

Formación técnica en el ensayo Xpert® HCV VL Fingerstick

Para uso de CE-IVD exclusivamente



Programa de formación

- **Xpert® HCV VL Fingerstick**
 - Utilidad clínica
 - Reactivos
 - Recogida de muestras
 - Conservación y manipulación del kit
 - Preparación del cartucho
 - Controles de calidad
 - Análisis de resultados
- **Discusión**



Objetivos del curso

- **Al final del curso de formación, el usuario será capaz de:**
 - Conservar y manipular correctamente el kit del cartucho Xpert[®] HCV VL Fingerstick.
 - Tomar las precauciones de seguridad de laboratorio adecuadas.
 - Recoger y transportar las muestras apropiadas.
 - Preparar un cartucho y llevar a cabo el ensayo.
 - Notificar los diversos resultados generados por el software.
 - Comprender la estrategia de control del ensayo.

La solución Cepheid



- Detecta y cuantifica
 - ARN del HCV
 - Resultados dentro del intervalo lineal de 100 a 100.000.000 IU/ml de ARN del HCV*
- Controles incorporados para cada muestra
 - Adecuación del volumen de la muestra (SVA)
 - Control de comprobación de la sonda (PCC)
 - Patrones cuantitativos internos (IQS) alto (H) y bajo (L)
- Resultados en aproximadamente 60 minutos
- Sistema de cartucho cerrado que minimiza el riesgo de contaminación
- Resultados a demanda
- Acceso aleatorio

* El ensayo se estandarizó en comparación con el 4.º estándar internacional de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el HCV (código NIBSC: 06/102).6

Indicaciones

El ensayo Xpert HCV VL Fingerstick (FS) es un ensayo *in vitro* de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) para la **detección y cuantificación del ARN del virus de la hepatitis C (HCV) en sangre completa humana conservada en EDTA procedente de venopunción o de punción dactilar capilar de personas infectadas por el HCV utilizando los sistemas del instrumento GeneXpert® automatizado.**

El ensayo Xpert HCV VL Fingerstick está indicado para utilizarse como una ayuda en el **diagnóstico inicial** de personas con alto riesgo de infección por HCV o en personas positivas para anticuerpos contra el HCV. La detección del ARN del HCV indica que el virus se está replicando y que, por lo tanto, hay **indicios de una infección activa.**

El ensayo Xpert HCV VL Fingerstick está indicado para utilizarse como una ayuda en el **control de pacientes infectados con el HCV y tratados con antivirales.** La prueba mide las concentraciones de ARN del HCV en cualquier momento durante la viremia y durante el tratamiento, y puede utilizarse para **predecir la respuesta virológica sostenida y no sostenida al tratamiento para el HCV.**

Indicaciones - Avisos

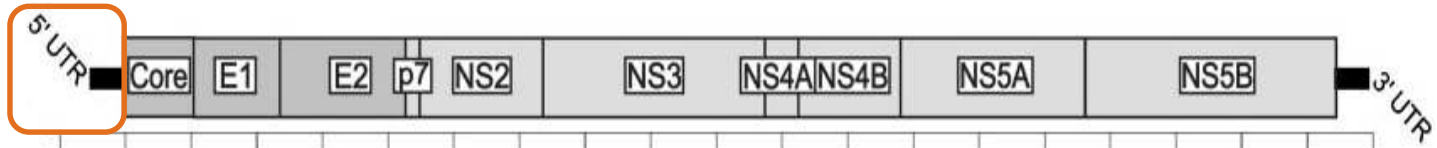
- El ensayo Xpert HCV VL Fingerstick está indicado para que lo utilicen **profesionales de laboratorio o trabajadores sanitarios específicamente formados.**
- El ensayo **no** está concebido para utilizarse como prueba de HCV para el cribado de donantes de sangre.
- El ensayo permite cuantificar ARN del HCV a lo largo de un intervalo de **100 a 100.000.000 IU/ml**

Dianas

Dianas

- Patrones cuantitativos internos alto (IQS-H) y bajo (IQS-L)
- La región más conservada del genoma del ARN del HCV

El ensayo se ha diseñado para detectar 6 genotipos (1-6)



Requisitos del ensayo

Sistemas GeneXpert

Software GeneXpert Dx v 4.7 b o posterior
Software Xpertise v 6.4 o posterior

Kits de la prueba (CE-IVD)

GXHCV-FS-CE-10

Recogida de muestras

Safety-Lancet Super, 1,5 mm desechable (Sarstedt, n.º de referencia: 85.1018) o similar, para extraer un mínimo de 100 µl de sangre capilar - No suministrado
Minivette® POCT 100 µl K3 EDTA para la recogida de sangre capilar – Se puede solicitar a Cepheid
Tubos con EDTA para venopunción de sangre venosa – No se proporcionan

Otros materiales

Equipo de protección individual (EPI)
Lejía a 1:10
Etanol desnaturalizado o etanol al 70 %
Toallitas desinfectantes

Opcional

Sistema de alimentación ininterrumpida/Protector de sobretensiones
Impresora

Buenas prácticas de laboratorio

Equipo de protección individual (EPI)

- Use guantes y bata de laboratorio limpios
- Cámbiese los guantes cada vez que procese muestras

Área de la mesa del laboratorio

- Limpie las superficies de trabajo de forma habitual con:
 - ✓ Dilución 1:10 de lejía de uso doméstico
 - ✓ Solución de etanol al 70 %
- Después de la limpieza, asegúrese de que las superficies de trabajo estén secas

Conservación de muestras y kits

- Conserve las muestras separadas del kit para prevenir la contaminación

Equipo

- Utilice puntas de pipeta con filtro cuando se recomiende
- Siga los requisitos del fabricante para la calibración y el mantenimiento del equipo

Manipulación del kit



Contenido del kit Xpert HCV Viral Load Fingerstick

Número de catálogo	GXHCV-FS-CE-10
Cartuchos por kit	10
CD del kit	Archivo de definición del ensayo (Assay Definition File, ADF)
	Instrucciones para la importación de ensayos
	Prospecto (PDF)
Conservación	2 °C-28 °C



Kit de 10 cartuchos

Los cartuchos contienen sustancias químicamente peligrosas; consulte el prospecto y la ficha de datos de seguridad para obtener información más detallada.

Conservación y manipulación del kit del Xpert HCV VL Fingerstick

- Conserve los cartuchos de Xpert HCV VL Fingerstick a 2 °C-28 °C.
- Siga los procedimientos de seguridad del centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- No utilice dispositivos de recogida que no hayan sido validados por Cepheid.
- Abra la tapa del cartucho del ensayo solo para añadir la muestra, cierre la tapa y continúe con el procesamiento.
- Comience la prueba en las 4 horas siguientes a añadir la muestra al cartucho.

Advertencias y precauciones

- No agite el cartucho.
- No utilice un cartucho que...:
 - parezca mojado, tenga alguna fuga o en el que el precinto de la tapa parezca haberse roto.
 - parezca dañado.
 - se haya caído después de extraerlo del envase.
 - se haya caído o agitado después de habersele añadido la muestra.
 - tenga un tubo de reacción dañado.
 - se haya utilizado: cada cartucho de un solo uso se utiliza para procesar una sola prueba.
 - haya caducado.
- No vuelva a utilizar pipetas desechables usadas.



Advertencias y precauciones

- Las muestras biológicas, los dispositivos de recogida y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos que requieren las precauciones habituales
- Siga los procedimientos de eliminación de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden exhibir características propias de los residuos químicos peligrosos que requieren procedimientos específicos de eliminación de carácter nacional o regional



- Si las normativas nacionales o regionales no proporcionan instrucciones claras en cuanto a los procedimientos de eliminación adecuados, las muestras biológicas y los cartuchos usados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS [Organización Mundial de la Salud] relativas a la manipulación y eliminación de desechos médicos

Recogida, conservación y transporte de muestras



Recogida de muestras – Sangre capilar

- **Dispositivo de punción** recomendado (no proporcionado por Cepheid)
 - **Safety-Lancet Super**, 1,5 mm desechable
 - Referencia Sarstedt, n.º de referencia: 85.1018 o similar
- **Dispositivo de recogida** obligatorio (disponible en Cepheid)
 - **Minivette® POCT** (100 µl)
- **Proceso:**
 - Caliente el dedo
 - Esterilice la zona antes de recoger la muestra
 - Realice una punción en el dedo con una lanceta de seguridad y recoja la sangre siguiendo las instrucciones del fabricante

Instrucciones detalladas en las siguientes diapositivas

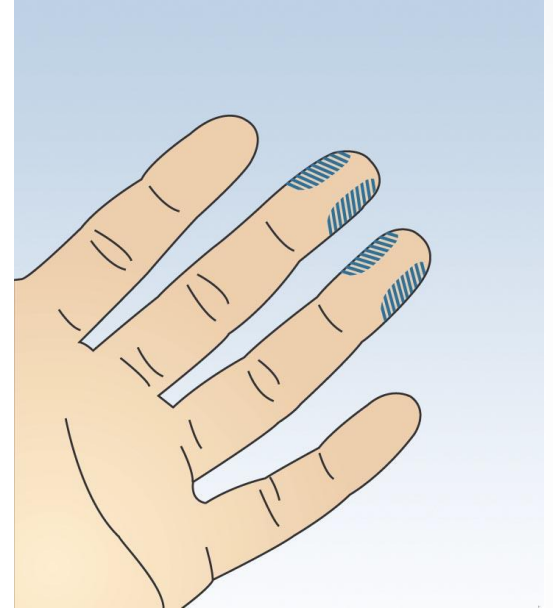


Imagen: folleto de Sarstedt

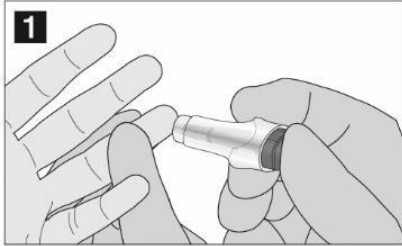
Instrucciones del fabricante

Calentar el lugar de la punción aumenta el flujo sanguíneo **hasta 7 veces** con respecto a su valor normal

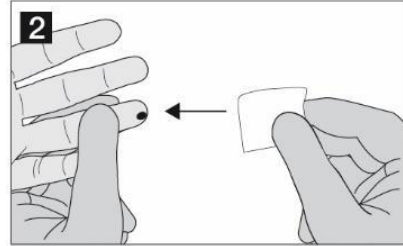
- Envuelva la mano del paciente en un paño caliente (a 39 °C - 40 °C)
- o
- Sostenga la mano del paciente bajo un chorro de agua entre 39 °C y 40 °C.



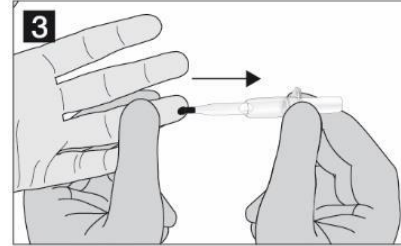
Recogida de sangre capilar



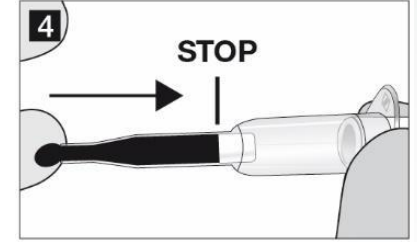
1
Limpie el lugar de la punción con un desinfectante
Deje que se seque hasta que el desinfectante se haya secado en su totalidad
Realice una punción en el dedo con la lanceta de seguridad



2
Deseche la primera gota retirándola con una gasa
Mantenga horizontal el lugar de la punción
Evite que la gota de sangre corra por el dedo



3
Toque la gota de sangre con la punta de la Minivette® POCT y sostenga esta en posición horizontal



4
Espere a que la sangre llegue al filtro situado en el otro extremo de la punta del capilar

El orificio de ventilación de aire situado en el extremo del pistón no debe cubrirse ni empujarse hacia abajo.

Vídeo : <https://www.sarstedt.com/en/products/new-products/video-minivetter-poct/>

Recogida de muestras – Sangre venosa


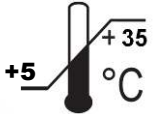

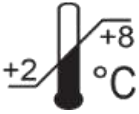

- Recoja la **sangre venosa** siguiendo las instrucciones del fabricante del tubo con EDTA
- Invierta de inmediato el tubo de 8 a 10 veces para mezclar y asegurar la correcta anticoagulación de la muestra



Medicoinfo.in

Transporte y conservación de las muestras

Imagen: MarketLab.com

Muestra	Temperatura (°C)	Tiempo de conservación
 Sangre capilar con EDTA		15 min. como máximo desde la recogida
 Sangre venosa con EDTA		72 horas
		24 horas

Preparación del cartucho



Preparación del cartucho – Sangre capilar del Minivette

NOTA:

- Recoja 100 μ l de la muestra de sangre completa con la Minivette
- Deje que el cartucho se ajuste a la temperatura ambiente antes de comenzar la prueba



1. Etiquete el lado del cartucho con el ID de la muestra.



2. Abra la tapa del cartucho.



3. Introduzca completamente la Minivette en la cámara de muestra del cartucho y presione lentamente el pistón hacia abajo para dispensar la muestra de sangre completa.



4. Cierre la tapa del cartucho.

5. Inicie la prueba dentro del período especificado en el prospecto.

Preparación del cartucho – Sangre venosa en el tubo con EDTA

NOTA:

- Recoja la sangre por venopunción (EDTA) según las instrucciones del fabricante
- Deje que el cartucho se ajuste a la temperatura ambiente antes de comenzar la prueba



1. Etiquete el lado del cartucho con el ID de la muestra.



2. Abra la tapa del cartucho.



3. Invierta el tubo 7 veces como mínimo para mezclar la sangre venosa contenida en el tubo de recogida de sangre con EDTA.



4. Pipetee 100 µl de sangre venosa del tubo de recogida con una micropipeta automática. Puede usar la técnica de pipeta prehumedecida para evitar cometer errores al pipetear



5. Coloque la pipeta en la cámara de muestras y transfiera lentamente 100 µl de sangre venosa del tubo de recogida a la cámara de muestras del cartucho.



6. Cierre la tapa del cartucho.

7. Inicie la prueba dentro del período especificado en el prospecto.

Realice una prueba

1 Cree una prueba

GeneXpert



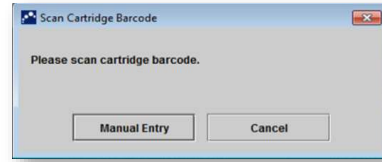
Comience la prueba en las **4 horas** siguientes a añadir la muestra al cartucho

GeneXpert
Infinity



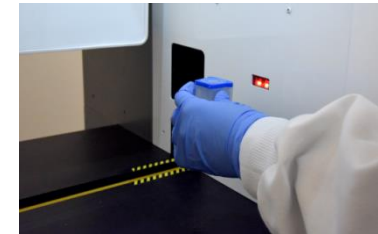
Coloque el cartucho en la cinta transportadora después de añadir la muestra al cartucho

2 Escanee los mensajes de código de barras:
ID del cartucho/paciente y/o muestra



De forma predeterminada, no haga clic en **Entrada manual (Manual Entry)** o **Cancelar (Cancel)**

3 Escanee el cartucho



"Para obtener información completa y detallada para realizar una prueba, consulte el prospecto y los manuales del operador del GeneXpert Dx o el Xpertise Dx.

Cree una prueba en el software GeneXpert Dx

4 Cumplimente los campos según sea necesario

5 El protocolo del ensayo se selecciona automáticamente

6 El módulo se selecciona automáticamente
¡NO LO CAMBIE!

7 Haga clic en Iniciar prueba (Start Test)

8 Parpadeará una luz verde en el módulo
Cargue el cartucho en el módulo y cierre la puerta

Create Test

Patient ID
Sample ID
Patient ID 2
Last Name

Name
Select Assay Xpert HCV VL Fingerstick
Select Module A3
Reagent Lot ID* 16119 Expiration Date* 2016/1/17
Test Type Specimen
Sample Type Other Other S
Notes

Start Test Scan Cartridge Barcode



Cree una prueba en el software Xpertise Dx

4 Cumplimente los campos según sea necesario

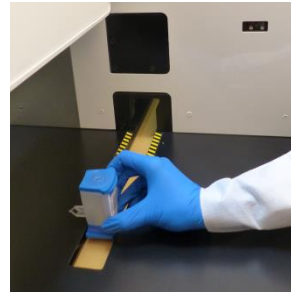
5 El protocolo del ensayo se selecciona automáticamente

6 Haga clic en ENVIAR (SUBMIT)

7 Coloque el cartucho en la cinta transportadora

Order Test - Test Information

Patient ID patientid	
Sample ID sampleid	
Last Name patient	First Name id
Assay* Xpert HCV VL Fingerstick	
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	



Protocolo automatizado del Xpert



Controles de calidad



- **Control del sistema: Comprobación del estado**
 - El control del sistema comprueba los componentes ópticos, la temperatura del módulo y la integridad de los dispositivos mecánicos de cada cartucho.
 - Si no se superan los controles del sistema, el resultado notificado de la prueba será de ERROR.
- **Controles de calidad del ensayo**
 - Cada cartucho Xpert es un dispositivo analítico autónomo
 - Cepheid ha diseñado métodos moleculares específicos para incluir controles internos que permiten al sistema detectar fallos específicos dentro de cada cartucho
 - Adecuación del volumen de la muestra (SVA)
 - Controles de comprobación de la sonda (PCC)
 - Patrones cuantitativos internos IQS-L e IQS-H para cuantificar el virus del ARN del HCV

Controles de calidad internos en detalle

- **Adecuación del volumen de la muestra (SVA)**

Verifica que se haya añadido el volumen correcto de muestra al cartucho.

- **Controles de comprobación de la sonda (PCC)**

- Antes del paso de la PCR, se mide la señal de fluorescencia en todas las sondas y se compara con los ajustes predeterminados para comprobar lo siguiente:

- rehidratación de las microesferas
- integridad de la sonda
- llenado del tubo de reacción
- estabilidad del colorante

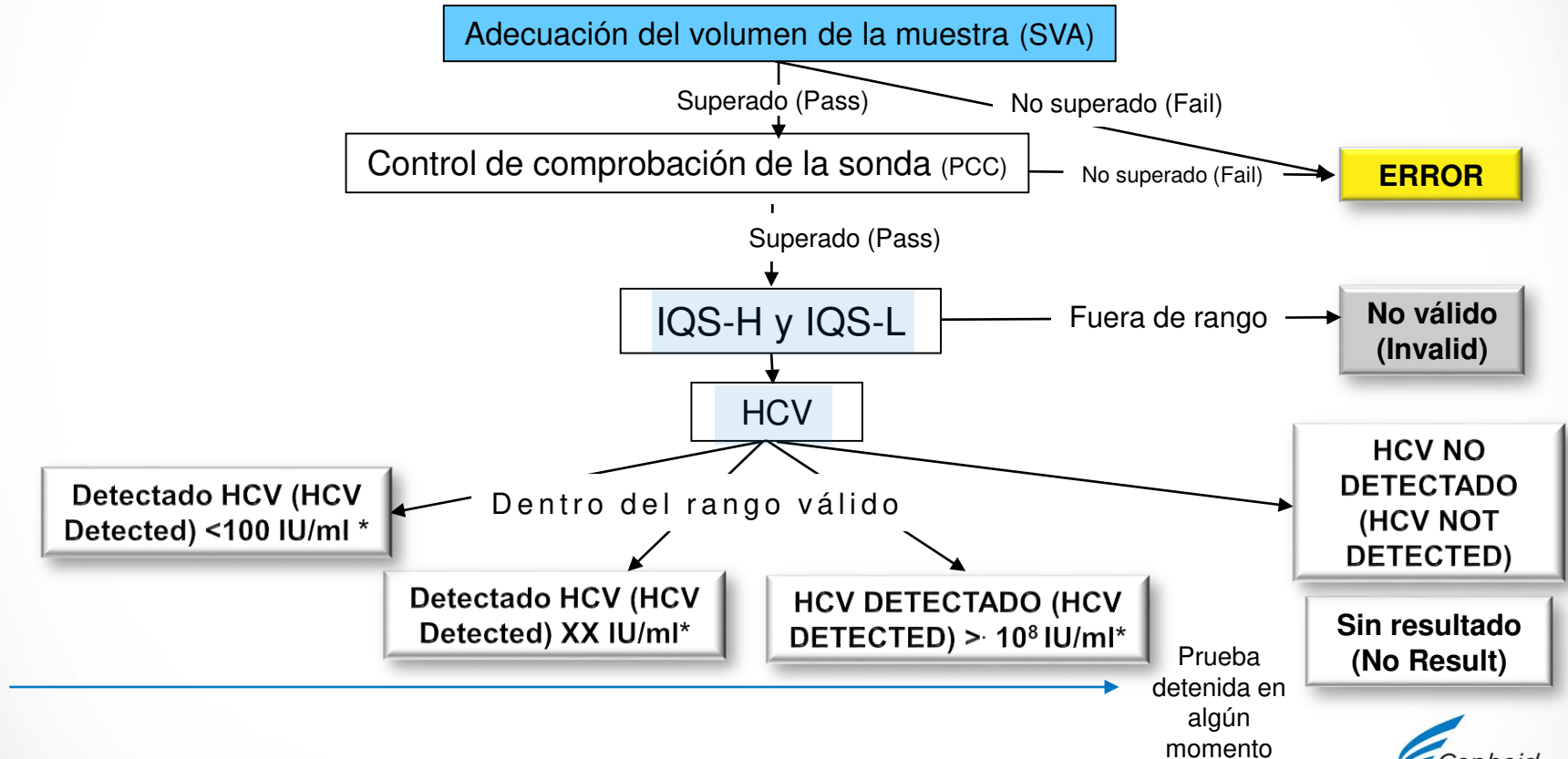
- **Patrones cuantitativos internos (IQS)**

- 2 controles Armored RNA® no infecciosos y no específicos del HCV en forma de una microesfera seca
- Denominados IQS Low (bajo) (10^3 copias/ml) e IQS High (alto) (10^6 copias/ml)
- El IQS-H y el IQS-L se calibran frente al cuarto estándar internacional de la OMS para el HCV NAT
- Verifica que la muestra se procesó correctamente
- Verifica la lisis, la presencia del microorganismo y detecta la inhibición
- Los valores de Ct y de fluorescencia del IQS Low (bajo) y del IQS High (alto) deben estar siempre dentro del rango válido

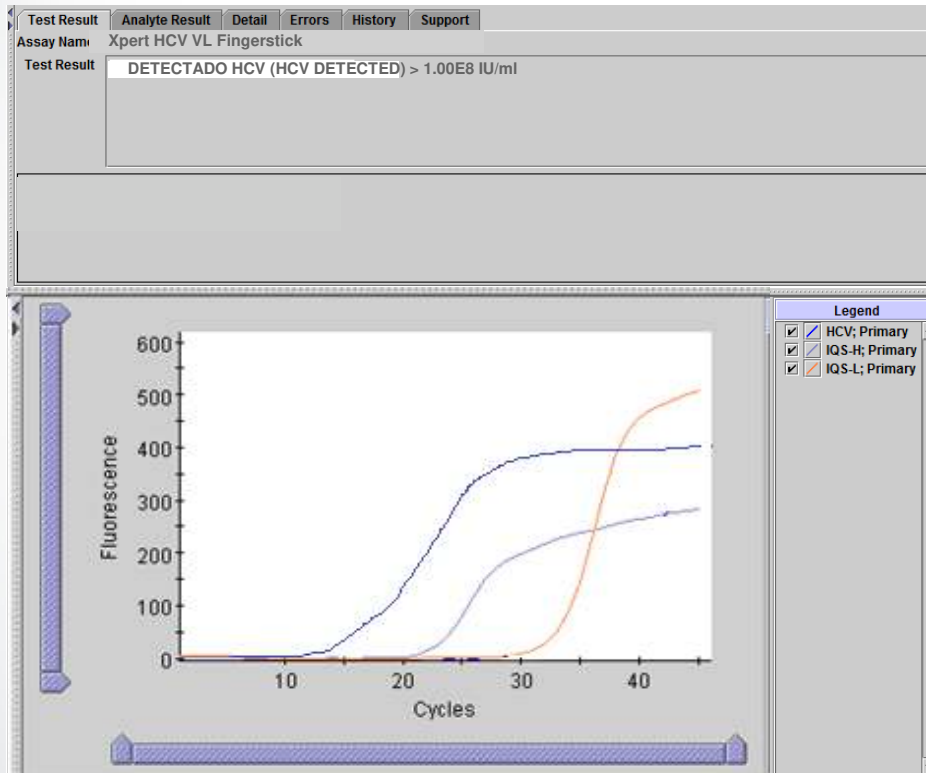
Interpretación de los resultados



Algoritmo de interpretación de los resultados



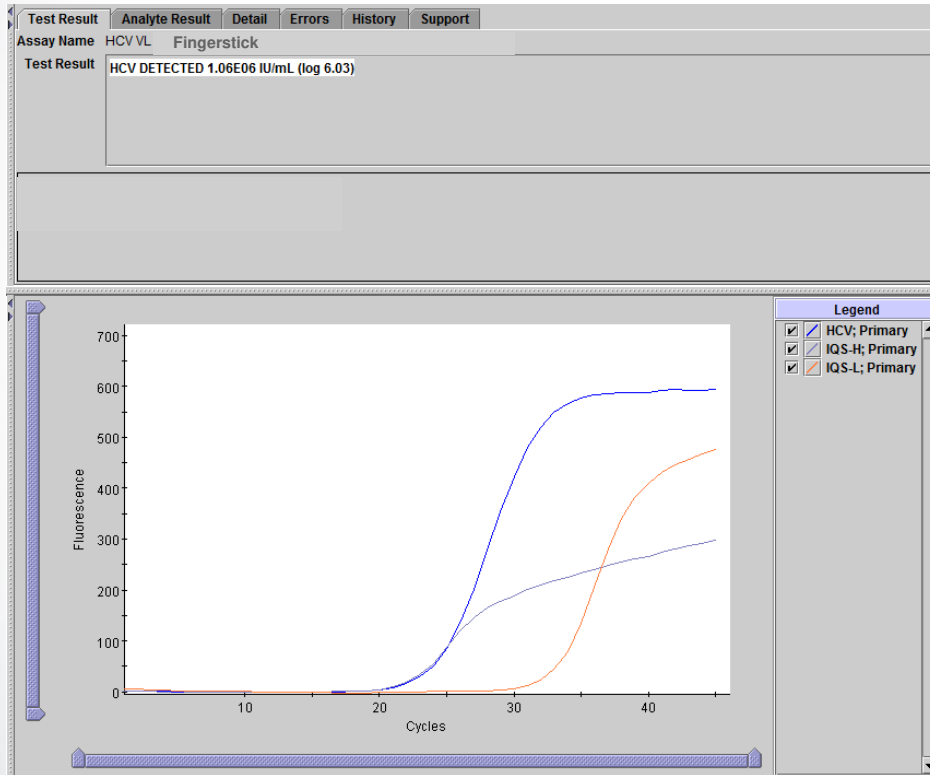
HCV DETECTADO (HCV DETECTED) > 1,00E08 IU/ml



Se ha detectado el HCV VL diana por encima del intervalo de medición analítico

- IQS-H: SUPERADO (PASS)
 - El IQS-H tiene un valor de Ct dentro del rango válido.
- IQS-L: SUPERADO (PASS)
 - El IQS-L tiene un valor de Ct dentro del rango válido.
- Comprobación de la sonda (Probe Check): SUPERADO (PASS)

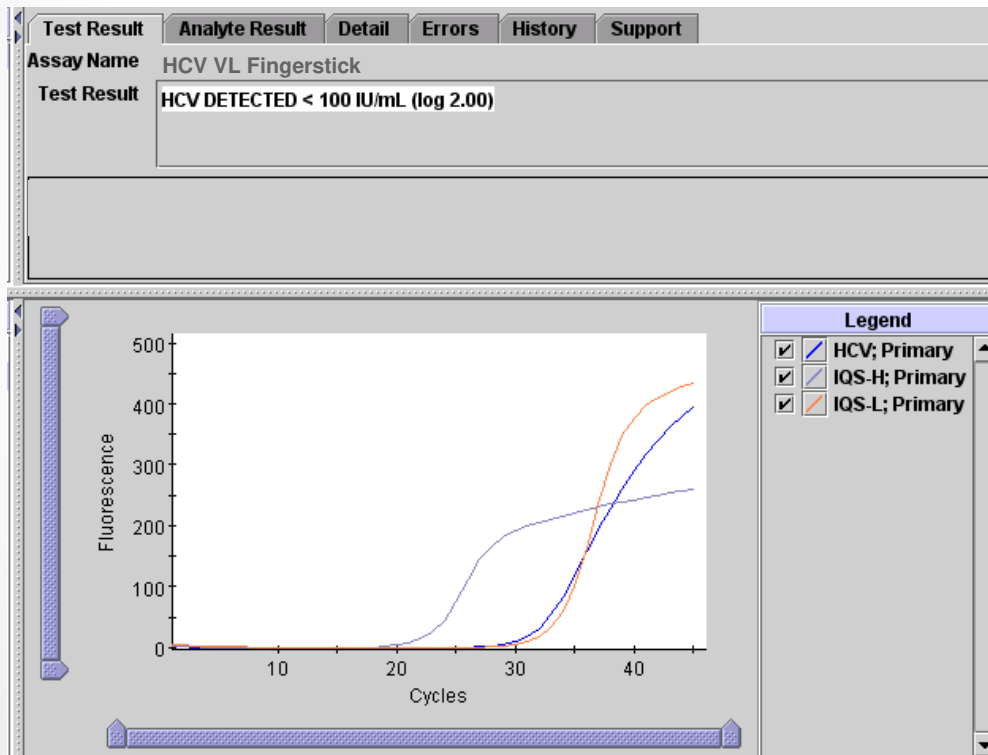
HCV DETECTADO (HCV DETECTED) 1,06 X 10⁶ IU/ml



El ARN del HCV tiene valor cuantitativo **dentro** del intervalo de medición analítico

- IQS-L e IQS-H — SUPERADO (PASS)
- Comprobación de la sonda — (Probe Check — PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación

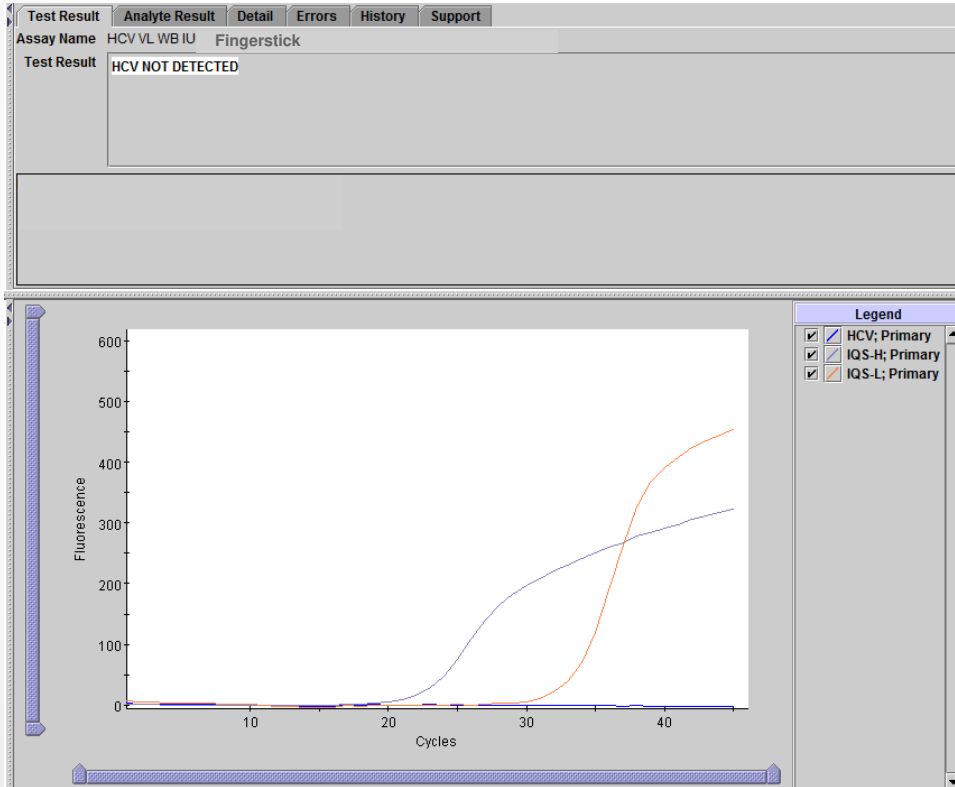
HCV VL DETECTADO (HCV VL DETECTED) < 100 IU/ml



Se ha detectado el HCV VL diana por **debajo** del intervalo de medición analítico

- IQS-H: SUPERADO (PASS)
 - El IQS-H tiene un valor de Ct dentro del rango válido.
- IQS-L: SUPERADO (PASS)
 - El IQS-L tiene un valor de Ct dentro del rango válido.
- Comprobación de la sonda (Probe Check): SUPERADO (PASS)

HCV NO DETECTADO (HCV NOT DETECTED)



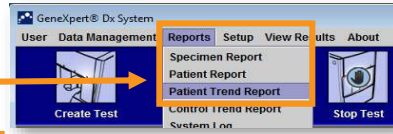
No se ha detectado el ARN del HCV diana

- IQS-L e IQS-H – SUPERADO (PASS)
- Comprobación de la sonda – (Probe Check – PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación

Patient Trend Report (Informe de tendencias del paciente)

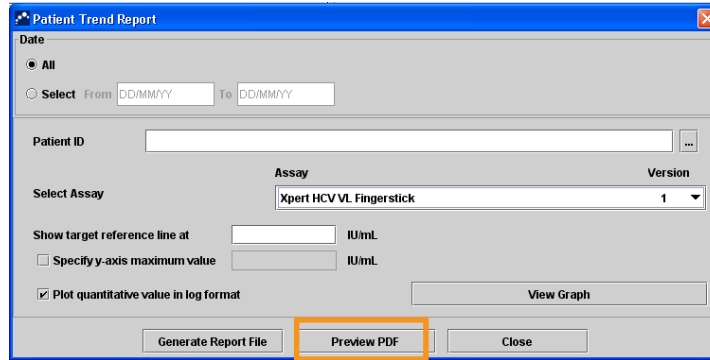
- Puede consultar los datos de un paciente específico durante un periodo de tiempo creando un informe de tendencias

1 Seleccione Reports (Informes) y Patient Trend Report (Informe de tendencias del paciente)



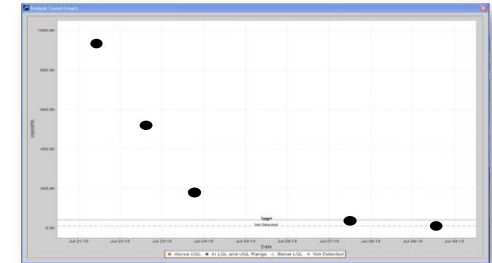
2 Elija

- Intervalo de tiempo
- Id. paciente (Patient ID)
- Ensayo (Assay)
- Preferencias de la diana



4 Vea una vista previa del informe

5 Vea el informe



Resolución de problemas



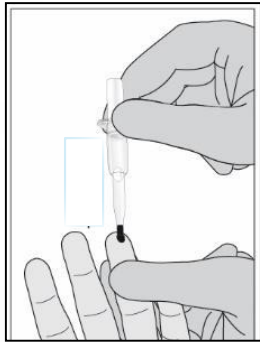
Factores que afectan negativamente a los resultados

- Recogida inadecuada de muestras
 - No se ha determinado el rendimiento logrado con otros dispositivos de recogida y con otros tipos de muestra.
- Transporte o conservación inadecuados de la muestra recogida
 - Consulte las instrucciones del prospecto para la manipulación adecuada
- Procedimiento inadecuado de realización de la prueba
 - La modificación de los procedimientos de análisis, los errores técnicos y la mezcla de muestras pueden afectar a los resultados de la prueba.
 - Para evitar resultados erróneos es necesario seguir estrictamente las instrucciones del prospecto.
- Sustancia interferente
 - Si hay presente alguna sustancia interferente, pueden observarse resultados negativos falsos o no válidos.

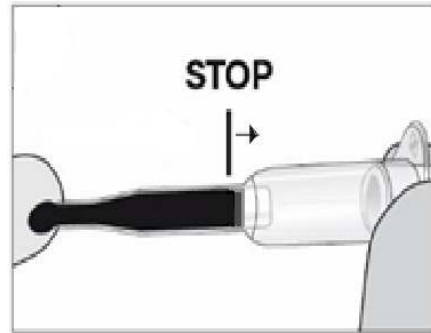
Recogida incorrecta de muestras



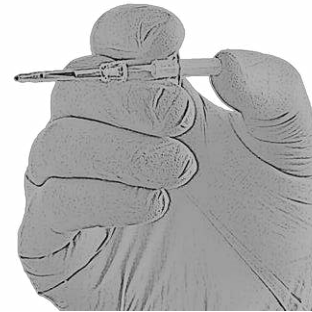
No disponga la Minivette en posición vertical



No aspire en el filtro



No bloquee el pistón durante la recogida



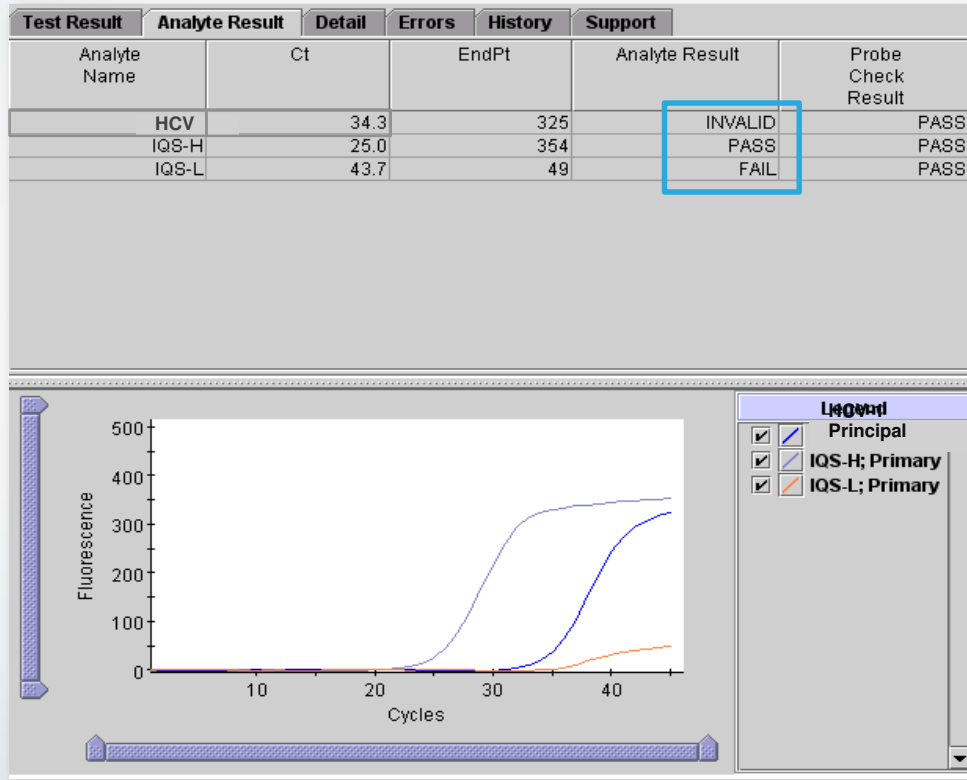
No conserve la Minivette > 15 min.



No toque el dedo
(toque solamente la gota de sangre)

Resultado NO VÁLIDO (INVALID)

INVALID



No puede determinarse la presencia o ausencia de la diana de HCV

- IQS-H y/o IQS-L: NO SUPERADO (FAIL)

Los umbrales de ciclo (Ct) de los controles cuantitativos internos no están dentro del intervalo válido.

- Comprobación de la sonda (Probe Check): SUPERADO (PASS)

- Causa

- Recogida inadecuada de la muestra (p. ej., utilizando un tubo con heparina)
- Preparación incorrecta de la muestra
- Conservación inadecuada de los cartuchos
- Procesamiento ineficaz de la muestra en el cartucho
- Si falta cebador, sonda o microesferas de enzimas
- Presencia de inhibidores en la muestra

- Solución

- Repita la prueba con un cartucho y una muestra nuevos.

SIN RESULTADO (NO RESULT)

NO RESULT

The screenshot displays the software interface for the Xpert HCV VL Fingerstick assay. At the top, there is a navigation bar with tabs for 'Test Result', 'Analyte Result', 'Detail', 'Melt Peaks', 'Errors', 'History', 'Messages', and 'Support'. Below this, the 'Assay Name' is 'Xpert HCV VL Fingerstick'. The 'Test Result' field is highlighted with a blue box and contains the text 'NO RESULT'. Below the test result, there is a section labeled 'For In Vitro Diagnostic Use Only.' and at the bottom, the text '<No Data Available>' is displayed.

- No puede determinarse la presencia o ausencia de HCV.
- SIN RESULTADO (NO RESULT) indica que no se han recogido suficientes datos.
- IQS-H o IQS-L: SIN RESULTADO (NO RESULT)
- Comprobación de la sonda (Probe Check): NA (no aplicable)
- **Causa**
 - La prueba se detuvo con el botón «Detener la prueba» (Stop test).
 - Fallo eléctrico
- **Solución**
 - Asegure la alimentación
 - Repita la prueba con un cartucho nuevo

Procedimiento de repetición de la prueba

1



Deseche el cartucho usado

Siga las directrices de seguridad del centro para la eliminación de los cartuchos

2



Obtenga la muestra residual. Mezcle según el prospecto

Si el volumen de muestra restante es insuficiente o si la repetición de la prueba sigue indicando NO VÁLIDO (INVALID), ERROR o SIN RESULTADO (NO RESULT), obtenga una muestra nueva

3



Obtenga un nuevo cartucho

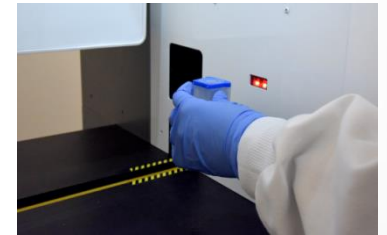
Etiquete adecuadamente como nueva prueba en el nuevo cartucho

Procese la muestra conforme al prospecto.

4



Ejecute la prueba en el sistema GeneXpert.



Asistencia técnica

- Antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de Cepheid, reúna la información siguiente:
 - Nombre del producto
 - Número de lote
 - Número de serie del sistema
 - Mensajes de error (si los hubiera)
 - Versión de software y, si corresponde, «Service Tag» (número de servicio técnico) del ordenador.
- Presente su queja en línea utilizando el siguiente enlace <http://www.cepheid.com/us/support> : *Crear un Support Case (Caso de servicio técnico)*

Región	Teléfono	Correo electrónico del servicio técnico
EE. UU.	+ 1 888 838 3222	techsupport@cepheid.com
Australia y Nueva Zelanda	+ 1800 130 821 (AU) + 0800 001 028 (NZ)	techsupportANZ@cepheid.com
Brasil y Latinoamérica	+ 55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
China	+ 86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
Francia	+ 33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Alemania	+ 49 69 710 480 480	support@cepheideurope.com
India, Bangladesh, Bután, Nepal y Sri Lanka	+ 91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Italia	+ 39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Sudáfrica	+ 27 861 22 76 35	support@cepheideurope.com
Reino Unido	+ 44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Bélgica y Países Bajos	+33 563 825 3319	support@cepheideurope.com
Otros países europeos, de Oriente Próximo y africanos	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cepheideurope.com



Muchas gracias.

www.Cepheid.com

