

# Formation relative au test : Xpert<sup>®</sup> vanA/vanB

Réservé uniquement à un produit CE-IVD



# Programme de la formation

- **Formation Xpert® vanA/vanB**
  - 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, les utilisateurs seront en mesure de :**
  - Conserver et manipuler le kit de cartouche Xpert<sup>®</sup> vanA/vanB et les kits de prélèvement d'échantillon
  - Suivre les précautions appropriées de sécurité en laboratoire
  - Prélever et transporter les échantillons appropriés
  - 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



- Détection des gènes *vanA* et *vanB*
- Contrôles internes intégrés
  - Contrôle de vérification de la sonde (CVS)
  - Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE)
- Système de cartouche close réduisant au minimum le risque de contamination
- Résultats à la demande
- Accès aléatoire

# Utilisation prévue

- Le test Cepheid Xpert® vanA/vanB effectué avec les systèmes GeneXpert® est un test qualitatif de diagnostic *in vitro* conçu pour la détection rapide des gènes de résistance à la vancomycine (*vanA/vanB*) sur des échantillons d'écouvillon rectal et périanal chez les patients à risque de colonisation intestinale par des bactéries résistantes à la vancomycine.
- Le test utilise une réaction en chaîne de la polymérase (PCR) en temps réel automatisée pour détecter les gènes *vanA* et *vanB* qui peuvent être associés aux entérocoques résistants à la vancomycine (ERV).
- Le test Xpert® vanA/vanB est prévu pour faciliter la détection, la prévention et le contrôle de la colonisation par les organismes résistants à la vancomycine dans les établissements de santé. Le test Xpert® *vanA/vanB* n'est pas prévu pour diagnostiquer les ERV ni pour guider ou surveiller le traitement des infections à ERV.
- Il est nécessaire de réaliser en parallèle des cultures uniquement pour récupérer des micro-organismes à des fins de typage épidémiologique, d'analyse de la sensibilité et de confirmation supplémentaire de l'identification des ERV.

# Cibles et sondes

## Cible(s)

- *vanA*
- *vanB*

## Sondes

- 1 sonde pour *vanA* - Résistance à la vancomycine et à la teicoplanine (médiée par des plasmides)
- 1 sonde pour *vanB* - Résistance à la vancomycine (transposon)
- 1 sonde pour CTE - Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) : spores *B. globigii*

# Exigences relatives à Xpert® vanA/vanB

## Kits de test (CE-IVD)

- GXVANA/B-CE-10

## Prélèvement de l'échantillon

- Dispositif de prélèvement d'échantillon Cepheid (numéro de référence Cepheid 900-0370)

## Autres fournitures

- Équipement de protection individuelle (EPI)
- Pipettes de transfert jetables stériles
- Agitateur à Vortex
- Eau de Javel domestique, diluée à 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 gants et des lunettes de protection propres
- Pendant le traitement, changer de gants entre les échantillons

## Paillasse

- Nettoyer systématiquement les surfaces de travail avec :
  - ✓ Eau de Javel à usage ménager\*, diluée à 1:10
  - ✓ solution d'éthanol à 70 %

*\* 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*

- 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 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® vanA/vanB

Numéro de référence	GXVANAB-CE-10
Cartouches par kit	10
Flacons de réactif	10
CD du kit	Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF)
	Instructions pour l'importation du test
	Notice (PDF)
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® vanA/vanB

- Conserver les cartouches et réactifs Xpert® vanA/vanB 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 dispositifs de prélèvement qui n'ont pas été validés par Cepheid
- Ouvrir le couvercle de la cartouche Xpert® vanA/vanB uniquement au moment d'ajouter l'échantillon, puis fermer le couvercle et continuer le traitement





# Avertissements et mises en garde

- Ne pas agiter la cartouche
- Ne pas utiliser une cartouche... :
  - si elle semble humide, si elle a fui ou si son couvercle semble avoir été descellé
  - 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 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 réactifs Xpert® vanA/vanB conformément aux recommandations de votre établissement et de votre pays pour l'élimination des matières dangereuses.*

# Élimination des déchets

- 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

- Un résultat de test positif n'indique pas forcément la présence d'un organisme viable. Il constitue toutefois une présomption de la présence d'ERV.
- Des résultats Xpert® *vanA/vanB* positifs pour *vanB* en l'absence de *vanA* peuvent être attribuables à des organismes autres que des ERV. Il est recommandé d'effectuer une confirmation de culture pour ces organismes.
- Selon ce qui est décrit dans les publications, certaines bactéries aérobies et anaérobies contenant le gène *vanB* peuvent être détectées et seraient détectées par ce test ; la pertinence clinique de ces résultats est cependant inconnue. Il a été suggéré que les bactéries anaérobies positives pour le gène *vanB* constituent un réservoir de déterminants de la résistance à la vancomycine, mais cette hypothèse n'est pas démontrée.
- L'analyse par le test Xpert® *vanA/vanB* doit être utilisée comme complément à d'autres méthodes disponibles. Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison d'amorce ou de sonde peuvent affecter la détection de variantes d'ERV nouvelles ou inconnues, produisant un résultat faussement négatif.

# Prélèvement et conservation des échantillons



# Prélèvement des échantillons

## Prélèvement d'échantillon rectal/périanal

1 Utiliser le dispositif de prélèvement Cepheid, n° 900-0370 pour recueillir l'échantillon.



### Echantillon rectal sur écouvillon

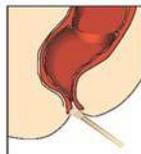
Insérer avec précaution les deux écouvillons sur environ 2,5 cm au-delà du sphincter anal (jusqu'à ce que les extrémités fibreuses ne soient plus visibles) et tourner délicatement 3 fois pour assurer l'obtention d'un échantillon uniforme sur les deux écouvillons.



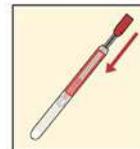
OU

### Echantillon périanal sur écouvillon

Écarter les fesses pour exposer la région périanale. Passer l'écouvillon entièrement autour de la surface périanale en s'assurant de couvrir autant de surface que possible.



3 Remettre les écouvillons dans le tube.



4 Les échantillons peuvent être conservés entre 2 et 8 °C pendant une période maximale de 5 jours.



# Conservation des échantillons

Type d'échantillon	Conservation
Écouvillons rectaux/périanaux	 pendant 5 jours



Utiliser le Cepheid Sample Collection Device (dispositif de prélèvement Cepheid)  
(n° de référence 900-0370)

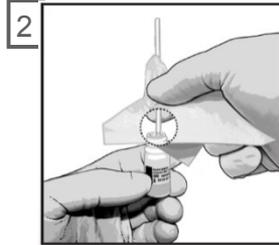
# Préparation de la cartouche



# Préparation de la cartouche



1 Se procurer une cartouche Xpert® et un flacon de réactif échantillon pour chaque échantillon.



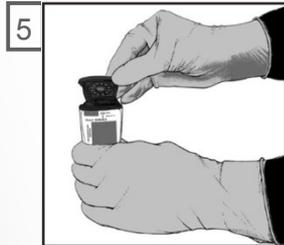
2 Insérer l'écouvillon dans le flacon de réactif échantillon.



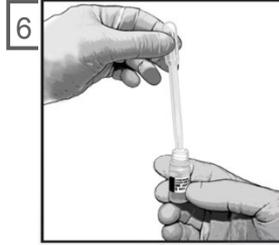
3 Casser l'écouvillon au niveau de la rainure près de l'ouverture du flacon. Remarque : ne pas tenir l'écouvillon en dessous de la rainure. Utiliser de la gaze ou un équivalent pour minimiser le risque de contamination.



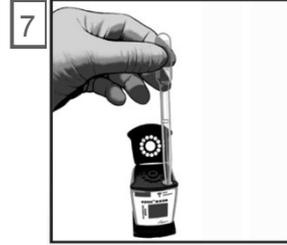
4 Reboucher le flacon de réactif échantillon et agiter au Vortex pendant 10 secondes.



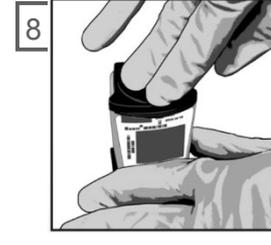
5 Ouvrir le couvercle de la cartouche.



6 Aspirer tout le contenu du flacon de réactif échantillon à l'aide d'une pipette de transfert jetable.



7 Vider la pipette dans la chambre de l'échantillon.



8 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.

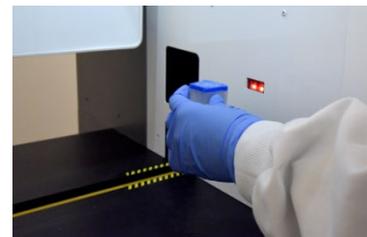
## 2 Lire les messages du code-barres :

N° ID 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

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: **Nom du test Xpert®** (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™

4 Remplir les champs requis

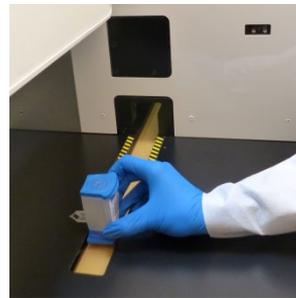
**Order Test - Test Information**

<b>Patient ID</b> patientid	
<b>Sample ID</b> sampleid	
<b>Last Name</b> patient	<b>First Name</b> id
<b>Assay*</b> Test Xpert®	
<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>	

5 Le protocole de Nom du test est automatiquement sélectionné

6 Cliquer sur SOUMETTRE (SUBMIT)

7 Placer la cartouche sur le tapis roulant



# Protocole Xpert® automatisé



# Contrôles qualité





# Stratégie de contrôle du test

CONTROL

- **Contrôles qualité Xpert® vanA/vanB**
  - 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
    - **Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE)**
    - **Contrôle de vérification de la sonde (CVS)**

Consulter le document 301-4868 Fonctions de contrôle qualité GeneXpert® pour tous les tests Xpert® de Cepheid



# Contrôles qualité internes

- **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
  - intégrité de la sonde
  - remplissage du tube réactionnel
  - stabilité du colorant

- **Contrôle de traitement de l'échantillon (CTE)**

- spore non infectieuse dans chaque cartouche
  - Vérifie que le traitement de l'échantillon est adéquat
  - Vérifie la lyse, la présence de l'organisme et détecte l'inhibition PCR
  - Doit être positif dans un échantillon négatif
  - Peut être positif ou négatif dans un échantillon positif

# Interprétation des résultats

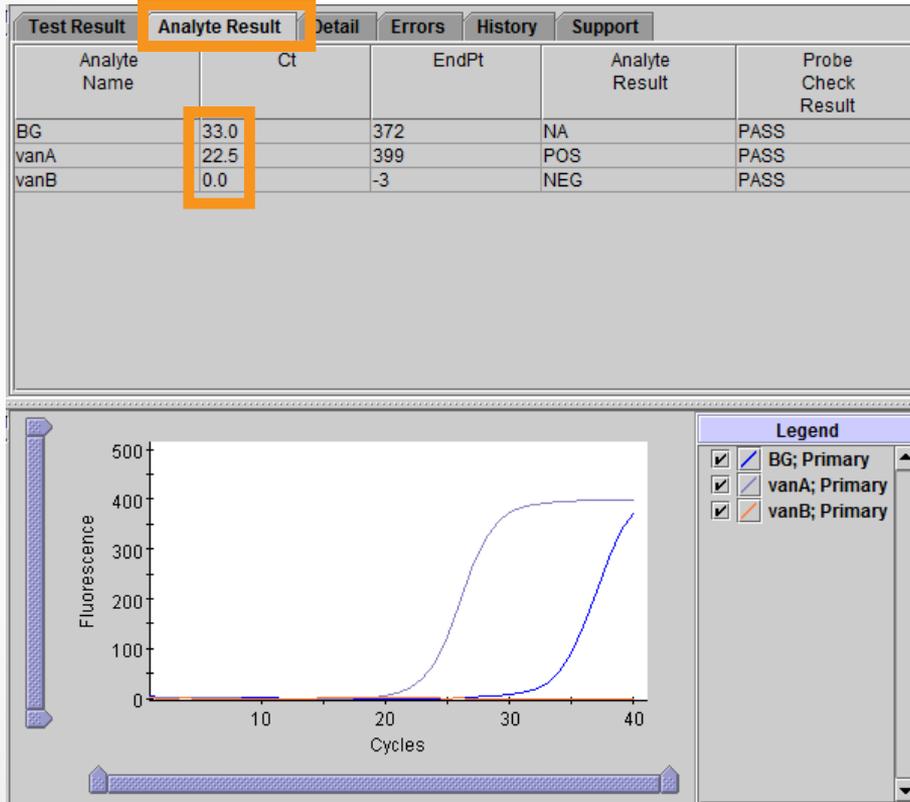


# Xpert® vanA/vanB – Tous les résultats possibles

Résultat affiché	van A	van B	CTE
<b>Positif Van A (Van A Positive)</b>	+	-	+/-
<b>Négatif Van B (Van B Negative)</b>			
<b>Négatif Van A (Van A Negative)</b>	-	+	+/-
<b>Positif Van B (Van B Positive)</b>			
<b>Positif Van A (Van A Positive) Positif Van B (Van B Positive)</b>	+	+	+/-
<b>Négatif Van A (Van A Negative) Négatif Van B (Van B Negative)</b>	-	-	+
<b>NON VALIDE (INVALID)</b>	-	-	-
<b>ERREUR (ERROR)</b>	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)
<b>PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)</b>	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

# Positif vanA ; Négatif vanB (vanA Positive ; vanB Negative)

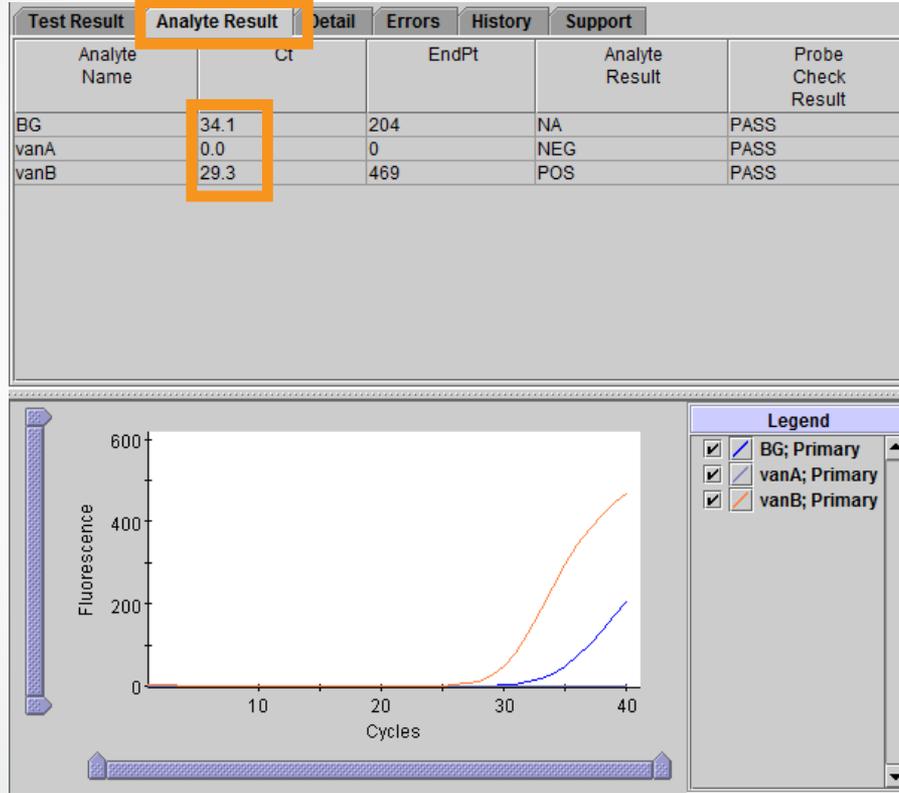
vanA POSITIVE;  
vanB NEGATIVE



- L'ADN de la cible *vanA* est détecté.
- L'ADN de la cible *vanB* n'est pas détecté.
- **POSITIF *vanA* ; NÉGATIF *vanB***  
(*vanA* POSITIVE: *vanB* NEGATIVE)  
La cible de *vanA* a une valeur Ct dans la plage valide et une limite supérieure au réglage minimum.
- CTE : SO (NA) (sans objet)  
Le CTE est ignoré car l'amplification de *vanA* et/ou *vanB* risque de faire concurrence à ce contrôle.
- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)  
Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.

# Négatif vanA ; Positif vanB (vanA Negative; vanB Positive)

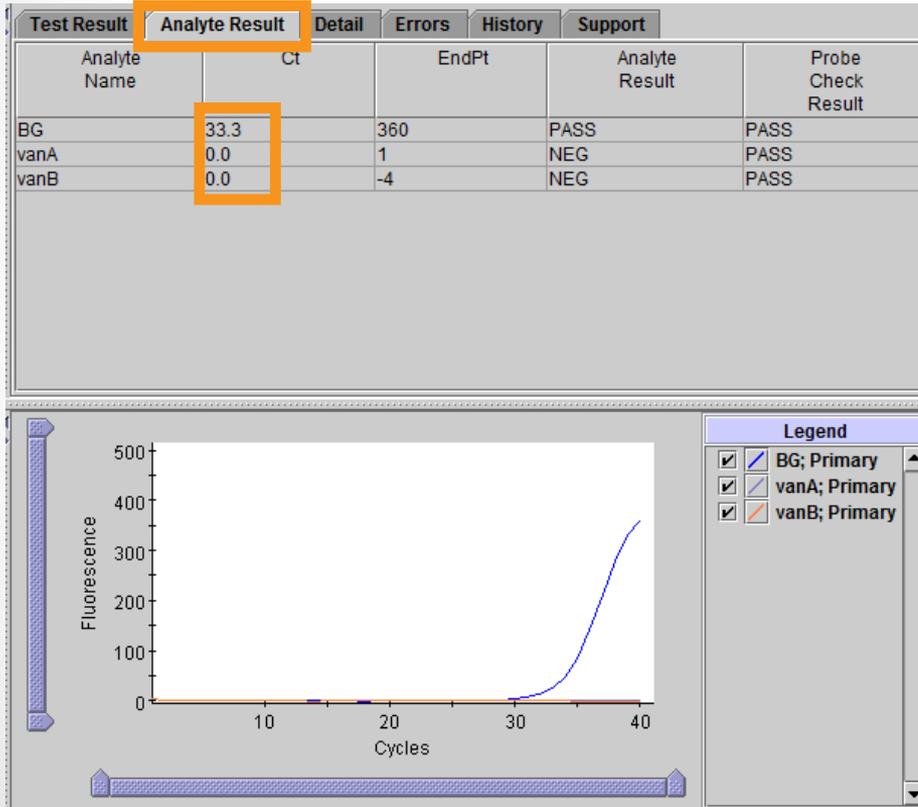
vanA NEGATIVE;  
vanB POSITIVE



- L'ADN de la cible *vanA* n'est pas détecté.
- L'ADN de la cible *vanB* est détecté.
- **NÉGATIF *vanA* ; POSITIF *vanB***  
(*vanA* Negative; *vanB* Positive)  
La cible de *vanB* a une valeur Ct dans la plage valide et une limite supérieure au réglage minimum.
- **CTE : RÉUSSITE (PASS)**  
Le CTE a une valeur Ct (cycle seuil) dans la plage valide et une limite supérieure au réglage minimum.
- **Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)**  
Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.

# Négatif vanA ; Négatif vanB (vanA Negative; vanB Negative)

vanA NEGATIVE;  
vanB NEGATIVE



- L'ADN des cibles *vanA* et *vanB* n'est pas détecté.
- NÉGATIF *vanA* ; NÉGATIF cible *vanB*
- CTE : RÉUSSITE (PASS)  
Le CTE a une valeur Ct (cycle seuil) dans la plage valide et une limite supérieure au réglage minimum.
- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)  
Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.

# Dépannage



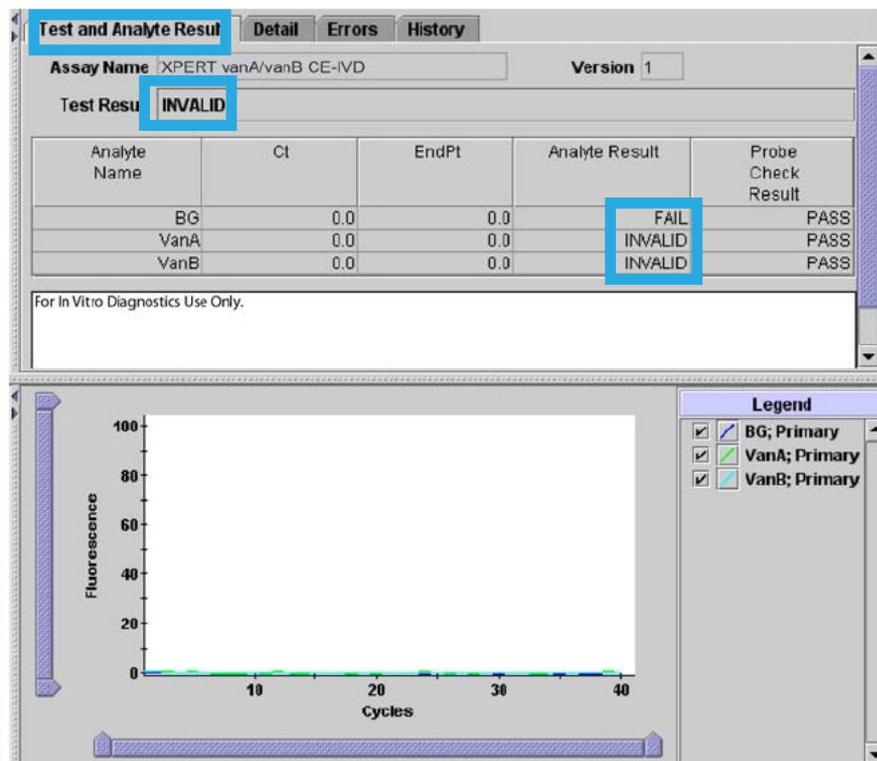


# Facteurs affectant négativement les résultats

- Prélèvement incorrect de l'échantillon
  - La charge bactérienne dans l'échantillon est inférieure à la limite de détection du test
- Transport ou conservation incorrect de l'échantillon prélevé
  - Les conditions de conservation et de transport sont spécifiques de l'échantillon
  - Consulter la notice pour obtenir des consignes de manipulation appropriée
- 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)

INVALID



La présence ou l'absence de la cible *vanA/vanB* n'a pas pu être déterminée

- CTE : ÉCHEC (FAIL). Le CTE ne répond pas aux critères d'acceptation.
- Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)

## Causes possibles

- Prélèvement incorrect de l'échantillon
- Préparation incorrecte de l'échantillon
- Conservation incorrecte des cartouches
- Présence des substances interférentes dans l'échantillon

## Solution

- Répéter le test en utilisant une cartouche neuve.
- Consulter la notice pour obtenir des détails.

# Substances interférentes

- Une crème à base d'hydrocortisone (1 % d'hydrocortisone) et le Pepto-Bismol® (1 à 5 % de subsalicylate de bismuth), peuvent potentiellement interférer avec *vanB*.
- Lors du test d'interférence, la crème à base d'hydrocortisone et le Pepto-Bismol® ont produit des valeurs Ct légèrement supérieures par rapport au contrôle tampon.

# Résultat ERREUR (ERROR)

ERROR

The screenshot shows a software interface with a navigation bar at the top containing tabs: Test Result, Analyte Result, Detail, Errors, History, and Support. Below the navigation bar, the 'Assay Name' is 'Xpert vanA vanB' and the 'Version' is '20'. The 'Test Result' section displays 'ERROR' in a yellow box. Below this, there is a section labeled 'For In Vitro Diagnostic Use Only.' and a large grey area at the bottom containing the text '<No Data Available>'. The 'Test Result' and 'ERROR' text are highlighted with blue boxes.

- La présence ou l'absence de *vanA/vanB* ne peut pas être déterminée
  - *vanA* : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)
  - *vanB* : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

## Causes possibles

Si la vérification de la sonde : ÉCHEC (FAIL)

- Prélèvement incorrect de l'échantillon
- Ajout d'un volume d'échantillon incorrect à la cartouche

Si la vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS)

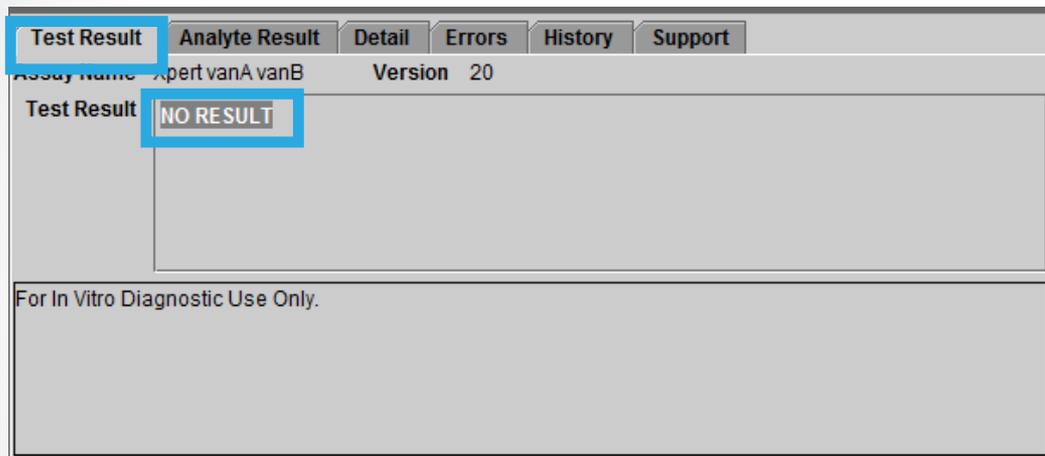
- Vérifier le module du système GeneXpert®

## Solution

- Répéter le test en utilisant une cartouche neuve

# PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)

NO RESULT



- La présence ou l'absence de *vanA/vanB* ne peut pas être déterminée.
  - *VanA* : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)
  - *VanB* : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)
- Vérification de la sonde : SO (NA) (sans objet)

## Causes possibles

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

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

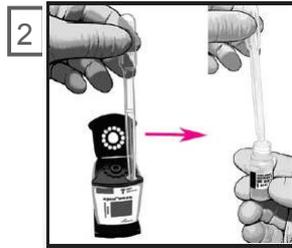
## Solution

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

# Procédure de répétition du test



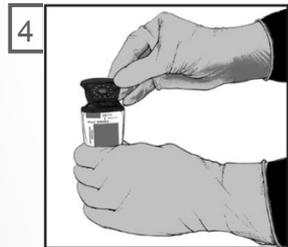
1 Conserver la cartouche usagée. Se procurer une nouvelle cartouche Xpert et un nouveau flacon de réaction échantillon.



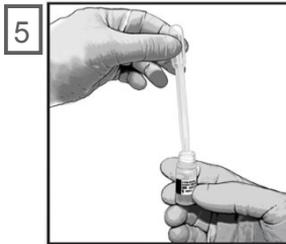
2 Transférer tout le contenu restant de la chambre échantillon de la cartouche usagée dans un nouveau flacon de réactif échantillon.



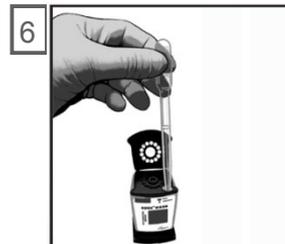
3 Reboucher le flacon de réactif échantillon et agiter au Vortex pendant 10 secondes.



4 Ouvrir le couvercle de la cartouche.



5 Aspirer tout le contenu du flacon de réactif échantillon à l'aide d'une pipette de transfert jetable.



6 Vider la pipette dans la chambre de l'échantillon.



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



# 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 en utilisant le lien suivant : <http://www.cephheid.com/us/support> – ***Créer un dossier d'assistance technique (Create a Support Case)***



Merci.



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