

Xpert® Ebola

REF GXEBOLA-CE-10
GXEBOLA-CE-50

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2015-2022 Cepheid.

Déclarations sur les marques de commerce, les brevets et le droit d'auteur

Cepheid[®], le logo Cepheid, GeneXpert[®] et Xpert[®] sont des marques commerciales de Cepheid enregistrées aux États-Unis et dans d'autres pays.

Toutes les autres marques commerciales sont la propriété de leurs détenteurs respectifs.

L'ACHAT DE CE PRODUIT CONCÈDE À L'ACHETEUR LE DROIT NON TRANSFÉRABLE DE L'UTILISER CONFORMÉMENT À CETTE NOTICE D'UTILISATION. AUCUN AUTRE DROIT N'EST CONCÉDÉ QUE CE SOIT EXPRESSÉMENT, DE FAÇON IMPLICITE OU PAR PRÉCLUSION. DE PLUS, AUCUN DROIT DE REVENTE N'EST CONCÉDÉ AVEC L'ACHAT DE CE PRODUIT.

© 2015-2022 Cepheid.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert[®] Ebola

Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.

1 Nom de marque déposée

Xpert[®] Ebola

2 Nom commun ou usuel

Xpert Ebola Assay (Test Xpert Ebola)

3 Utilisation prévue

Le test Xpert Ebola est un test par transcription inverse-réaction en chaîne de la polymérase (RT-PCR) en temps réel conçu pour la détection qualitative de l'ARN du virus Ebola Zaïre (identifié lors de la flambée épidémique ouest-africaine de 2014) dans le sang veineux total EDTA, le sang périphérique prélevé au bout du doigt ou l'écouvillon buccal de sujets présentant les signes et les 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 présomptive 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 publiques et d'autres autorités pour lesquelles une notification est exigée. Le diagnostic de l'infection par le virus Ebola Zaïre doit être fondé sur les antécédents, les signes, les symptômes, la probabilité d'exposition et d'autres preuves biologiques en plus de l'identification du virus Ebola Zaïre.

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.

Notification des autorités de santé publique : Les agences de santé publique locales et nationales doivent être informées de tout patient suspecté d'être atteint de MVE. Des tests de confirmation effectués par le laboratoire de santé publique sont nécessaires pour obtenir des résultats de détection positifs, et peuvent être nécessaires pour des résultats de détection négatifs. Les laboratoires doivent consulter les responsables de santé publique locaux et nationaux pour tous les résultats positifs ou négatifs obtenus avec le test Xpert Ebola, afin de déterminer si des tests supplémentaires sont nécessaires et de s'informer quant aux modalités de transport appropriées pour les échantillons.

4 Résumé et description

Des flambées épidémiques de la maladie à virus Ebola (MVE) se produisent sporadiquement dans toute l'Afrique de l'Ouest depuis des décennies, mais l'épidémie actuelle est la plus importante jusqu'à présent. En date de mars 2015, plus de 24 000 personnes ont été infectées et plus de 10 000 sont mortes des suites de la maladie. La MVE s'est maintenant propagée au-delà de l'Afrique, aux États-Unis et en Europe. Les conséquences chez les travailleurs de la santé dans les régions endémiques sont également significatives, avec un taux de mortalité de plus de 50 %.¹ Depuis la première découverte du virus Ebola en 1976, cinq espèces Ebola ont été décrites : Zaïre, Soudan, Forêt de Taï (Côte d'Ivoire), Bundibugyo et Reston. Parmi ces espèces du virus Ebola, le virus Ebola Zaïre touche la région géographique la plus étendue et est à l'origine de la flambée épidémique récente.

Le test Xpert Ebola utilise la technologie de RT-PCR afin d'obtenir une sensibilité élevée pour la détection qualitative des acides nucléiques totaux du virus Ebola Zaïre dans les échantillons.

Pour assurer une détection précise, le test Xpert Ebola est conçu pour détecter le gène de la glycoprotéine (GP) et le gène de la nucléoprotéine (NP). Chaque cible serait présente dans 100 % des virus Ebola Zaïre connus.

5 Principe de la procédure

Le test Xpert Ebola est un test rapide automatisé pour la détection qualitative du virus Ebola Zaïre. Le test est réalisé sur les systèmes d'instrument GeneXpert de Cepheid.

Les systèmes d'instrument GeneXpert automatisent et intègrent la préparation des échantillons, l'amplification des acides nucléiques et la détection de la séquence cible dans des échantillons simples ou complexes par PCR après transcription inverse (RT-PCR) en temps réel. Les systèmes comportent un instrument, un ordinateur personnel et un logiciel préinstallé pour l'exécution des tests et l'affichage des résultats. Les systèmes nécessitent l'utilisation des cartouches GeneXpert jetables à usage unique qui contiennent les réactifs RT-PCR en temps réel et hébergent les processus RT-PCR en temps réel. Les cartouches étant closes, la contamination croisée entre les prélèvements est réduite au minimum. Pour obtenir une description complète des systèmes, consulter le *manuel d'utilisation du GeneXpert Dx* ou le *manuel d'utilisation du GeneXpert Infinity* approprié.

Le test Xpert Ebola comprend les réactifs pour la détection des acides nucléiques totaux du virus Ebola Zaïre dans les échantillons ainsi qu'un contrôle d'adéquation de l'échantillon et un contrôle interne pour assurer l'ajout adéquat de l'échantillon et le traitement adéquat de la cible et pour surveiller la présence d'inhibiteurs dans les réactions de transcription inverse et de PCR. Le contrôle de vérification de la sonde (CVS) consiste à vérifier la réhydratation des réactifs, le remplissage des tubes de PCR dans la cartouche, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome.

6 Réactifs et instruments

6.1 Matériel fourni



Les kits de test Xpert Ebola contiennent suffisamment de réactifs pour traiter 10 ou 50 échantillons ou contrôles qualité. Les kits contiennent les articles suivants :

Cartouches de test GeneXpert Ebola avec tubes réactionnels intégrés

- Bille 1, Bille 2 et Bille 3 (lyophilisées)
- Réactif de rinçage
- Réactif d'éluion
- Réactif de fixation

10 par kit

50 par kit

1 de chaque par cartouche

1 de chaque par cartouche

0,5 ml par cartouche

0,5 ml par cartouche

2,0 ml par cartouche

2,0 ml par cartouche

2,0 ml par cartouche

2,0 ml par cartouche

Réactif échantillon Ebola (réactif échantillon)

- Réactif de lyse (thiocyanate de guanidinium)

10 bouteilles par kit

50 bouteilles par kit

10 x 2,5 ml par flacon

50 x 2,5 ml par flacon

Pipettes de transfert jetables (1 ml)

10 par kit

50 par kit

CD

1 par kit

1 par kit

Remarque

Les fiches techniques de données de sécurité (Safety Data Sheets, SDS) sont disponibles à www.cephidinternational.com sous l'onglet SUPPORT (ASSISTANCE).

Remarque

La sérum-albumine bovine (bovine serum albumin, BSA) des billes de ce produit a été produite et fabriquée à partir de plasma bovin provenant exclusivement des États-Unis. Les animaux n'ont pas été alimentés par des protéines de ruminant ou d'autres protéines animales ; ils ont subi avec succès les analyses ante- et post-mortem. Pendant la fabrication, le produit n'a été mélangé à aucun autre produit d'origine animale.

7 Conservation et manipulation



- Conserver les cartouches du test Xpert Ebola à une température comprise entre 2 °C et 28 °C.
- Ne pas utiliser des réactifs visiblement troubles ou ayant changé de couleur.
- Ne pas utiliser une cartouche qui a fui.

8 Matériels requis mais non fournis

- Systèmes GeneXpert Dx ou GeneXpert Infinity (le numéro de référence varie selon la configuration) : Instrument GeneXpert, ordinateur avec logiciel exclusif GeneXpert version 4.4a ou ultérieure, Xpertise version 6.2 ou ultérieure, lecteur de code-barres et manuel d'utilisation
- Imprimante : Si une imprimante est requise, contacter le service d'assistance technique de Cepheid pour organiser l'achat d'une imprimante recommandée.
- Écouvillons jetables (n° de réf. SWAB/E-50)
- Vortex
- Eau de Javel

9 Avertissements et mises en garde



- Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.
- Traiter tous les échantillons biologiques, y compris les cartouches usagées, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Puisqu'il est souvent impossible de savoir ce qui peut être infectieux, tous les échantillons biologiques doivent être traités en respectant les précautions standard. Les Centers for Disease Control and Prevention (Centres américains pour le contrôle et la prévention des maladies) et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire) tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons.
- Les agences de santé publique locales et nationales doivent être informées de tout patient suspecté d'être atteint de la maladie à virus Ebola (MVE). Des tests de confirmation effectués par le laboratoire de santé publique sont nécessaires pour obtenir des résultats de détection positifs, et peuvent être nécessaires pour des résultats de détection négatifs. Les laboratoires doivent consulter les responsables de santé publique locaux et nationaux pour tous les résultats de détection positive OU de détection négative obtenus lors d'un test de la MVE, afin de déterminer si des tests supplémentaires sont nécessaires et de s'informer quant aux modalités de transport appropriées pour les échantillons.
- Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés comme étant susceptibles de transmettre des agents infectieux exigeant des précautions standard. Suivre les consignes environnementales d'élimination des déchets établies par l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs non utilisés. 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 l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) concernant la manipulation et l'élimination des déchets médicaux.
- Tous les résultats doivent être interprétés par un professionnel ayant la formation requise, conjointement aux signes et symptômes cliniques du patient et à ses antécédents.
- L'utilisation de ce test est réservée au personnel ayant la formation requise.
- Lorsque plusieurs échantillons à la fois sont traités, ouvrir une seule cartouche ; ajouter l'échantillon traité avec le réactif échantillon et fermer la cartouche avant de traiter l'échantillon suivant. Changer de gants d'un échantillon à l'autre.
- Porter des gants de protection jetables, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection pour manipuler les échantillons et les réactifs. Se laver soigneusement les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du test.
- Observer les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Ne pas remplacer les réactifs du test Xpert Ebola par d'autres réactifs.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche Xpert Ebola, sauf pour ajouter l'échantillon traité avec le réactif échantillon.
- Ne pas utiliser une cartouche si elle semble humide ou si son couvercle semble avoir été descellé.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée après l'avoir retirée de son emballage.
- Ne pas agiter la cartouche. L'agitation ou la chute de la cartouche après l'ouverture de son couvercle peut conduire à des résultats non valides.



- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.
- Chaque cartouche Xpert Ebola à usage unique est utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser des cartouches usagées.
- La pipette jetable à usage unique est utilisée pour transférer un échantillon. Ne pas réutiliser les pipettes jetables usagées.
- L'écouvillon jetable à usage unique est utilisé pour recueillir et/ou transférer un échantillon. Ne pas réutiliser les écouvillons jetables usagés.
- Conserver le kit de test Xpert Ebola à une température comprise entre 2 °C et 28 °C.

**Remarque**

Avant de commencer, retirer le flacon de réactif échantillon du kit et le laisser s'équilibrer à la température ambiante. Voir Figure 1. Si le flacon n'était pas conservé en position verticale, s'assurer que le tampon est bien déposé dans le fond en secouant fermement le flacon.

Remarque

Porter des gants jetables. Étiqueter le flacon de réactif échantillon avec l'identification de l'échantillon.

10 Risques chimiques^{2,3}

- ONU
- Mention d'avertissement : ATTENTION
- **Mentions de danger SGH ONU**
 - Nocif en cas d'ingestion
 - Peut être nocif par contact avec la peau
 - Provoque une irritation des yeux
- **Conseils de prudence SGH ONU**
 - **Prévention**
 - Se laver soigneusement après manipulation.
 - **Réponse**
 - Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.
 - En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin.
 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
 - Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin.

11 Collecte, transport et conservation des échantillons

11.1 Collecte de sang total



Les échantillons de sang total doivent être recueillis par ponction veineuse dans des tubes EDTA conformément aux directives du fabricant. Au moins 100 µl de sang total sont requis pour le test Xpert Ebola. En option, utiliser l'écouvillon (SWAB/E-50) pour recueillir les échantillons sanguins prélevés au bout du doigt. Laisser le sang imprégner au moins les 2/3 de la tête de l'écouvillon. Transférer immédiatement l'écouvillon dans le flacon contenant le réactif échantillon (voir Figure 1 et Préparation de l'échantillon).

11.2 Écouvillon buccal

Utiliser l'écouvillon (SWAB/E-50) pour recueillir les échantillons buccaux conformément aux directives de l'OMS relatives au prélèvement d'écouvillons buccaux chez les patients atteints du virus Ebola.* Veiller à ce que l'extrémité de l'écouvillon n'entre pas en contact avec les gants ou une surface quelconque. Pour les patients vivants, leur demander d'ouvrir la bouche et mettre immédiatement l'extrémité de l'écouvillon au contact de l'intérieur de la joue. Frotter fermement d'un geste circulaire avec une pression constante pendant au moins 20 secondes en utilisant toute la tête de l'écouvillon. Pour les patients décédés, placer la paume de la main sur leur menton et appuyer fermement vers le bas pour ouvrir légèrement la bouche. Introduire l'écouvillon dans le creux d'une joue et frotter fermement d'un geste circulaire avec une pression constante pendant au moins 20 secondes en utilisant toute la tête de l'écouvillon. Répéter avec l'autre joue si elle est accessible.

*Numéro de référence de l'OMS : WHO/EVD/Guidance/Lab/14.2

Important

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

Remarque

Porter des gants jetables. Étiqueter le flacon de réactif échantillon avec l'identification de l'échantillon.

Préparation de l'échantillon Sang veineux total prélevé dans des tubes EDTA : Ouvrir le couvercle du flacon de réactif échantillon. Transférer 0,1 ml de sang en plaçant l'écouvillon (SWAB/E-50) dans le tube EDTA et en le laissant absorber le sang pendant au moins 5 secondes ; transférer l'échantillon en introduisant l'écouvillon préparé dans le flacon de réactif échantillon (voir Figure 1). Tenir l'écouvillon par la tige et aligner la petite encoche sur le bord du flacon. Casser l'écouvillon en le pliant d'un côté. En option, une pipette automatique munie d'embouts à filtre barrière peut être utilisée pour transférer 0,1 ml de sang du tube EDTA.

Écouvillon buccal : Ouvrir le couvercle du flacon de réactif échantillon. Introduire l'écouvillon préparé dans le réactif échantillon (voir Figure 1). Tenir l'écouvillon par la tige et aligner la petite encoche sur le bord du flacon. Casser l'écouvillon en le pliant d'un côté.

Sang prélevé au bout du doigt : Utiliser l'écouvillon (SWAB/E-50) pour recueillir le sang prélevé au bout du doigt et le laisser absorber 0,1 ml de sang. S'assurer que le sang imprègne au moins les 2/3 de la tête de l'écouvillon, et transférer l'échantillon en introduisant l'écouvillon préparé dans le flacon de réactif échantillon (voir Figure 1). Tenir l'écouvillon par la tige et aligner la petite encoche sur le bord du flacon. Casser l'écouvillon en le pliant d'un côté.

Remarque Utiliser un tampon de gaze stérile pour réduire au minimum risque de contamination.

Fermer le couvercle du flacon de réactif échantillon et mélanger l'échantillon au Vortex pendant 10 secondes. Incuber l'échantillon à température ambiante pendant 20 minutes.

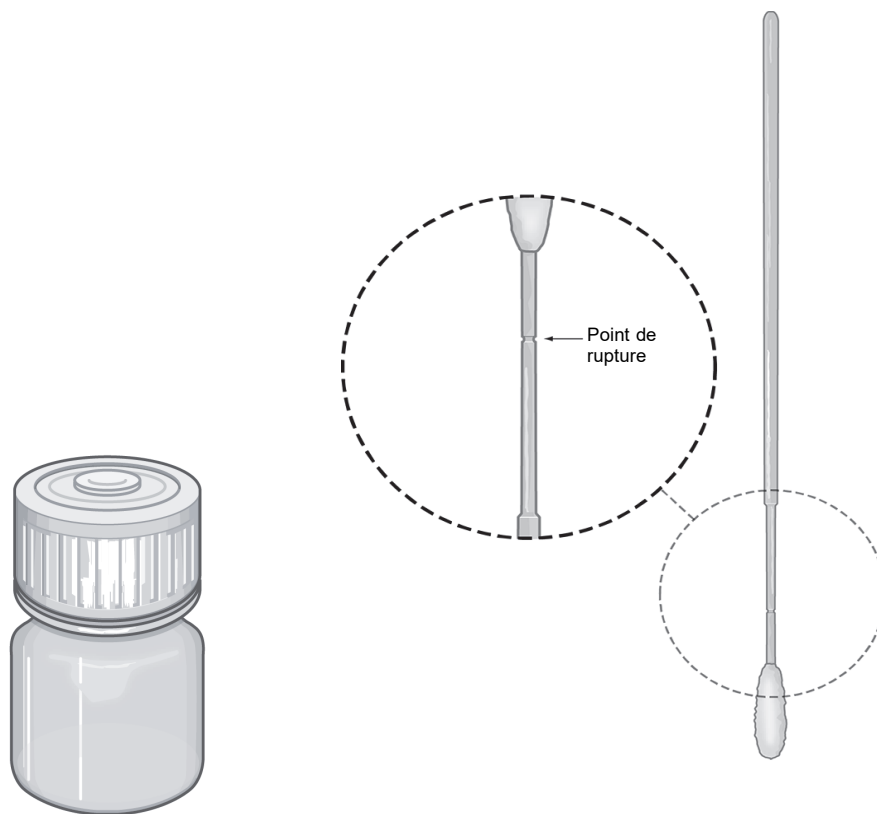


Figure 1. Flacon de réactif échantillon et écouvillon de prélèvement d'échantillon pour le test Xpert Ebola

11.3 Transport et conservation de l'échantillon



Transporter les échantillons traités avec le réactif échantillon aux laboratoires d'analyse pour des tests supplémentaires dans des sachets individuels refermables conformément aux directives de l'OMS relatives au transport des échantillons de virus Ebola : « How to safely collect blood samples from persons suspected to be infected with highly infectious blood-borne pathogens (e.g. Ebola) » (Comment collecter sans risque des échantillons de sang chez des personnes que l'on suspecte d'être infectées par des agents pathogènes hautement infectieux à transmission hématogène (comme le virus Ebola)). Les échantillons traités avec le réactif échantillon peuvent être conservés pendant 72 heures au maximum entre 2 °C et 8 °C, et pendant 48 heures au maximum à une température maximale de 28 °C ou pendant 24 heures au maximum à une température maximale de 35 °C. Les échantillons sur écouvillon buccal traités avec le réactif échantillon peuvent être conservés pendant 72 heures au maximum entre 2 °C et 8 °C, et pendant 24 heures au maximum à une température maximale de 28 °C.

12 Procédure

12.1 Préparation de la cartouche

Remarque Un film plastique mince recouvre l'anneau interne des orifices de la cartouche de test. Ce film ne doit pas être retiré.

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

1. Porter des gants de protection jetables.
2. Examiner la cartouche de test pour vérifier qu'elle n'est pas endommagée. Si elle est endommagée, ne pas l'utiliser.
3. Étiqueter la cartouche avec l'identification de l'échantillon.
4. Ouvrir le couvercle de la cartouche.
5. Utiliser la pipette de transfert de 1 ml (voir Figure 2) ou une pipette automatique munie d'un embout à filtre barrière pour transférer 1 ml de l'échantillon traité avec le réactif échantillon dans la chambre échantillon de la cartouche (voir Figure 3). Ne **PAS** verser l'échantillon dans la chambre.

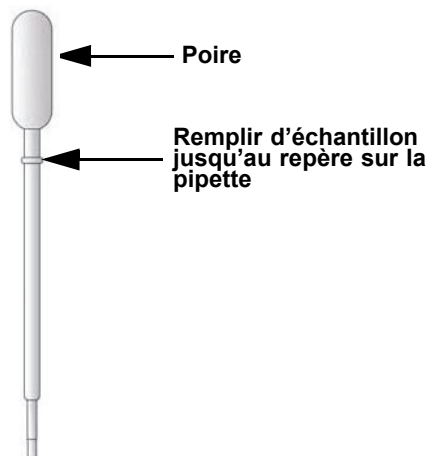


Figure 2. Pipette de transfert de 1 ml du test Xpert Ebola

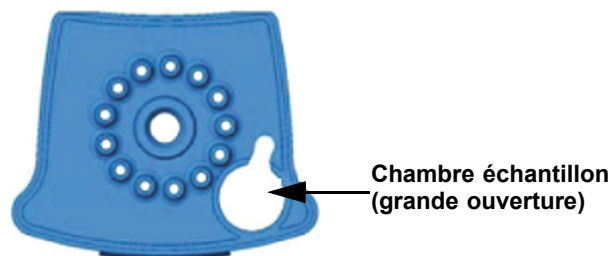


Figure 3. Cartouche de test Xpert Ebola (vue de dessus)

12.2 Démarrage du test

Important Avant de démarrer le test, s'assurer que le fichier de définition du test Xpert Ebola est importé dans le logiciel.

Cette section énumère les étapes de base pour l'exécution du test. Pour des instructions détaillées, consulter le *manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx* ou le *manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity*, selon le modèle utilisé.

1. Mettre le système d'instrument GeneXpert sous tension :
 - Avec l'instrument GeneXpert Dx, commencer par mettre l'instrument sous tension, puis allumer l'ordinateur. Le logiciel GeneXpert se lancera automatiquement ou nécessitera un double-clic sur l'icône de raccourci du logiciel GeneXpert Dx sur le bureau Windows®.
 - ou
 - Si l'instrument GeneXpert Infinity est utilisé, allumer l'instrument. Le logiciel Xpertise se lancera automatiquement ou nécessitera un double-clic sur l'icône de raccourci du logiciel Xpertise sur le bureau Windows.
2. Se connecter au logiciel du système d'instrument GeneXpert en saisissant votre nom d'utilisateur et votre mot de passe.
3. Dans la fenêtre du système GeneXpert, cliquer sur **Créer un test** (GeneXpert Dx) ou cliquer sur **Orders** (Commandes) et **Order Test** (Commander test) (Infinity).
4. Scanner le n° ID du patient (facultatif). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° ID du patient. Le n° ID du patient est associé aux résultats du test et indiqué dans la fenêtre **View Results** (Afficher les résultats).
5. Scanner ou saisir le n° ID de l'échantillon. S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° ID de l'échantillon. Le n° ID de l'échantillon est associé aux résultats du test et indiqué dans la fenêtre **View Results** (Afficher les résultats) ainsi que dans tous les rapports. La boîte de dialogue **Scan Cartridge** (Lire le code-barres) de la cartouche s'affiche.
6. Scanner le code-barres sur la cartouche de test Xpert Ebola. La fenêtre **Create Test** (Créer un test) s'affiche. Grâce aux informations du code-barres, le logiciel remplit automatiquement les cases des champs suivants : **Select Assay** (Sélectionner un test), **Reagent Lot ID** (N° du lot de réactif), **Cartridge SN** (N° de série de cartouche).
7. Cliquer sur **Démarrer le test** (GeneXpert Dx) ou sur **Submit** (Soumettre) (Infinity). Saisir le mot de passe s'il est demandé.
8. Pour le système GeneXpert Infinity, placer la cartouche sur le tapis roulant. La cartouche sera automatiquement chargée, le test sera exécuté et la cartouche usagée sera placée dans le conteneur à déchets.

ou

Pour l'instrument GeneXpert Dx :

- A. Ouvrir la porte du module de l'instrument avec le voyant vert clignotant et charger la cartouche.
- B. Fermer la porte. Le test commence et le voyant vert arrête de clignoter. Lorsque le test est terminé, le voyant s'éteint.
- C. Attendre que le système déverrouille la porte du module avant de l'ouvrir. Puis, enlever la cartouche.
- D. Éliminer les cartouches usagées dans un conteneur à déchets pour échantillons approprié, conformément aux pratiques standard de l'établissement.

13 Affichage et impression des résultats

Cette section énumère les étapes de base pour l'affichage et l'impression des résultats. Pour des instructions plus détaillées sur l'affichage et l'impression des résultats, consulter le *manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx* ou le *manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity*, selon l'instrument utilisé.

1. Cliquer sur l'icône **View Results** (Afficher les résultats) pour afficher les résultats.
2. Une fois le test terminé, cliquer sur le bouton **Report** (Rapport) de l'écran **View Results** (Afficher les résultats) pour afficher et/ou créer un fichier de rapport au format pdf.

14 Contrôle qualité

CONTROL

Chaque test comprend un contrôle d'adéquation de l'échantillon (CAE), un contrôle interne Cepheid (CIC) et un contrôle de vérification de la sonde (CVS).

- **Contrôle d'adéquation de l'échantillon (CAE) :** Le CAE vérifie que des cellules humaines ont été ajoutées à l'échantillon. Le CAE réussit s'il répond aux critères d'acceptation validés.
- **Contrôle interne Cepheid (CIC) :** Vérifie que l'échantillon a été traité correctement. Le CIC est un Armored RNA® sous forme de bille sèche placée dans chaque cartouche pour vérifier le traitement adéquat du virus de l'échantillon. Le CIC vérifie que la lyse du virus Ebola a eu lieu, si l'organisme est présent, et vérifie que le traitement de l'échantillon est adéquat. Ce contrôle détecte également l'inhibition liée à l'échantillon dans la réaction de PCR en temps réel. Le CIC doit être positif dans un échantillon négatif et peut être négatif ou positif dans un échantillon positif. Le CIC réussit s'il répond aux critères d'acceptation validés.
- **Contrôle de vérification de la sonde (CVS, CQ1, CQ2) :** Avant le début du test de PCR après transcription inverse, le système d'instrument GeneXpert mesure le signal de fluorescence de deux des sondes (appelées CQ1 et CQ2) pour surveiller la réhydratation des billes, le remplissage des tubes réactionnels, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome. Puisque CQ1 et CQ2 sont mesurées à l'étape de PCR après transcription inverse (avant l'étape de PCR en temps réel), les courbes de croissance ne sont pas disponibles. Le CVS réussit s'il répond aux critères d'acceptation attribués.
- **Contrôles externes :** Des contrôles externes peuvent être utilisés conformément aux exigences des organisations d'accréditation locales, régionales et nationales, selon les besoins.
- Des échantillons de sang veineux total négatifs peuvent être utilisés comme contrôles externes négatifs et analysés comme des échantillons de patients.
- Pour se renseigner sur l'obtention de matériels de contrôle externe, contacter le service d'assistance technique de Cepheid à TechSupport@cepheid.com ou consulter le site www.cepheid.com sous l'onglet **SUPPORT** (ASSISTANCE).

15 Interprétation des résultats

Les résultats sont automatiquement interprétés par le système d'instrument GeneXpert à partir des signaux fluorescents mesurés et des algorithmes de calcul intégrés, et sont clairement indiqués dans la fenêtre **View Results** (Afficher les résultats) (voir Figure 4, Figure 5, Figure 6 et Figure 7). Les résultats possibles sont affichés dans le Tableau 1.

Tableau 1. Résultats et interprétation du test Xpert Ebola

Résultat	Interprétation
Ebola GP DETECTED (GP Ebola DÉTÉCTÉE), Ebola NP DETECTED (NP Ebola DÉTÉCTÉE) ou Ebola GP DETECTED (GP Ebola DÉTÉCTÉE), Ebola NP NOT DETECTED (NP Ebola NON DÉTÉCTÉE) ou Ebola GP NOT DETECTED (GP Ebola NON DÉTÉCTÉE), Ebola NP DETECTED (NP Ebola DÉTÉCTÉE) Voir Figure 4, Figure 5 et Figure 6.	Les acides nucléiques cibles EBOLA sont détectés. <ul style="list-style-type: none"> • Le signal EBOLA pour un ou les deux acides nucléiques cibles a une valeur Ct (cycle seuil) comprise dans la plage valide et un point final supérieur à la valeur minimum définie. • CAE : S.O. (sans objet) ; le CAE est ignoré en raison de l'amplification de la cible EBOLA. • CIC : S.O. (sans objet) ; le CAE est ignoré en raison de l'amplification de la cible EBOLA. • Vérification de la sonde : RÉUSSITE ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
Ebola GP NOT DETECTED (GP Ebola NON DÉTÉCTÉE), Ebola NP NOT DETECTED (NP Ebola NON DÉTÉCTÉE) Voir Figure 7.	Les acides nucléiques cibles EBOLA ne sont pas détectés. Le CIC répond aux critères d'acceptation. <ul style="list-style-type: none"> • CAE : RÉUSSITE ; le CAE a une valeur Ct comprise dans la plage valide et un point final supérieur à la valeur minimum définie. • CIC : RÉUSSITE ; le CIC a une valeur Ct comprise dans la plage valide et un point final supérieur à la valeur minimum définie. • Vérification de la sonde : RÉUSSITE ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.

Tableau 1. Résultats et interprétation du test Xpert Ebola (Suite)

Résultat	Interprétation
INVALID (NON VALIDE)	<p>La présence ou l'absence des acides nucléiques cibles est impossible à déterminer. Répéter le test conformément aux instructions données dans la section Procédure de répétition du test.</p> <ul style="list-style-type: none"> • CAE : ÉCHEC ; le CAE a une valeur Ct en dehors de la plage valide et un point final inférieur à la valeur minimum définie. • CIC : RÉUSSITE ; le CIC a une valeur Ct comprise dans la plage valide et un point final supérieur à la valeur minimum définie. • Vérification de la sonde : RÉUSSITE ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. <p>Ou</p> <ul style="list-style-type: none"> • CAE : RÉUSSITE ; le CAE a une valeur Ct comprise dans la plage valide et un point final supérieur à la valeur minimum définie. • CIC : ÉCHEC ; le CIC a une valeur Ct en dehors de la plage valide et un point final inférieur à la valeur minimum définie. • Vérification de la sonde : RÉUSSITE ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
ERROR (ERREUR)	<p>La présence ou l'absence des acides nucléiques EBOLA est impossible à déterminer. Répéter le test conformément aux instructions données dans la section Procédure de répétition du test.</p> <ul style="list-style-type: none"> • EBOLA : PAS DE RÉSULTAT • CAE : PAS DE RÉSULTAT • CIC : PAS DE RÉSULTAT • Vérification de la sonde : ÉCHEC ; échec d'un ou plusieurs résultats de vérification de la sonde.
NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT)	<p>La présence ou l'absence des acides nucléiques cibles EBOLA est impossible à déterminer. Répéter le test conformément aux instructions données dans la section Procédure de répétition du test. La mention NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT) indique que trop peu de données ont été collectées. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours.</p> <ul style="list-style-type: none"> • EBOLA : PAS DE RÉSULTAT • CAE : PAS DE RÉSULTAT • CIC : PAS DE RÉSULTAT • Vérification de la sonde : S.O. (sans objet)

Remarque Les captures d'écran du test sont données uniquement à titre d'exemple et peuvent être différentes des captures d'écran présentées dans cette notice. CQ1 et CQ2 dans les légendes de la Figure 4, Figure 5, Figure 6 et Figure 7 contrôlent la présence des sondes (voir Contrôle de vérification de la sonde, Section 14, Contrôle qualité) ; les courbes d'amplification ne sont pas générées.

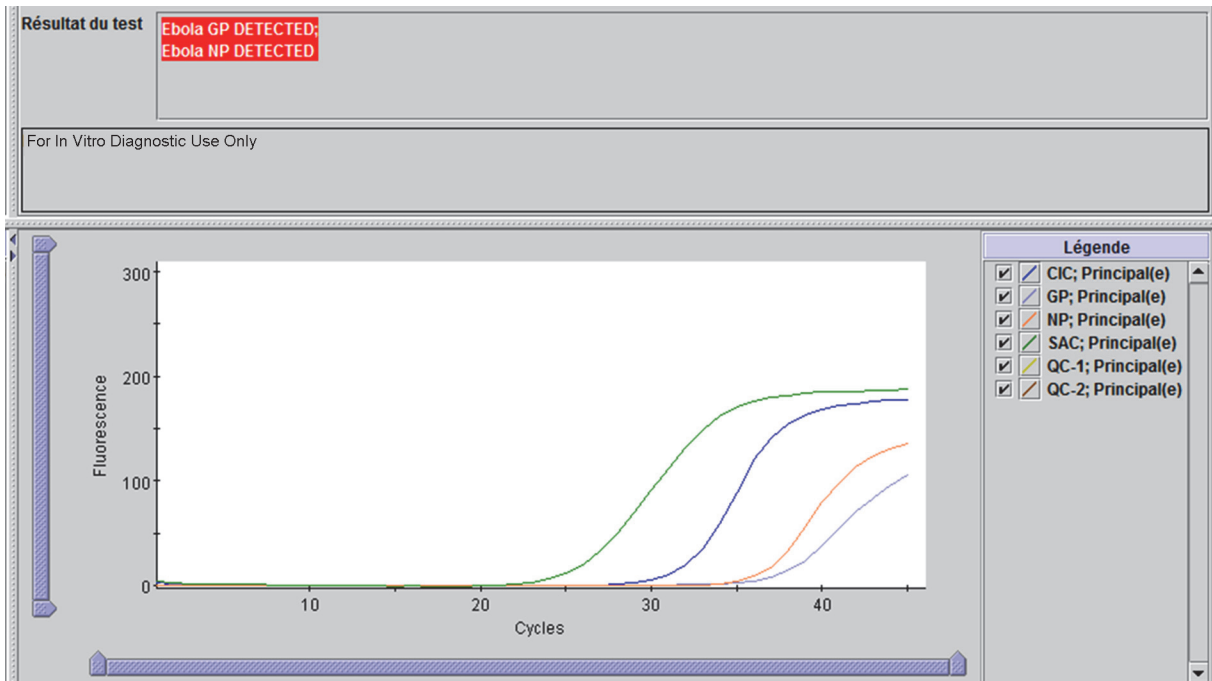


Figure 4. Ebola GP DETECTED (GP Ebola DÉTECTÉE), Ebola NP DETECTED (NP Ebola DÉTECTÉE)

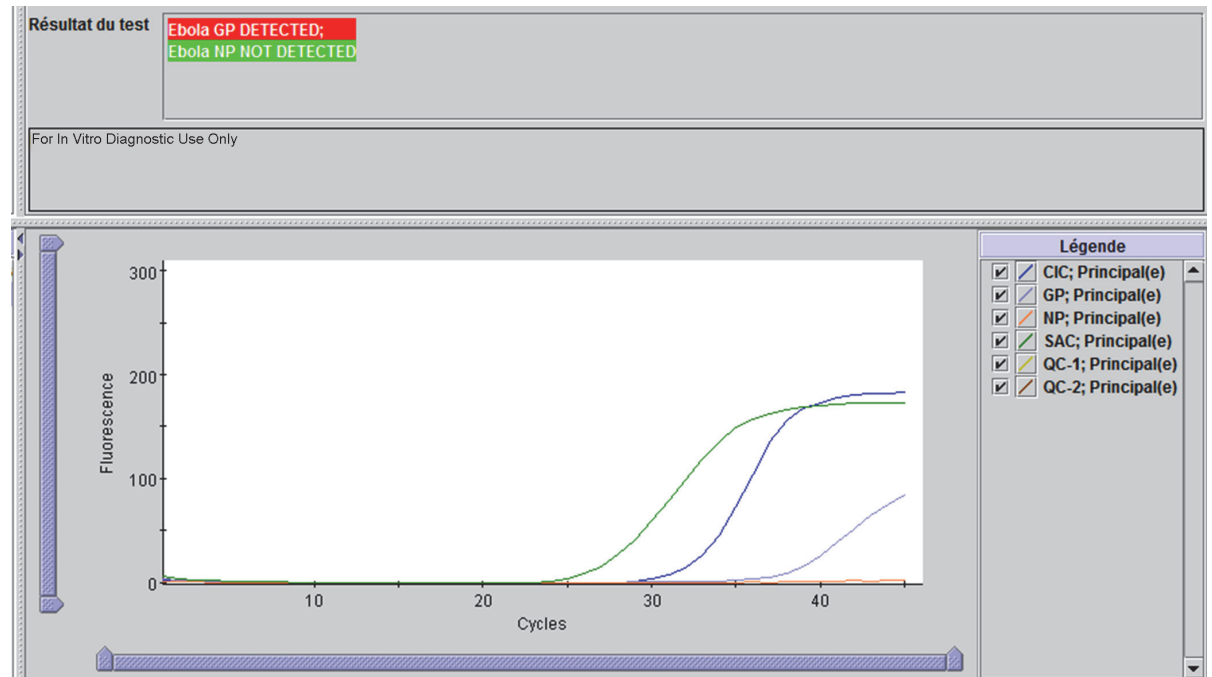


Figure 5. Ebola GP DETECTED (GP Ebola DÉTECTÉE), Ebola NP NOT DETECTED (NP Ebola NON DÉTECTÉE)

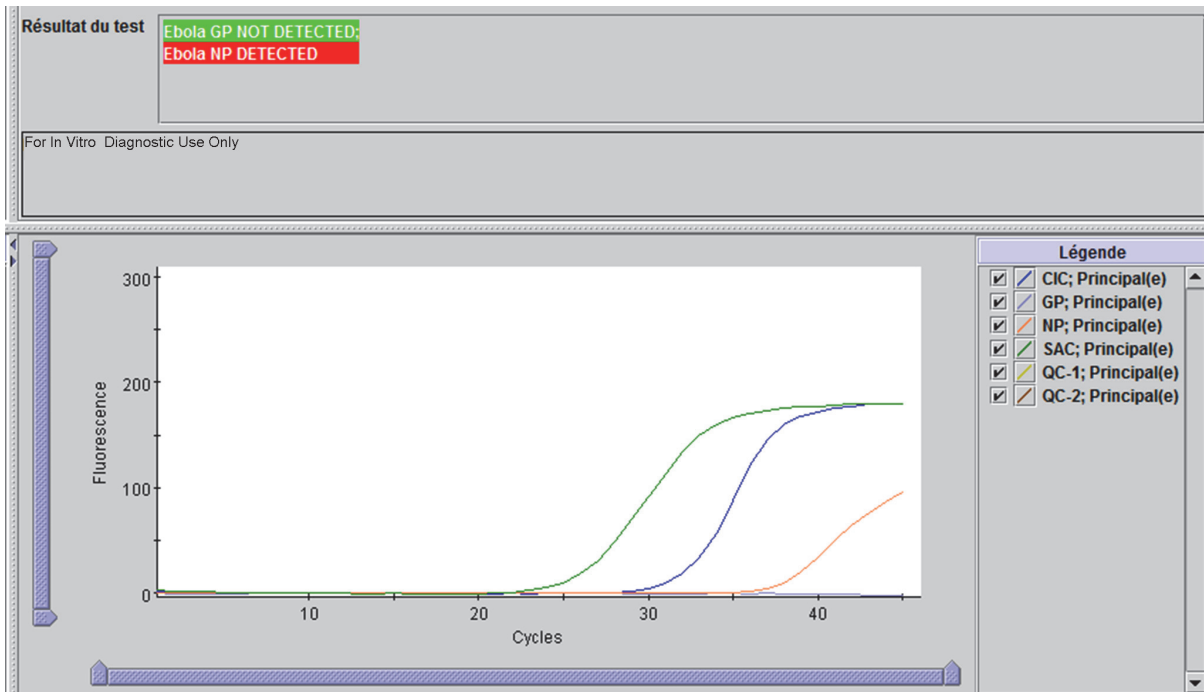


Figure 6. Ebola GP NOT DETECTED (GP Ebola NON DÉTÉCTÉE), Ebola NP DETECTED (NP Ebola DÉTÉCTÉE)

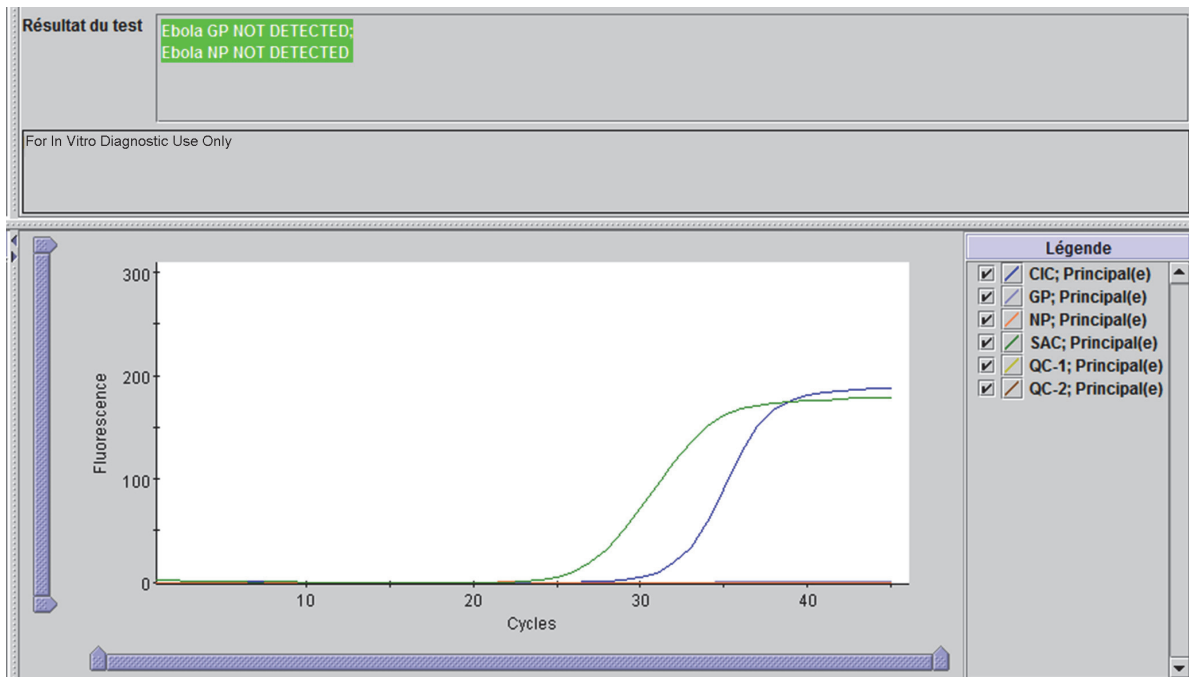


Figure 7. Ebola GP NOT DETECTED (GP Ebola NON DÉTÉCTÉE), Ebola NP NOT DETECTED (NP Ebola NON DÉTÉCTÉE)

16 Répétitions du test

16.1 Raisons pour lesquelles le test doit être répété

Si l'un des résultats de test cités ci-dessous se produit, répéter le test conformément aux instructions données dans la section 16.2, Procédure de répétition du test.

- Un résultat **INVALID** (NON VALIDE) indique l'une ou plusieurs des situations suivantes
 - Le CIC a échoué.
 - L'échantillon n'a pas été traité correctement, ou la PCR est inhibée.
 - Le CAE a échoué.
 - Le volume d'échantillon ajouté était insuffisant.
- Un résultat **ERROR** (ERREUR) indique que le test a été abandonné. Les causes possibles comprennent les suivantes : remplissage incorrect du tube réactionnel ; détection d'un problème d'intégrité de la sonde de réactif, en raison d'un dépassement de la limite de pression maximale.
- Un résultat **NO RESULT** (PAS DE RÉSULTAT) indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours ou une panne de courant s'est produite.

16.2 Procédure de répétition du test

Pour répéter le test suite à un résultat **NO RESULT** (PAS DE RÉSULTAT), **INVALID** (NON VALIDE) ou **ERROR** (ERREUR), utiliser une nouvelle cartouche (ne pas réutiliser la cartouche) et de nouveaux réactifs.

1. Sortir une nouvelle cartouche du kit.
2. Voir Section 12.1, Préparation de la cartouche et Section 12.2, Démarrage du test.

17 Caractéristiques des performances

17.1 Limite de détection pour le sang total

La limite de détection (LDD) pour le test Xpert Ebola a été évaluée pour l'ARN du virus Ebola Zaïre et pour le virus Ebola Zaïre vivant. Les tests ont été réalisés avec trois panels de dilution, chacun testé en utilisant un lot de kit de réactifs. De l'ARN purifié du virus Ebola Zaïre Mayinga, obtenu auprès de l'agence suédoise de santé publique, a été dilué dans un mélange de réactif échantillon et de sang total, et les virus Ebola vivants 2014/Guéckédou-C05 et 2014/Guéckédou-C07 ont été chacun dilué dans du sang total EDTA. Au total, 20 réplicats d'ARN et 4 réplicats du virus vivant ont été testés par niveau et par échantillon. La LDD avec l'ARN a été estimée comme la concentration la plus basse d'ARN cible du virus Ebola Zaïre pouvant être différenciée de façon reproductible des échantillons négatifs avec une probabilité de 95 % à l'aide d'une analyse par régression probit. La LDD revendiquée pour l'ARN Mayinga a été confirmée en analysant au moins vingt réplicats dilués à la concentration de LDD estimée en utilisant trois lots de réactifs du test Xpert Ebola. 95 % des réplicats étaient positifs dans un lot de réactifs, et 100 % étaient positifs dans deux lots de réactifs. La LDD estimée du virus vivant a été confirmée comme la concentration la plus basse d'unités formant plages (UFP) par ml de sang total EDTA à laquelle au moins 19 des 20 réplicats étaient positifs. Les résultats pour l'ARN et le virus vivant Ebola Zaïre sont présentés dans le Tableau 2 et le Tableau 3.

Tableau 2. Limité de détection pour l'ARN du virus Ebola Zaïre pour le test Xpert Ebola à l'aide d'une analyse par régression probit

Échantillon	Concentration nominale (copies/ml)	Total des réplicats (N)	Total des positifs (N)	Taux de positivité (%)	LDD avec une probabilité de 95 % estimée par analyse probit (intervalle de confiance à 95 %)
ARN du virus Ebola Zaïre Mayinga	700	20	20	100	232,4 copies/ml (IC à 95 % 163,1-301,6)
	300	20	20	100	
	150	20	13	65	
	75	20	12	60	
	30	20	9	45	
	15	20	5	25	

Tableau 3. Nombre de répliquats positifs par niveau pour les virus Ebola Zaïre Makona-Guéckédou 07 et 05 dans le sang total EDTA et confirmation de la limite de détection

Échantillon	Concentration nominale (UFP/ml)	Total des répliquats (N)	Total des positifs (N)	Taux de positivité (%)	Confirmation de la LDD		
					Concentration nominale (UFP/ml)	Total des répliquats (N)	Total des positifs (N)
Virus Ebola Zaïre Makona-Guéckédou 07	50	4	4	100	1,0	20	20
	25	4	4	100			
	12,5	4	4	100			
	1	4	4	100			
	0,1	3	1	33			
	0,01	4	0	0			
Virus Ebola Zaïre Makona-Guéckédou 05	0,13	4	4	100	0,13	20	20
	0,065	4	4	100			
	0,0325	4	3	75			
	0,01625	4	1	25			

17.2 Limite de détection pour les écouvillons buccaux

La limite de détection (LDD) des écouvillons buccaux pour le test Xpert Ebola a été déterminée pour l'ARN du virus Ebola Zaïre. Un panel de dilution comprenant huit échantillons a été préparé à partir d'un échantillon d'ARN du virus Ebola Zaïre Mayinga et testé sur un lot de réactifs. Le panel de dilution a été préparé en enrichissant un groupe d'écouvillons dans du réactif échantillon avec l'ARN du virus Ebola, dans une plage de 0 à 1 000 copies/écouvillon d'ARN Ebola. La LDD des écouvillons buccaux avec l'ARN a été estimée à l'aide d'une analyse par régression probit. La LDD revendiquée a été confirmée en analysant au moins 20 répliquats dilués aux concentrations de LDD estimées en utilisant deux lots de réactifs du test Xpert Ebola. La LDD revendiquée est définie comme la concentration à laquelle 95 % d'au moins 20 répliquats par lot de réactifs sont positifs (Tableau 4). La LDD du test Xpert Ebola en utilisant les écouvillons buccaux enrichis avec l'ARN du virus Ebola Zaïre Mayinga est déterminée comme étant de 350,0 copies/écouvillon.

Tableau 4. Limite de détection de l'ARN du virus Ebola Zaïre avec les écouvillons buccaux pour le test Xpert Ebola à l'aide d'une analyse par régression probit et confirmation de la limite de détection

Échantillon	Concentration nominale (copies/écouvillon)	Total des répliquats (N)	Total des positifs (N)	Taux de positivité (%)	LDD avec une probabilité de 95 % estimée par analyse probit (intervalle de confiance à 99,9 %)	Confirmation de la LDD			
						Concentration nominale (copies/écouvillon)	Lot de réactif	Total des répliquats (N)	Total des positifs (N)
ARN du virus Ebola Zaïre dans les écouvillons buccaux	600	20	20	100	250,0 copies/écouvillon (IC à 99,9 % 149,3-350,0)	350	1	20	20
	400	20	19	95					
	200	20	18	90					
	100	20	18	90					
	50	20	5	25			2	20	20
	25	20	5	25					
	12,5	20	1	5					
	0	20	0	0					

Équivalence entre les types d'échantillons (sang veineux total EDTA et sang total prélevé au bout du doigt)

En utilisant le test Xpert Ebola, l'équivalence de performance des deux différents types d'échantillons (sang veineux total EDTA et sang total prélevé au bout du doigt) a été démontrée avec les échantillons de vingt sujets sains. Le sang recueilli par ponction veineuse a été prélevé dans des tubes EDTA puis transféré au flacon de réactif échantillon, tandis que le sang prélevé au bout du doigt a été immédiatement placé dans le réactif échantillon. Les deux types d'échantillon ont été enrichis avec 1 500 copies/ml d'ARN du virus Ebola Mayinga et l'analyse a été réalisée côte-à-côte. La performance équivalente entre les deux différents types d'échantillons a été démontrée.

Plage linéaire

La linéarité du test Xpert Ebola a été déterminée pour les cibles de la GP et la NP du virus Ebola, en analysant un panel de six échantillons préparés à partir de dilutions en série d'un échantillon d'ARN du virus Ebola Mayinga allant de 3×10^2 à 1×10^7 copies/ml dans du sang total. Chaque échantillon du panel a été analysé en six réplicats en utilisant un lot de réactif. Les résultats sont présentés dans les figures 8 et 9, et démontrent que le test est linéaire dans une plage allant de 3×10^2 à 1×10^7 copies/ml avec une valeur R^2 (qui est le produit d'une courbe standard) de 0,99 pour la cible GP Ebola et de 0,98 pour la cible NP Ebola.

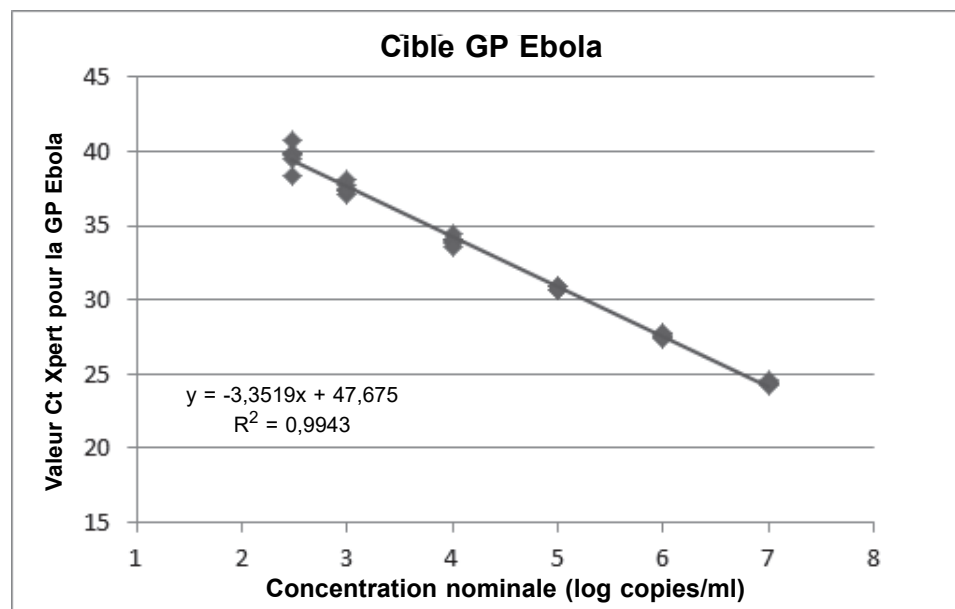


Figure 8. Linéarité de la cible GP Xpert Ebola

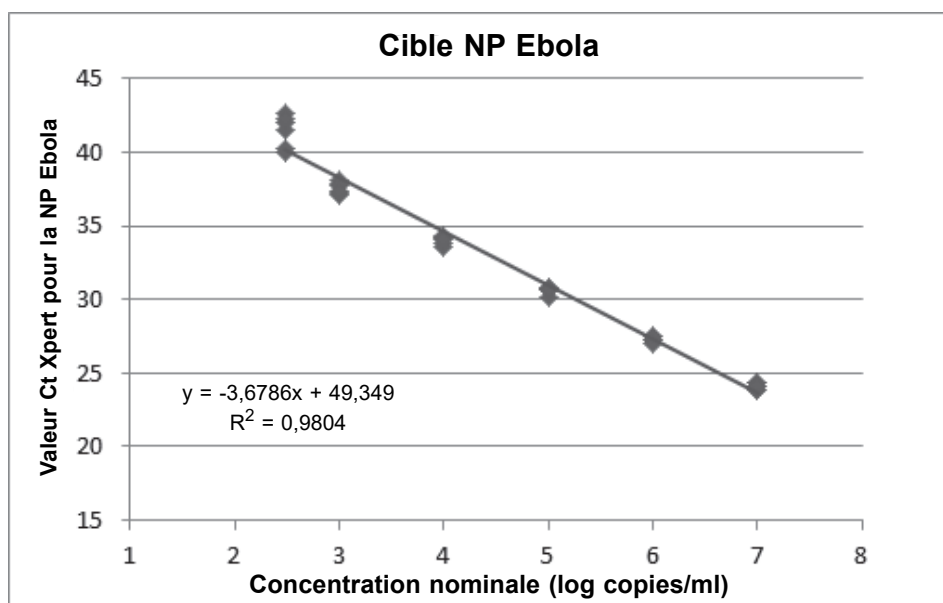


Figure 9. Linéarité de la cible NP Ebola Xpert

17.3 Réactivité analytique (inclusivité)

La réactivité analytique (inclusivité) du test Xpert Ebola a été déterminée pour quatre souches du virus Ebola Zaïre autres que Mayinga qui étaient disponibles sous forme de virus Ebola vivant ou d'ARN viral. De plus, l'analyse *in silico* de toutes les autres séquences de souches disponibles, non testées, du virus Ebola Zaïre a été effectuée. Les échantillons de test ont été préparés en utilisant chaque échantillon individuel pour enrichir du sang total EDTA négatif pour Ebola avec ou, si de l'ARN préparé à partir du virus a été utilisé, du sang total EDTA négatif pour Ebola mélangé au réactif échantillon. Chaque échantillon a été testé en 20 réplicats et un échantillon de contrôle négatif, composé de sang total EDTA négatif pour Ebola, a été testé en trois réplicats en utilisant un lot de kits de réactifs. Les résultats du test pour les échantillons positifs pour Ebola sont présentés dans le Tableau 5. Tous les échantillons de contrôle négatifs pour Ebola ont reçu un résultat **Ebola GP NOT DETECTED** (GP Ebola NON DÉTÉCTÉE), **Ebola NP NOT DETECTED** (NP Ebola NON DÉTÉCTÉE).

Tableau 5. Réactivité analytique pour le test Xpert Ebola

Souche Ebola Zaïre	Type d'échantillon	Concentration du test	Total des réplicats (N)	Total des positifs (N)	Taux de positivité (%)
Guinée	Virus vivant	1 X LDD	20	20	100 %
Ekron	Virus vivant	3 X LDD	20	20	100 %
Gabon	Virus vivant	3 X LDD	20	20	100 %
Kikwit	ARN	5 X LDD	20	20	100 %

L'analyse *in silico* a été réalisée pour prédire les performances du test Xpert Ebola dans la détection de toutes les séquences de variants du virus Ebola Zaïre disponibles dans GenBank ; des premières données de séquence Zaïre publiées en 1976 aux séquences provenant de la flambée épidémique actuelle en Afrique de l'Ouest. Les deux séquences d'amplicon Xpert Ebola dérivées des gènes de la glycoprotéine (GP) et de la nucléoprotéine (NP) Zaïre ont été analysées par BLAST (NCBI). De plus, les six séquences oligonucléotidiques Xpert Ebola ont été vérifiées individuellement à l'aide d'un outil d'alignement de base de données local contenant toutes les séquences du virus Ebola Zaïre disponibles dans GenBank. Les analyses montrent que les oligonucléotides de la NP et la GP du virus Ebola Zaïre correspondent complètement à toutes les séquences Zaïre présentes dans GenBank.

17.4 Spécificité analytique (exclusivité)

La spécificité analytique du test Xpert Ebola a été évaluée en analysant des virus et bactéries non Ebola et des souches Ebola non Zaïre à des niveaux cliniquement significatifs. Les échantillons ont été préparés en utilisant chaque microorganisme individuel pour enrichir du sang total EDTA négatif pour Ebola ou, si l'ARN/ADN génomique de l'microorganisme a été utilisé, du sang total EDTA négatif pour Ebola mélangé au réactif échantillon. Les résultats du test de spécificité analytique sont présentés dans le Tableau 6 et le Tableau 7. La spécificité analytique du test Xpert Ebola pour les microorganismes évalués est de 100 %.

Tableau 6. Détermination de la spécificité analytique pour le test Xpert Ebola, échantillons positifs pour Ebola non Zaïre

Microorganisme	Type d'échantillon	Conc. testée (Conc. particulière utilisée pour isoler l'acide nucléique)	Unité (ng ou UFP/ml de sang total)	N	Résultats positifs	Résultats négatifs
Ebola Côte d'Ivoire	Acides nucléiques	546 ^a	ng/ml	3	0	3
Ebola Reston	Acides nucléiques	3,0 x 10 ⁵	UFP/ml	3	0	3

a. Concentration d'ARN du matériel mère

Tableau 7. Détermination de la spécificité analytique pour le test Xpert Ebola, échantillons non Ebola

Microorganisme	Type d'échantillon	Conc. testée (Conc. particulière utilisée pour isoler l'acide nucléique)	Unité (ng ou UFP/ml de sang total)	N	Résultats positifs	Résultats négatifs
Virus Chikungunya (181/25)	Acides nucléiques	2798 ^a	ng/ml	3	0	3
<i>Coxiella burnetii</i>	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
Virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (Dubai)	Acides nucléiques	3,4 x 10 ⁶	UFP/ml	3	0	3
Virus de la dengue (type 2)	Acides nucléiques	2,7 x 10 ⁶	UFP/ml	3	0	3
<i>Haemophilus influenzae</i>	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
Virus de l'influenza A (H9N2)	Acides nucléiques	1,0 x 10 ⁵	UFP/ml	3	0	3
Virus Lassa (Pinneo)	Acides nucléiques	5,7 x 10 ³	UFP/ml	3	0	3
Marburg (Angola)	Acides nucléiques	2,6 x 10 ⁶	UFP/ml	3	0	3
Marburg (Angola)	Virus vivant	5,0 x 10 ^{4b}	UFP/ml	3	0	3
Marburg (Musoke)	Acides nucléiques	6,0 x 10 ⁴	UFP/ml	3	0	3
Marburg (Musoke)	Virus vivant	5,0 x 10 ^{4b}	UFP/ml	3	0	3
Marburg (Ravn)	Acides nucléiques	4,8 x 10 ⁵	UFP/ml	3	0	3
Mosquito	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia conorii</i>	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia prowazekii</i>	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia typhi</i>	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
Virus de la fièvre de la Vallée du Rift (SA51)	Acides nucléiques	7,5 x 10 ⁵	UFP/ml	3	0	3
<i>Salmonella bongori</i>	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3

Tableau 7. Détermination de la spécificité analytique pour le test Xpert Ebola, échantillons non Ebola (Suite)

Microorganisme	Type d'échantillon	Conc. testée (Conc. particulière utilisée pour isoler l'acide nucléique)	Unité (ng ou UFP/ml de sang total)	N	Résultats positifs	Résultats négatifs
<i>Salmonella typhi</i>	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
<i>Shigella flexneri</i> de type 2	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
Virus de la tique	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
Fièvre jaune (OBS-6745)	Acides nucléiques	1,0 x 10 ⁶	UFP/ml	3	0	3
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3
<i>Yersinia pestis</i>	Acides nucléiques	50	ng/ml	3	0	3

- a. Concentration d'ARN du matériel mère
b. Concentration testée pour le virus vivant.

Des analyses *in silico* ont été réalisées pour prédire le risque de réactivité croisée des oligonucléotides (GP et NP) Zaïre du test Xpert Ebola avec les virus Ebola non Zaïre ainsi qu'avec tous les pathogènes d'exclusivité figurant dans le Tableau 7 et le Tableau 8. Les analyses montrent que les séquences amorce et sonde du test Xpert Ebola sont spécifiques et ne devraient pas produire de résultats faux positifs pour Ebola Zaïre avec les microorganismes évalués.

Tableau 8. Microorganismes analysés *in silico* pour la spécificité analytique

Microorganisme
Ebola Soudan-Boniface
Ebola Soudan-Bundibugyo
Ebola Soudan-Gulu
Adénovirus
<i>Borrelia recurrentis</i>
Entérovirus
Virus de l'influenza B
Genre <i>Leptospira</i>
Marburg (Ci67)
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>Plasmodium malariae</i>
<i>Plasmodium ovale</i>
<i>Plasmodium vivax</i>
<i>Rickettsia africae</i>
Rotavirus
RSV
<i>Trypanosoma</i>
<i>Vibrio cholerae</i>

17.5 Substances potentiellement interférentes

La susceptibilité du test Xpert Ebola à l'interférence de niveaux élevés de substances endogènes présentes dans le sang total a été évaluée. Pour les substances endogènes, du sang total EDTA négatif pour Ebola et du sang total EDTA positif pour Ebola, enrichis avec les substances, ont été testés. Pour préparer les échantillons positifs pour Ebola, de l'ARN du virus Ebola Zaïre Mayinga (2 500 copies/ml) a été ajouté au réactif échantillon, qui a ensuite été mélangé à du sang total EDTA enrichi individuellement avec chacune des substances interférentes. Au total, cinq substances ont été évaluées aux concentrations présentées dans le Tableau 9. Six réplicats de chaque échantillon ont été testés en utilisant un lot de kits de réactifs. Des niveaux élevés des substances endogènes indiquées dans le Tableau 9 n'affectaient pas avec la spécificité du test ou n'interféraient pas avec la détection du virus Ebola.

Tableau 9. Substances endogènes et concentration analysée

Substances endogènes	Concentration testée
Albumine	90,0 mg/ml
Bilirubine	0,300 mg/ml
ADN humaine	4,0 µg/ml
Hémoglobine	5,0 mg/ml
Triglycérides	30,0 mg/ml

17.6 Analyse des échantillons cliniques artificiels

Les caractéristiques de performance du test Xpert Ebola ont été évaluées en utilisant des échantillons cliniques simulés. Les données rapportées de ces échantillons cliniques simulés ont été obtenues en utilisant des techniques d'analyse à l'aveugle. En raison de la difficulté à obtenir des échantillons cliniques de patients infectés par Ebola, des échantillons simulés ont été préparés en enrichissant des échantillons de sang total EDTA provenant de différents sujets négatifs pour Ebola avec le virus Ebola vivant ou l'ARN du virus Ebola. Le sang total a été enrichi avec le virus Ebola ou l'ARN viral à différentes concentrations allant d'un niveau proche de la LDD à des niveaux élevés (jusqu'à 200 fois la LDD). De plus, des échantillons de sang total EDTA non enrichi provenant de différents donneurs individuels négatifs ont également été testés. Les échantillons ont été testés à l'aveugle avec le test Xpert Ebola.

Le pourcentage de concordance positive (PCP) pour l'ARN d'EBOV Mayinga était de 100,0 % (50/50, [IC à 95 % : 92,9-100,0]) ; pour le virus vivant Makona-Guéckédou 05 le PCP était de 100,0 % (50/50, [IC à 95 % : 92,9-100,0]) ; et pour le virus vivant Makona-Guéckédou 07 le PCP était de 84,0 % (42/50, [IC à 95 % : 71,5-97,1]). Le pourcentage de concordance négative (PCN) était de 100,0 % (50/50, [IC à 97,5 % : 92,9-100,0]) dans chacune des études. Le Tableau 10, le Tableau 11 et le Tableau 12 présentent les résultats pour les échantillons négatifs et ceux enrichis avec le virus Ebola.

Tableau 10. Nombre de résultats de test positifs et négatifs pour les échantillons enrichis avec l'ARN Ebola Zaïre Mayinga et les échantillons de contrôle négatif

Concentration nominale	N	Résultats positifs		Résultats négatifs
0	50	0		50
1 x LDD	25	25		0
3 x LDD	10	10		0
10 x LDD	10	10		0
100 x LDD	5	5		0
				IC à 95 %
Pourcentage de concordance positive		50/50	100 %	92,9 %-100 %
Pourcentage de concordance négative		50/50	100 %	92,9 %-100 %

Tableau 11. Nombre de résultats de test positifs et négatifs pour les échantillons enrichis avec le virus Ebola Makona-Guéckédou 05 et les échantillons de contrôle négatif

Concentration nominale	N	Résultats positifs		Résultats négatifs
0	50	0		50
1 x LDD	25	25		0
3 x LDD	10	10		0
10 x LDD	10	10		0
100 x LDD	5	5		0
				IC à 95 %
Pourcentage de concordance positive		50/50	100 %	92,9 %-100 %
Pourcentage de concordance négative		50/50	100 %	92,9 %-100 %

Tableau 12. Nombre de résultats de test positifs et négatifs pour les échantillons enrichis avec le virus Ebola Makona-Guéckédou 07 et les échantillons de contrôle négatif

Concentration nominale	N	Résultats positifs		Résultats négatifs
0	50	0		50
2 x LDD	25	21		4
6 x LDD	10	10		0
20 x LDD	10	6		4
200 x LDD	5	5		0
				IC à 95 %
Pourcentage de concordance positive		42/50	84,0 %	71,5 %-97,1 %
Pourcentage de concordance négative		50/50	100 %	92,9 %-100 %

L'examen de l'écart entre les résultats du PCP pour les échantillons artificiels enrichis avec le virus Ebola Makona-Guéckédou 07 (Tableau 12) et ceux des deux autres ensembles d'échantillons artificiels (Tableau 10 et Tableau 11) a montré des incohérences dans la préparation des échantillons. Les écouvillons n'ont pas été entièrement immergés dans les échantillons contenant les échantillons de sang total enrichis avec le virus Ebola Makona-Guéckédou 07, limitant la quantité d'échantillon testée. L'analyse des échantillons artificiels enrichis avec le virus Ebola Makona-Guéckédou 07 a été répétée en utilisant 50 échantillons individuels de sang total aux concentrations finales et volumes corrects pour chaque échantillon. Le Tableau 13 montre la synthèse des résultats à chaque concentration testée et le pourcentage de concordance positif et négatif pour l'étude répétée.

Tableau 13. Synthèse des résultats et pourcentage de concordance positif et négatif pour les échantillons artificiels enrichis avec le virus Ebola Makona-Guéckédou 07–Texas

Concentration nominale	N	Résultats positifs		Résultats négatifs
0	6	0		6
1 x LDD	25	20		5
3 x LDD	10	10		0
10 x LDD	10	10		0
100 x LDD	5	5		0
				IC à 95 %
Pourcentage de concordance positive		45/50	90,0 %	78,6 %-95,7 %
Pourcentage de concordance négative		6/6	100 %	61,0 %-100 %

18 Efficacité virucide

L'efficacité du réactif échantillon Xpert Ebola à inactiver le virus Ebola (EBOV) après 20 minutes d'incubation dans le réactif échantillon a été évaluée en ajoutant $4,6 \times 10^6$ UFP du virus vivant Ebola Zaïre Guinée à 2,5 ml de réactif échantillon. Après l'inactivation, le mélange EBOV/réactif échantillon a été dialysé en utilisant un dispositif de dialyse à l'équilibre rapide à usage unique. Le contrôle pour l'étude d'inactivation était le virus vivant Ebola Zaïre Kikwit (environ 1×10^7 UFP/ml) dilué 10 fois dans un tampon de lyse AVL complet et inactivé pendant 5 minutes à 90 °C. Le virus vivant Zaïre Guinée ($4,6 \times 10^6$ UFP) a été utilisé comme contrôle positif. L'efficacité virucide du réactif échantillon a été étudiée en ajoutant le mélange virus/réactif échantillon à des cellules Vero E6 conjoints et en observant l'effet cytopathique (ECP) sur 2 passages (7 + 7 jours) par réplicats de trois.

Le réactif échantillon Xpert Ebola a complètement inactivé le virus EBOV ajouté et a été démontré comme étant à 100 % efficace jusqu'à 6 logs d'EBOV.

19 Limites du test

- Des résultats négatifs n'excluent pas une infection par le virus Ebola et ne doivent pas être utilisés comme seul critère pour la prise de décisions concernant le traitement ou la prise en charge du patient.
- Tous les résultats de test doivent être interprétés par un professionnel ayant la formation requise, ensemble avec les antécédents du patient et les signes et symptômes cliniques.
- Ce test a été évalué pour utilisation avec du sang total humain et des prélèvements sur écouvillon buccal uniquement.
- 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 faux positifs ou inexplicables.
- Ce test est un test qualitatif et ne fournit pas une valeur quantitative pour le virus présent dans l'échantillon.
- L'interprétation des résultats pour le test Xpert Ebola doit tenir compte de la possibilité de résultats faux positifs et faux négatifs.
- Des résultats faux positifs peuvent se produire en raison d'une contamination croisée par le microorganisme cible, par leurs acides nucléiques ou par l'amplicon de PCR.
- Le non-respect des procédures de test peut produire des résultats erronés.
- La présence d'inhibiteurs dans les échantillons peut produire des résultats faux négatifs.
- Des résultats de test erronés peuvent se produire en raison du prélèvement, de la manipulation et du stockage incorrects des échantillons, d'une confusion entre les échantillons ou d'une concentration d'organismes dans le prélèvement trop basse pour être détectée par le test. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les instructions de cette notice afin d'éviter des résultats erronés.
- Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison d'amorce ou de sonde peuvent affecter la détection de variantes nouvelles ou inconnues, produisant un résultat faussement négatif.

20 Bibliographie

1. WHO Ebola Situation Reports <http://apps.who.int/ebola/en/ebola-situation-reports>.
2. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC)).
3. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z)

21 Localisation des sièges de Cepheid

Siège social

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
Téléphone : + 1 408 541 4191
Fax : + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Siège européen

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France
Téléphone : + 33 563 825 300
Fax : + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 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 de l'instrument
- Messages d'erreur (le cas échéant)
- Version logicielle et, le cas échéant, le « Service Tag » (numéro d'étiquette de service de l'ordinateur)

















Informations de contact

États-Unis
Téléphone : + 1 888 838 3222
Email: techsupport@cepheid.com

France
Téléphone : + 33 563 825 319
Email: support@cepheideurope.com

Les coordonnées de tous les bureaux du service d'assistance technique de Cepheid sont disponibles sur notre site Internet à l'adresse suivante : www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro de référence
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Marquage CE – Conformité européenne
	Ne pas réutiliser
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Quantité suffisante pour <n> tests
	Contrôle
	Limite de température
	Risques biologiques
	Avertissement
	Date de péremption
	Représentant autorisé en Suisse
	Importateur



Cepheid
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



