de tube d'héparine !

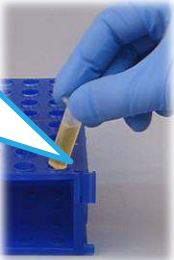





- En cas d'utilisation de la pipette de transfert fournie dans le kit, remplir la pipette jusqu'au 4^e repère (1 ml) avec du plasma ou du sérum
- En cas d'utilisation d'une pipette de précision, transférer 600 µl de plasma ou de sérum

Conservation et transport des échantillons

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

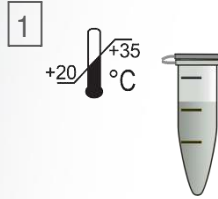
Les échantillons de plasma et de sérum restent stables pendant trois cycles de congélation/décongélation au maximum.

	Plasma / Sérum		24 heures
			7 jours
			6 semaines

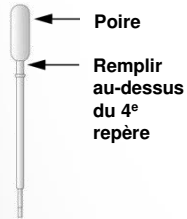
Préparation de la cartouche



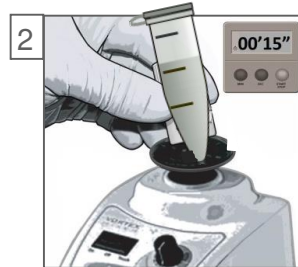
Préparation de la cartouche – Sérum ou plasma



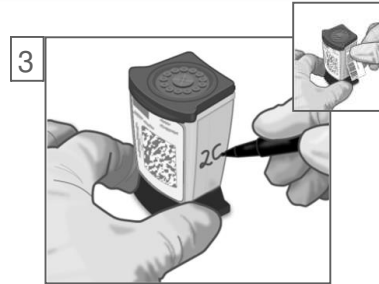
Si des échantillons congelés ou réfrigérés sont utilisés, les laisser à température ambiante jusqu'à ce qu'ils soient complètement dégelés et équilibrés à la température ambiante



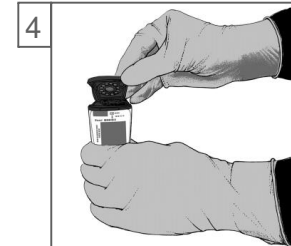
*Pipette de transfert du test HBV VL



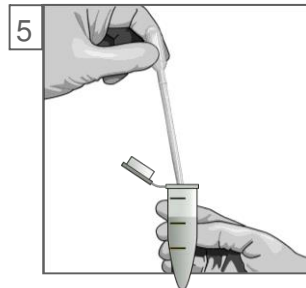
Agiter au vortex l'échantillon équilibré pendant 15 secondes. Si l'échantillon est trouble, le centrifuger pendant quelques secondes



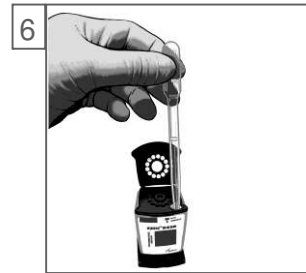
Étiqueter le côté de la cartouche avec le numéro d'identification de l'échantillon



Ouvrir le couvercle de la cartouche



Pipeter au minimum 1 ml de l'échantillon en utilisant la pipette fournie*



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



Bien fermer le couvercle

Démarrer le test sur le système GeneXpert dans les 4 heures

Exécuter un test

1 Créer un test

GeneXpert



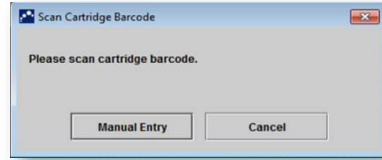
Démarrer le test dans les **4 heures** qui suivent l'ajout de l'échantillon à la cartouche

GeneXpert
Infinity



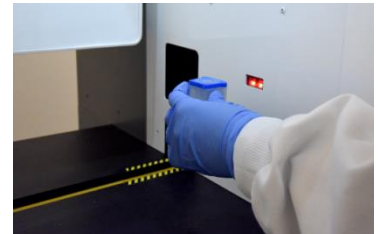
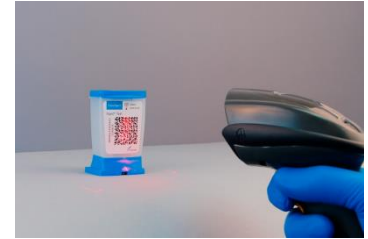
Placer la cartouche sur le tapis roulant dans les **30 minutes** qui suivent l'ajout de l'échantillon.

2 Lire les messages du code-barres : 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



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

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 HBV Viral Load
Select Module: A3
Reagent Lot ID*: 16119 Expiration Date*: 2016/1/17
Test Type: Specimen
Sample Type: Other
Notes

Start Test Scan Cartridge Barcode



Créer un test sur le logiciel Xpertise Dx

4 Remplir les champs requis

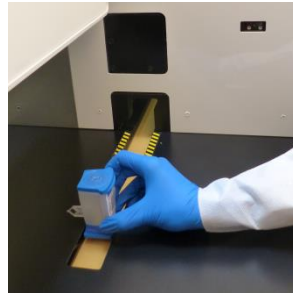
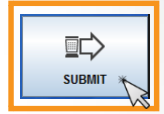
5 Le protocole de test est automatiquement sélectionné

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 HBV 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



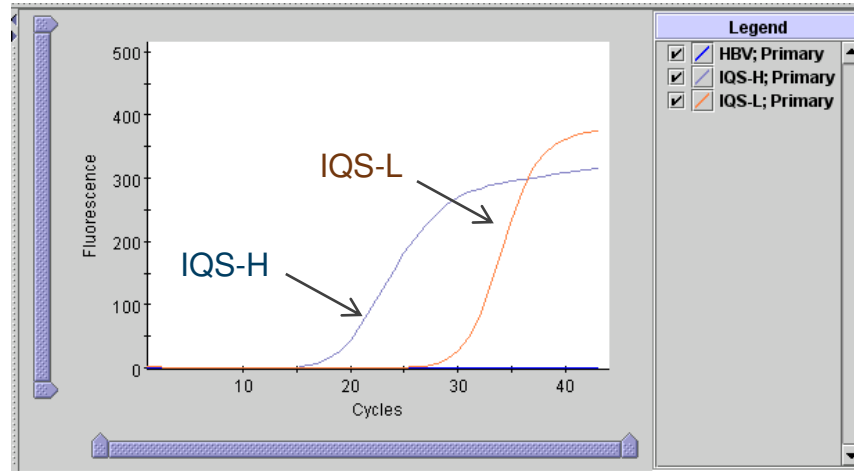
- « **Contrôles qualité** » du test **Xpert® HBV Viral Load**
 - Chaque cartouche Xpert est un dispositif de test autonome
 - Cepheid a conçu des méthodes moléculaires spécifiques intégrant des contrôles internes afin de permettre au système de détecter certains modes d'échec au sein de chaque cartouche
 - Adéquation du volume de l'échantillon (AVE)
 - Contrôle de vérification de la sonde (CVS)
 - Référence interne quantitative (Internal Quantitative Standard, IQS)

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 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 (IQS-H et IQS-L)**
 - Deux plasmides linéarisés avec une séquence sans relation avec le VHB, présentés sous la forme d'une bille sèche
 - Utilisés pour calculer la concentration d'ADN du VHB dans l'échantillon
 - Détectent l'inhibition de la PCR en temps réel associée à l'échantillon, agissant comme contrôles du traitement de l'échantillon
 - Les valeurs Ct et de la fluorescence pour IQS Bas [IQS Low] et IQS Haut [IQS High] doivent toujours être dans la plage valide

Références internes quantitatives (IQS)

- IQS-H a une valeur Ct inférieure à IQS-L
 - Référence interne quantitative haut IQS-H
 - Référence interne quantitative bas IQS-L



Contrôles externes disponibles sur le marché

Thermofisher - <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product>

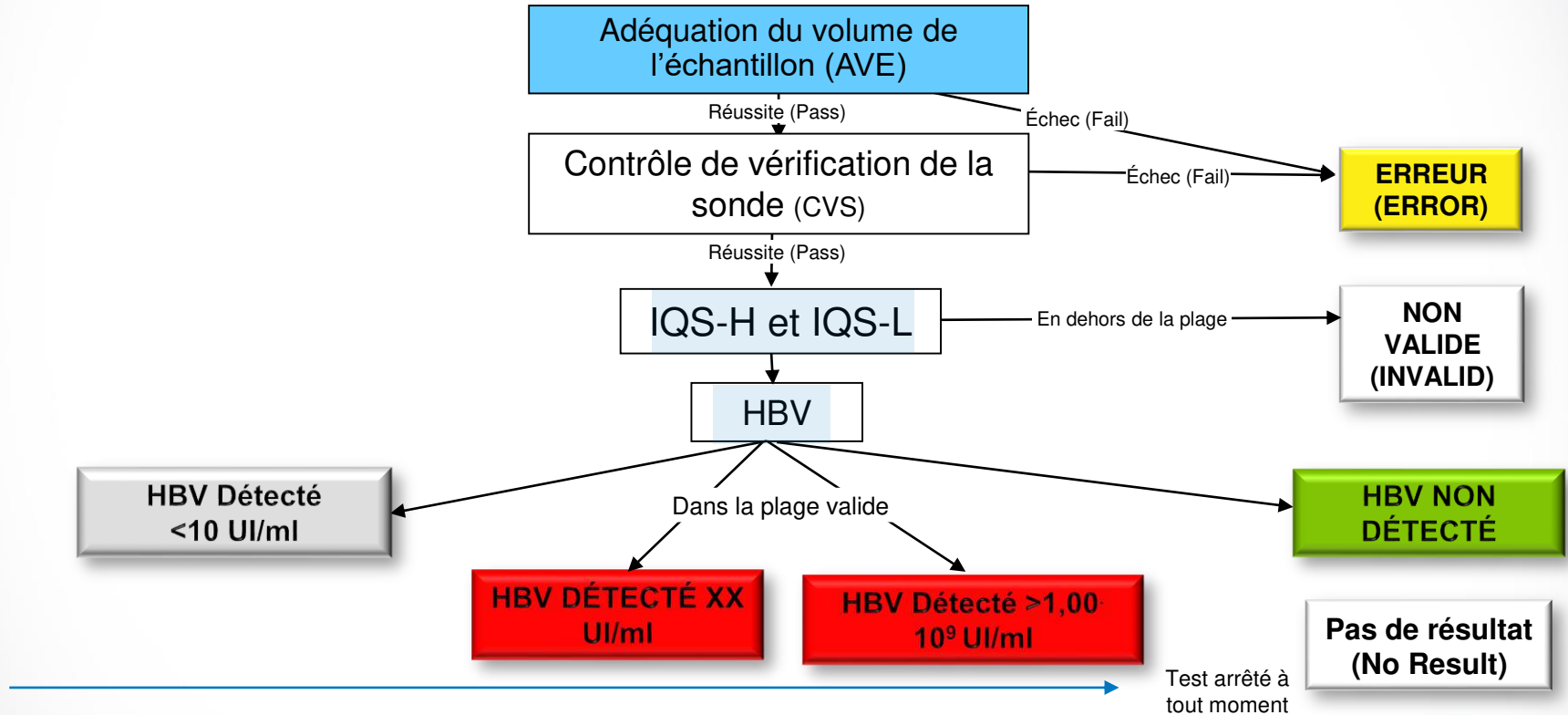
N° de référence	Description	Configuration	Conservation
965003	Contrôle haut AcroMetrix HBV	5 flacons de 1 ml	≤ -20 °C
965002	Contrôle moyen AcroMetrix HBV	5 flacons de 1 ml	≤ -20 °C
965001	Contrôle bas AcroMetrix HBV	5 flacons de 1 ml	≤ -20 °C

- 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

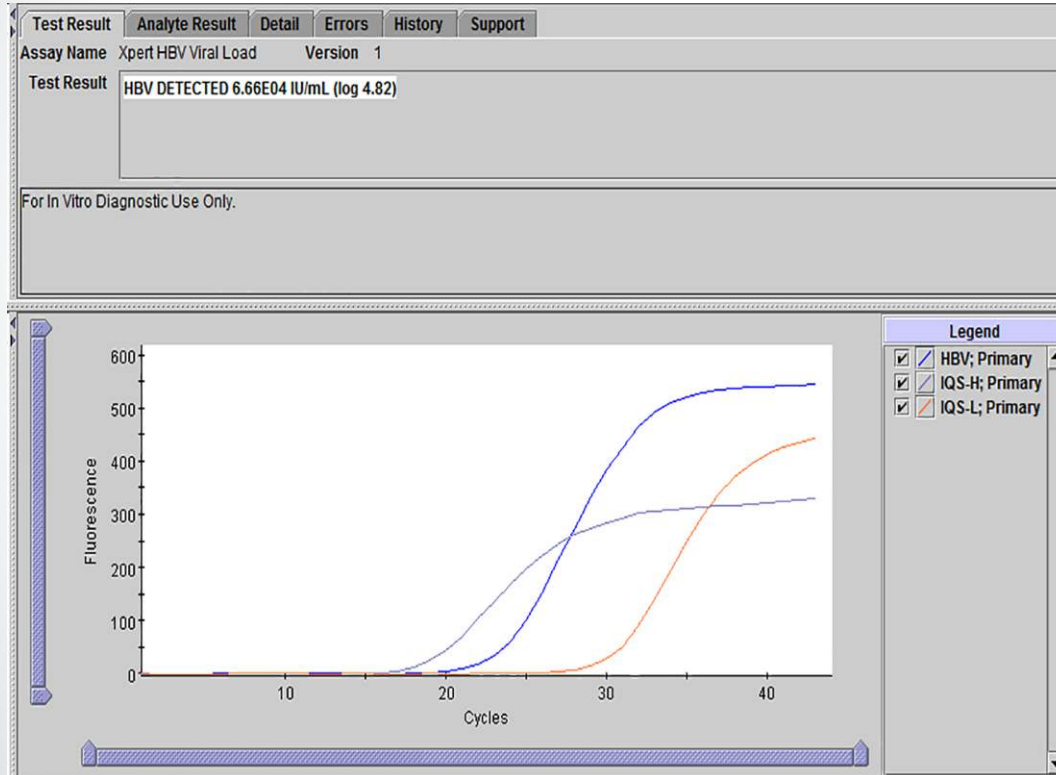
Interprétation des résultats



Algorithme d'interprétation des résultats



HBV DÉTECTÉ 6,66E04 UI/ml (HBV DETECTED 6.66E04 IU/mL)

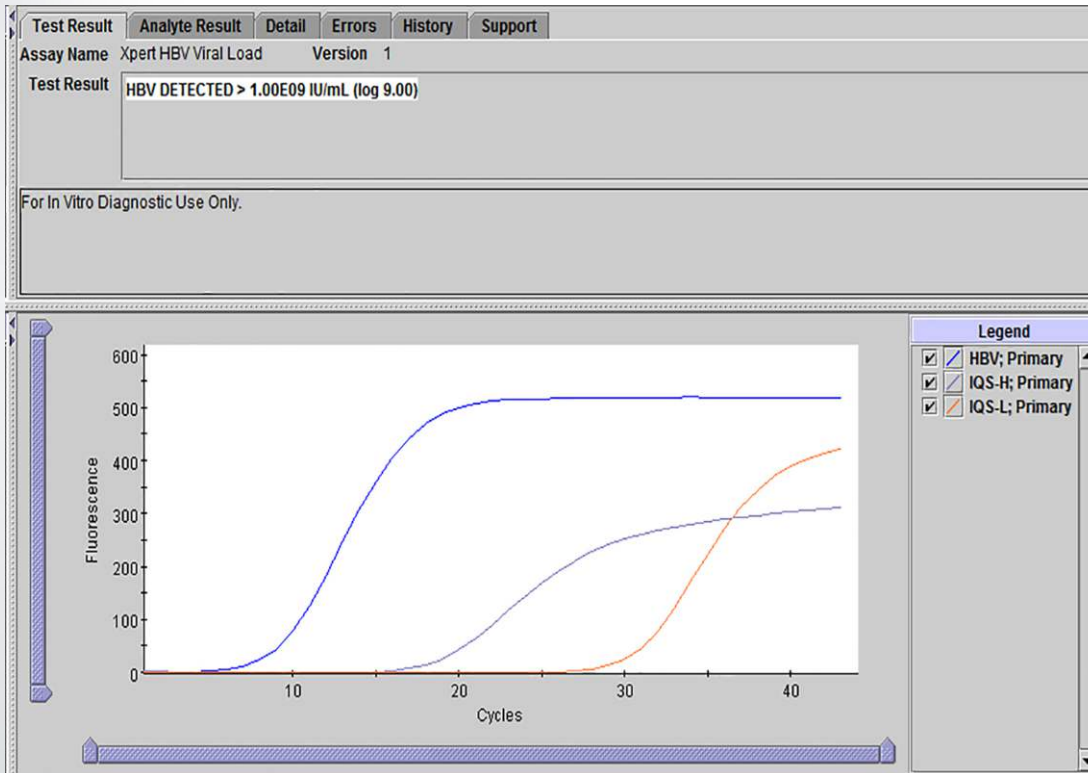


- L'ADN du VHB est détecté à une valeur quantitative
- IQS-H : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct d'IQS-H est dans la plage valide
- IQS-L : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct d'IQS-L est dans la plage valide
- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)

Exemple de calcul :

$$6,66E04 = 6,66 \times 10^4 = 66\,600 \text{ UI/ml}$$

HBV DÉTECTÉ >1,00E09 UI/ml (HBV DETECTED >1.00E09 IU/mL)



- L'ADN du VHB est détecté au-dessus de la plage quantitative du test
- IQS-H : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct d'IQS-H est dans la plage valide
- IQS-L : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct d'IQS-L est dans la plage valide
- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)

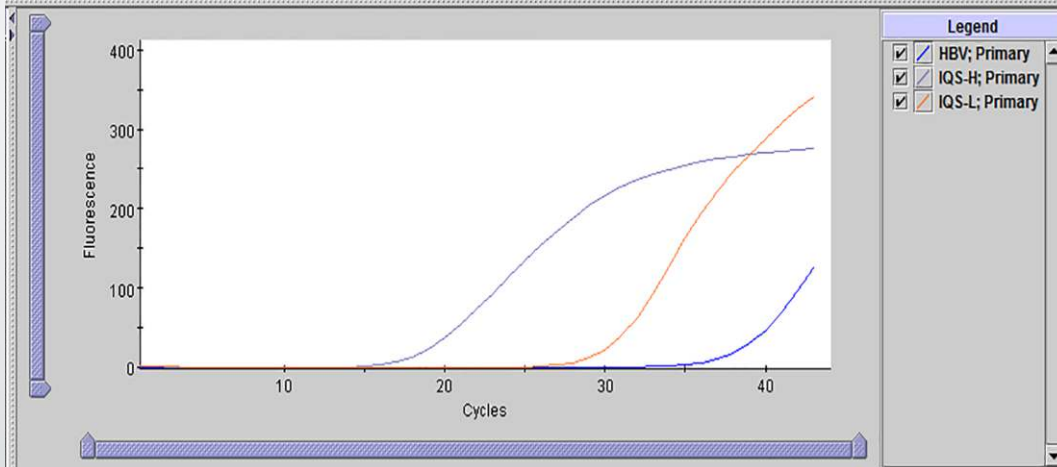
HBV DÉTECTÉ <10 UI/ml (HBV DETECTED <10 IU/mL)

Test Result Analyte Result Detail Errors History Support

Assay Name Xpert HBV Viral Load Version 1

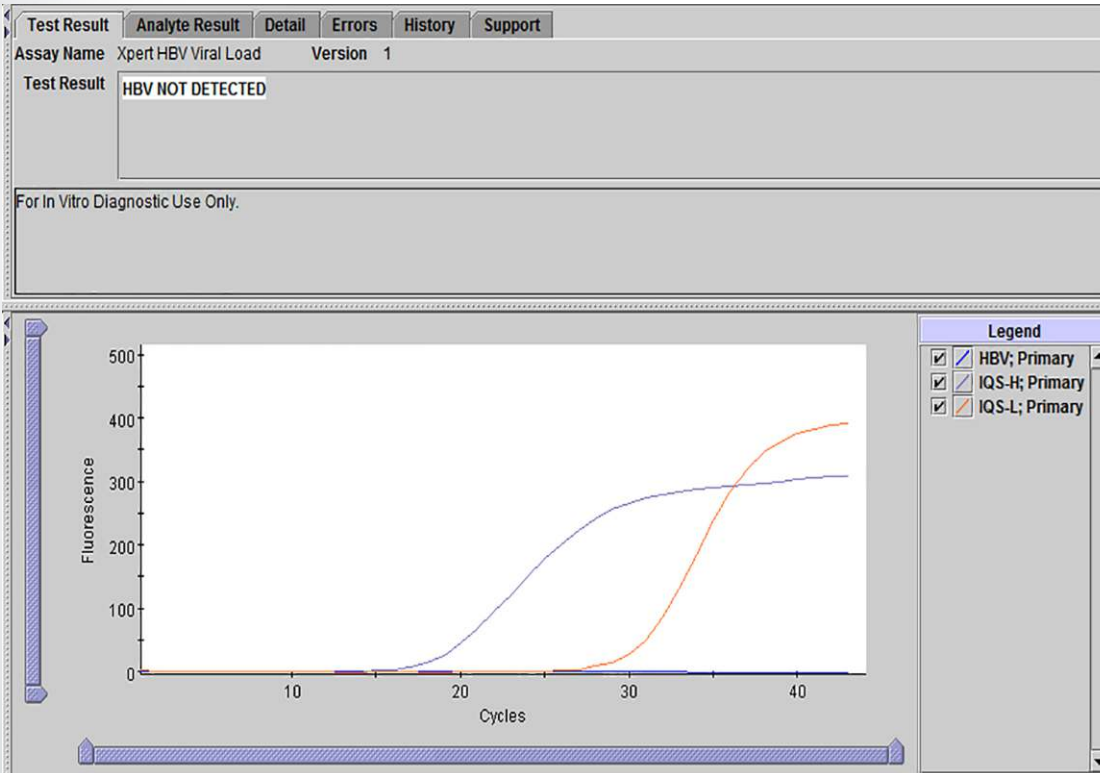
Test Result **HBV DETECTED < 10 IU/mL (log 1.00)**

For In Vitro Diagnostic Use Only.



- L'ADN du VHB est détecté en dessous de la plage quantitative du test
- IQS-H : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct d'IQS-H est dans la plage valide
- IQS-L : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct d'IQS-L est dans la plage valide
- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)

HBV NON DÉTECTÉ (HBV NOT DETECTED)



- L'ADN du VHB n'est PAS détecté
- IQS-H : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct d'IQS-H est dans la plage valide
- IQS-L : RÉUSSITE (PASS)
 - La valeur Ct d'IQS-L est dans la plage valide
- Vérification de la sonde :
RÉUSSITE (PASS)

Dépannage

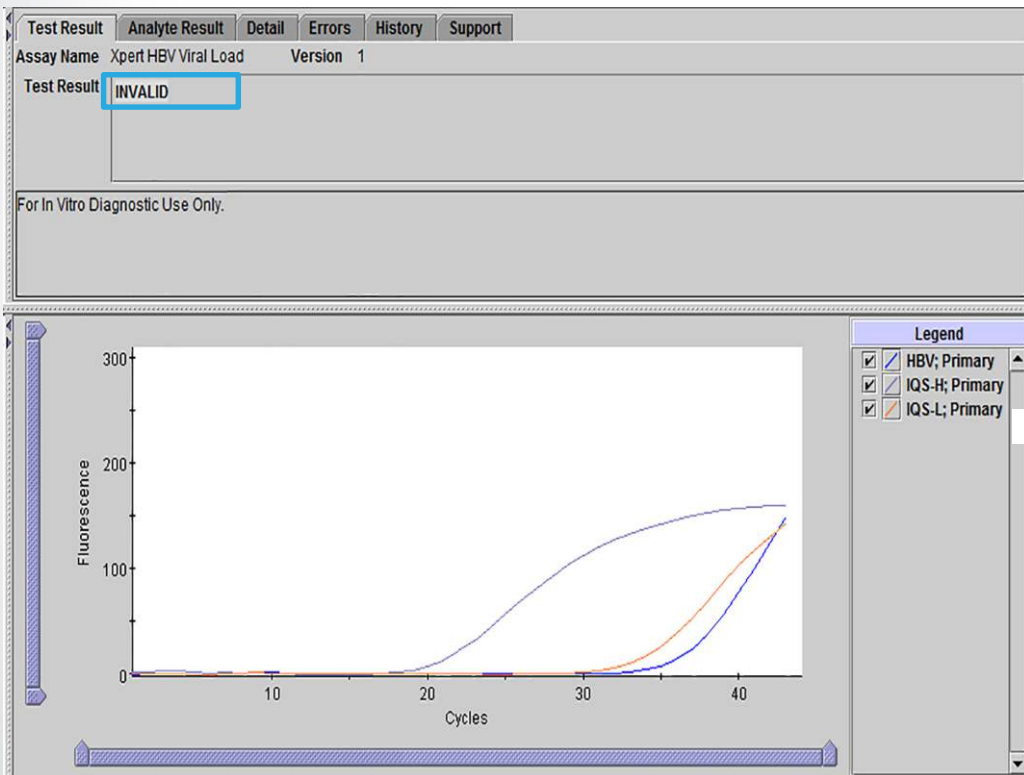


Facteurs affectant négativement les résultats

- 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



La présence ou l'absence de l'ADN du VHB est impossible à déterminer

- IQS-H et/ou IQS-L : ÉCHEC (FAIL)

Les Ct (Cycle seuil) des contrôles internes quantitatifs ne sont pas dans la plage valide

- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)

- Causes possibles (consulter le manuel d'utilisation pour plus de détails) :

- Prélèvement d'échantillon incorrect (par ex., utilisation d'un 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
- Remplissage du tube insuffisant ou bulle dans le tube de PCR

- Solution

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

Interférence avec le test

- Substances potentiellement perturbatrices (veuillez consulter la notice pour plus de détails)
 - 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 ou n'interféraient pas avec la détection du VHB

Substance	Concentration analysée
Albumine	9 g/dl
Bilirubine	20 mg/dl
Hémoglobine	500 mg/dl
ADN humain	0,4 mg/dl
Triglycérides	3000 mg/dl

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

Groupe	Médicaments
1	Zidovudine, saquinavir, clarithromycine, interféron alfa-2b, ritonavir, ombitasvir, paritaprévir, dasabuvir, didanosine
2	Sulfate d'abacavir, fosamprénavir, peginterféron alfa-2a, ribavirine, entécavir, adéfovir dipivoxil
3	Fumarate de ténofovir disoproxil, lamivudine, sulfate d'indinavir, ganciclovir, chlorhydrate de valganciclovir, aciclovir, paroxétine, telbivudine
4	Stavudine, éfavirenz, lopinavir, enfuvirtide, ciprofloxacine, fluoxétine
5	Névirapine, nelfinavir, azithromycine, valaciclovir, sertraline, ténofovir alafénamide

Résultat ERREUR (ERROR)

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) ne répond pas aux critères d'acceptation validés.

Code d'erreur	Cause	Solution
2096	Aucun échantillon ajouté	<ul style="list-style-type: none">– Vérifier que l'échantillon a été ajouté à la cartouche– Vérifier que la cartouche est chargée dans les 4 heures qui suivent l'ajout de l'échantillon
2097	Volume d'échantillon insuffisant	<ul style="list-style-type: none">– Vérifier que le volume d'échantillon minimum est ajouté à la cartouche– Vérifier que la cartouche est chargée dans les 4 heures qui suivent l'ajout de l'échantillon

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'identification de l'ordinateur)
- Consigner une réclamation en ligne en utilisant le lien suivant : <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 1800 4209 099	techsupportindia@cepheid.com
Italie	+ 39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Afrique du Sud	+ 27 861 22 76 35	support@cepheideurope.com
Royaume-Uni	+ 44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Autres pays d'Europe, du Moyen-Orient et d'Afrique	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cepheideurope.com
Belgique, Pays-Bas et Luxembourg	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Autres pays d'Europe, du Moyen-Orient et d'Afrique	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cepheideurope.com
Autres pays non répertoriés	+ 1 408 400 8495	techsupport@cepheid.com

Merci.



www.Cepheid.com