

# Formazione sul saggio: Xpert<sup>®</sup> EV

*Esclusivamente per l'utilizzo secondo la Direttiva Europea sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (CE-IVD) e secondo le norme statunitensi che regolano l'uso dei dispositivi medico-diagnostici in vitro (US-IVD)*



# Programma di formazione

- **Formazione Xpert EV**
  - Reagenti
  - Prelievo del campione
  - Conservazione e manipolazione dei kit
  - Preparazione della cartuccia
  - Controllo qualità
  - Analisi dei risultati
- **Discussione**



# Obiettivi della formazione Xpert EV

Al termine della formazione, gli operatori saranno in grado di:

- conservare e maneggiare il kit della cartuccia Xpert EV
- seguire le corrette precauzioni di sicurezza del laboratorio
- identificare i campioni di analisi del tipo giusto e trasportarli
- preparare una cartuccia ed eseguire il saggio
- refertare e comprendere i vari risultati generati dal software
- capire la strategia di controllo del saggio.

# Xpert® EV



# La soluzione Cepheid



- Identificazione dell'RNA dell'enterovirus (EV) in campioni di liquido cerebrospinale (LCS)
- Controlli interni a bordo per ciascun campione
  - Controllo per la verifica della sonda (PCC)
  - Controllo per il trattamento dei campioni (SPC)
- Sistema a cartuccia chiusa per ridurre al minimo il rischio di contaminazione
- Risultati on-demand
- Accesso casuale

# Uso previsto

Il saggio Cepheid Xpert EV è un test di reazione a catena della polimerasi dopo retrotrascrizione (RT-PCR) che utilizza il sistema GeneXpert® Dx per il rilevamento qualitativo **presuntivo dell'RNA dell'enterovirus (EV) nei campioni di liquido cerebrospinale (LCS) prelevati da individui con segni e sintomi di meningite**. Quando unito ad altri risultati di laboratorio e informazioni cliniche, il test può essere utilizzato come ausilio nella diagnosi di laboratorio dell'infezione da enterovirus in pazienti con sospetto clinico di meningite o meningoencefalite. Le caratteristiche prestazionali del saggio non sono state stabilite per i pazienti immunocompromessi o immunosoppressi.

**ATTENZIONE:** i risultati ottenuti con il saggio Xpert EV dovranno essere utilizzati esclusivamente in aggiunta alle osservazioni cliniche e alle altre informazioni a disposizione del medico. I risultati Xpert EV positivi non escludono altre cause di meningite, inclusi batteri, micobatteri, altri virus (per es. i virus della famiglia dell'herpes, gli arbovirus, il virus parotitico, ecc.) e funghi.

# Requisiti dei sistemi e dei reagenti

## Sistemi GeneXpert

- Software GeneXpert versione 2.1 o successiva

## Kit per il test (US-IVD e CE-IVD)

- GXEV-100N-10

## Materiali necessari ma non forniti

- Pipetta da 200  $\mu$ l
- Puntali sterili per pipetta con filtro barriera da 200  $\mu$ l
- Attrezzatura di protezione personale (PPE)
- Candeggina in diluizione 1:10
- Etanolo al 70% o etanolo denaturato al 70%

## Facoltativo

- Gruppo di continuità/dispositivo di protezione da sovracorrente
- Stampante



# Buona prassi di laboratorio

## Attrezzatura di protezione personale (PPE)

- Indossare camice da laboratorio e guanti puliti
- Cambiare i guanti tra un campione e l'altro durante il trattamento

## Area del banco di laboratorio

- Pulire regolarmente le superfici di lavoro con:
  - ✓ Candeggina per uso domestico con diluizione 1:10
  - ✓ Soluzione di etanolo al 70%
- Dopo la pulizia, assicurarsi che le superfici di lavoro siano asciutte

## Conservazione dei campioni di analisi, dei campioni e dei kit

- Conservare i campioni di analisi e i campioni lontano dal kit in modo da prevenirne la contaminazione

## Apparecchiature

- Usare puntali con filtro, quando necessario
- Seguire i requisiti del produttore in merito alla calibrazione e alla manutenzione delle apparecchiature



# Manipolazione del kit



# Contenuto del kit Xpert EV

## Xpert EV

Numero di catalogo	GXEV-100N-10
Cartucce per kit	10
Flaconcini di reagente	Reagente legante
	Reagente di lavaggio
	Reagente di eluizione
	Reagente di lisi
CD del kit	File di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)
	Istruzioni per l'importazione del saggio
	Foglietto illustrativo (PDF)
Stoccaggio	2-28 °C



# Conservazione e manipolazione del kit Xpert EV

- Conservare le cartucce e i reagenti Xpert EV a una temperatura compresa tra 2 °C e 28 °C.
- Attenersi alle procedure di sicurezza del proprio istituto per l'utilizzo e la manipolazione di sostanze chimiche e campioni biologici.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo per aggiungere il campione, chiudere il coperchio e procedere con l'analisi.

# Avvertenze e precauzioni

- Non agitare la cartuccia
- Non usare una cartuccia se...
  - appare bagnata, ha perdite o se il coperchio sembra essere rotto
  - appare danneggiata
  - è caduta dopo essere stata estratta dalla confezione
  - è caduta o è stata agitata dopo l'aggiunta del campione
  - ha una provetta di reazione danneggiata
  - è già stata usata; ciascuna cartuccia è monouso e serve per l'esecuzione di un singolo test
  - è scaduta
- Non riutilizzare le pipette



# Smaltimento dei rifiuti

- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi e richiedono l'adozione di precauzioni standard.
- Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali della propria struttura sanitaria per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento sarà necessario attenersi a specifiche procedure nazionali o regionali.
- Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione mondiale della sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.



# Conservazione e trasporto dei campioni



# Manipolazione del campione di analisi

Campione di analisi	Stoccaggio
Liquido cerebrospinale (LCS) in contenitore sterile	Tra 2 °C e 8 °C fino a 72 ore dopo il prelievo del campione di analisi
	Il campione di analisi può anche essere congelato a -20 °C o a -80 °C se il test non viene eseguito entro 72 ore  *Non congelare e scongelare i campioni di analisi più di due volte



Non si consiglia di sottoporre a centrifugazione il campione di analisi.



# Protocollo di analisi Xpert EV

## Preparazione della cartuccia Xpert EV

Per istruzioni dettagliate, avvertenze e precauzioni fare riferimento al foglietto illustrativo.

Per una copia della MSDS, consultare il sito: [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) oppure [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)

### Assistenza Tecnica di Cepheid

Ufficio USA  
+1 (888) 838-3222, opzione 2  
[techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

Ufficio Europa  
+33 563 82 53 19  
[support@cepheid.eu](mailto:support@cepheid.eu)



1 Per ogni campione procurarsi una cartuccia, tre fiale e un flaconcino.

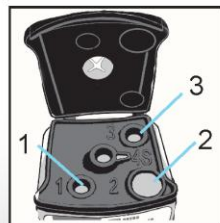


© 2012 Cepheid

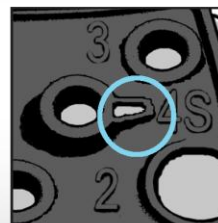
2 Aprire il coperchio della cartuccia.



3 Aprire le tre fiale e aggiungere il contenuto della fiala 1 nell'apertura 1, il contenuto della fiala 2 nell'apertura 2 e il contenuto della fiala 3 nell'apertura 3.



4 Pipettare nella camera 4S 140 µl di reagente di lisi e poi 140 µl di campione.



5 Chiudere il coperchio della cartuccia.



6 Iniziare il test entro l'intervallo di tempo specificato nel foglietto illustrativo.

301-00701 Rev. A, gennaio 2012

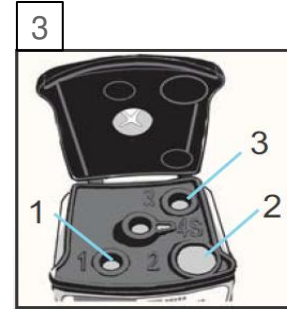
# Preparazione della cartuccia EV



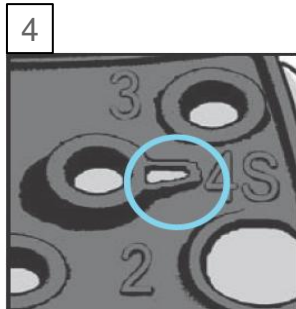
Per ogni campione procurarsi una cartuccia, tre fiale e un flaconcino.



Aprire il coperchio della cartuccia.



Aprire le tre fiale e aggiungere il contenuto della fiala 1 nell'apertura 1, il contenuto della fiala 2 nell'apertura 2 e il contenuto della fiala 3 nell'apertura 3.



Pipettare nella camera 4S 140 µl di reagente di lisi e poi 140 µl di campione.



Chiudere il coperchio della cartuccia.

6

Dare inizio al test entro l'arco di tempo specificato nel foglietto illustrativo.

# Esecuzione di un test

## 1 Creare il test

GeneXpert



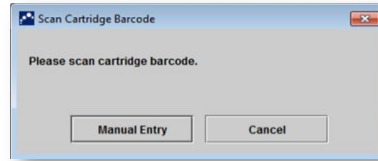
Iniziare il test entro **30 minuti** dall'aggiunta del campione alla cartuccia

GeneXpert  
Infinity



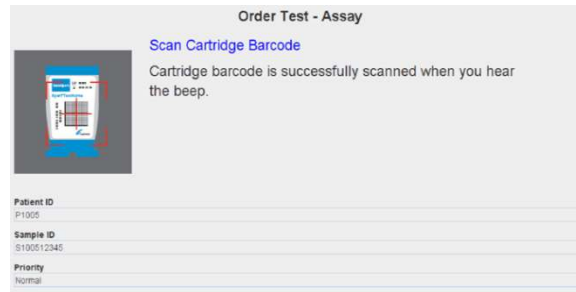
Porre la cartuccia sul dispositivo trasportatore entro **30 minuti** dall'aggiunta del campione.

## 2 Eseguire la scansione dei codici a barre: cartuccia, ID del paziente e/o del campione



*Per impostazione predefinita, non fare clic su **Immissione manuale (Manual Entry)** o **Annulla (Cancel)***

## 3 Eseguire la scansione della cartuccia



*Per i dettagli completi su come eseguire un test, consultare il foglietto illustrativo e i manuali dell'operatore GeneXpert Dx o Xpertise.*

# Per creare un test sul software GeneXpert Dx

4 Compilare i campi come richiesto

5 Il protocollo del saggio viene selezionato automaticamente

6 Il modulo viene selezionato automaticamente

7 Fare clic su Avvia analisi (Start Test)

8 Una spia verde lampeggerà sul modulo  
Caricare la cartuccia nel modulo e chiudere lo sportello

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: **Nome saggio Xpert** (highlighted)
- Select Module: A3 (highlighted)
- Reagent Lot ID\*: 16119
- Expiration Date\*: 2016/1/17
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Notes: [Empty]
- Buttons: **Start Test** (highlighted), Scan Cartridge Barco



# Per creare un test sul software Xpertise

4 Compilare i campi come richiesto

**Order Test - Test Information**

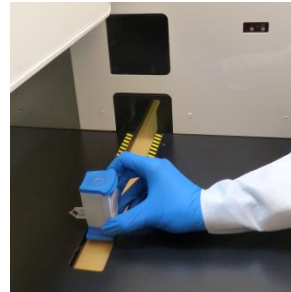
<b>Patient ID</b> patientid	
<b>Sample ID</b> sampleid	
<b>Last Name</b> patient	<b>First Name</b> id
<b>Assay*</b> Saggio Xpert	
<b>Reagent Lot ID*</b> 12102	<b>Cartridge S/N*</b> 282769448
<b>Expiration Date*</b> 2018/11/04	<b>Priority</b> Normal
<b>Test Type</b> Specimen	
<b>Sample Type</b> Other	<b>Other Sample Type</b>
<b>Notes</b>	



5 Il protocollo del nome del saggio viene selezionato automaticamente

6 Fare clic su INVIA (SUBMIT)

7 Posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore



# Protocollo automatizzato Xpert





# Controlli qualità

*Per maggiori dettagli,  
consultare il foglietto illustrativo*





# Strategia di controllo del saggio Cepheid

CONTROL

- Ciascuna cartuccia Xpert è un dispositivo di test autonomo.
- Cepheid ha ideato appositi metodi molecolari con controlli interni che permettono al sistema di rilevare specifiche modalità di errore in ciascuna cartuccia.
  - Controllo per la verifica della sonda (PCC)
  - Controllo per il trattamento dei campioni (SPC)

- **Controlli per la verifica della sonda (PCC)**
  - Prima della fase PCR, il segnale di fluorescenza viene misurato su tutte le sonde e confrontato con le impostazioni predefinite di fabbrica per monitorare
    - reidratazione delle microsfere
    - integrità della sonda
    - riempimento della provetta di reazione
    - stabilità del colorante
- **Controllo per il trattamento dei campioni (SPC) - visualizzato come CIC**
  - Verifica l'adeguato trattamento dei campioni
  - Verifica la lisi, la presenza dell'organismo e rileva l'inibizione PCR
  - Deve essere positivo in un campione negativo
  - Può essere positivo o negativo in un campione positivo

# Analisi dei risultati

*Per maggiori dettagli,  
consultare il foglietto illustrativo*



# Riepilogo dei risultati

Risultato visualizzato	EV	CIC
<b>POSITIVO (POSITIVE)</b>	+	+/-
<b>NEGATIVO (NEGATIVE)</b>	-	+
<b>NON VALIDO (INVALID)</b>	-	-
<b>ERRORE (ERROR)</b>	NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	NESSUN RISULTATO (NO RESULT)
<b>NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</b>	NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	NESSUN RISULTATO (NO RESULT)

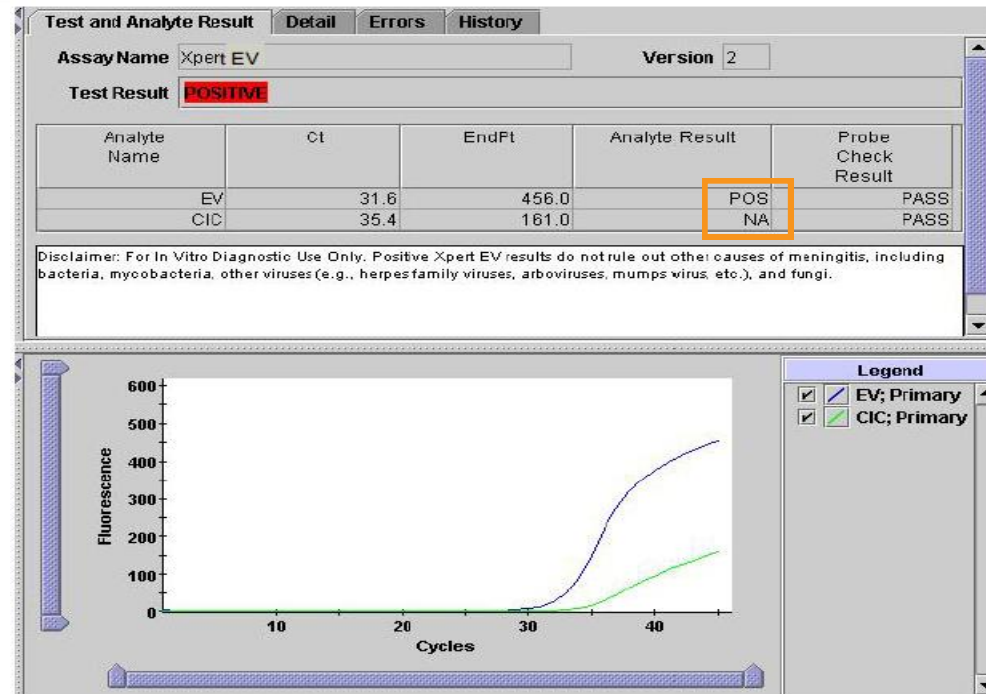
# Positivo per EV

Test Result **POSITIVE**

L'acido nucleico del bersaglio EV viene identificato.

- CIC (SPC/IC) – NA
- Verifica della sonda – AMMESSO (PASS): tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

I risultati Xpert EV positivi non escludono altre cause di meningite, inclusi batteri, micobatteri, altri virus e funghi.



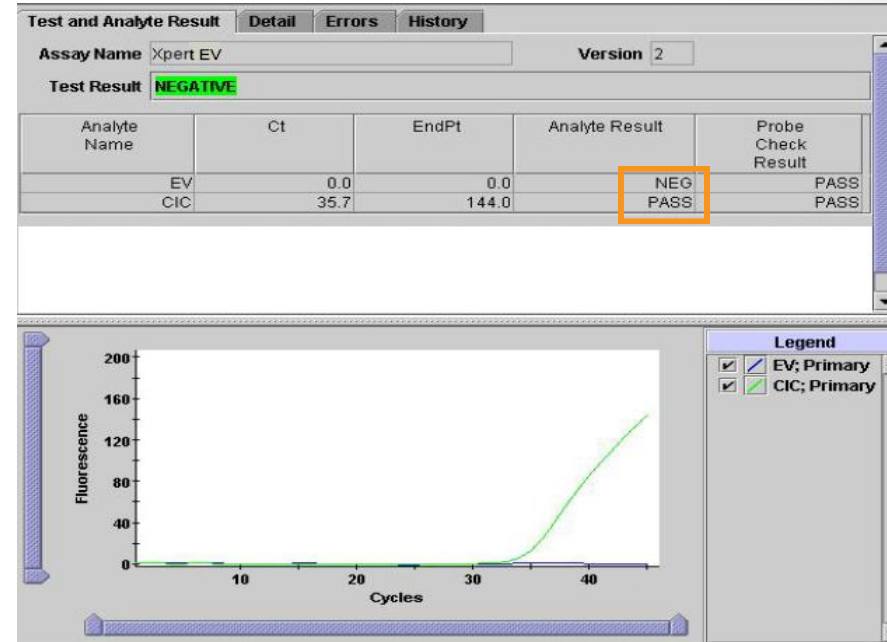
# Negativo per EV

Test Result **NEGATIVE**

L'acido nucleico del bersaglio *EV* non viene identificato. EV – NEG

- CIC (SPC/IC) – AMMESSO (PASS):  
l'SPC ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima.
- Verifica della sonda – AMMESSO (PASS):  
tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.

I risultati Xpert EV negativi non escludono che l'enterovirus sia la causa della meningite; indicano invece che l'enterovirus non è stato identificato nel campione di analisi.





# Risoluzione dei problemi





# Fattori che influiscono negativamente sui risultati

- Prelievo non corretto del campione di analisi
  - La carica virale contenuta nel campione di analisi è inferiore al limite di rilevamento del test
  - Non sono state valutate le prestazioni con altri tipi di campioni di analisi
- Trasporto o conservazione non corretti del campione di analisi prelevato
  - Le condizioni di conservazione e trasporto sono specifiche per i campioni di analisi
  - Per le istruzioni sulla corretta manipolazione, consultare il foglietto illustrativo
- Procedura di analisi non corretta
  - Apportando modifiche alle procedure di analisi si possono alterare le prestazioni del test
  - La stretta osservanza delle istruzioni del foglietto illustrativo è necessaria per evitare risultati erranei

# NON VALIDO (INVALID)

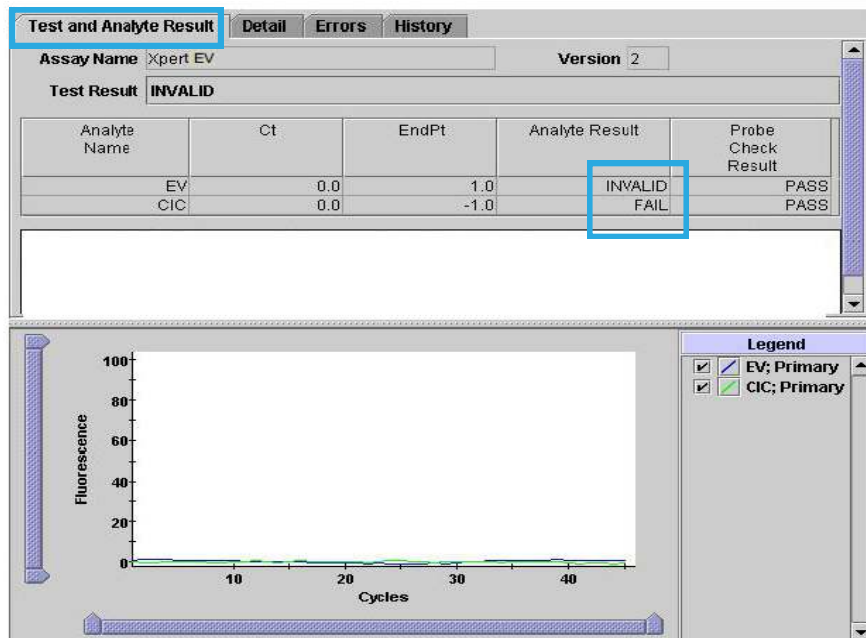
Test Result **INVALID**

Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di EV.

L'SPC/IC non soddisfa i criteri di accettazione, il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita.

- EV – NON VALIDO (INVALID)
- CIC (SPC/IC) – RESPINTO (FAIL)
- Verifica della sonda – AMMESSO (PASS)

Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella sezione sulla procedura di ripetizione del test nel foglietto illustrativo.



# ERRORE (ERROR)

Test Result **ERROR**

Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di EV.

- EV – NESSUN RISULTATO (NO RESULT)
- CIC (SPC/IC) – NESSUN RISULTATO (NO RESULT)
- Verifica della sonda – RESPINTO (FAIL)

Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella sezione sulla procedura di ripetizione del test nel foglietto illustrativo.

The screenshot displays the 'Test and Analyte Result' interface. At the top, there are tabs for 'Test and Analyte Result', 'Detail', 'Errors', and 'History'. Below this is a 'Troubleshoot' section with a table:

#	Description	Detail	Time
1	Post-run analysis error	Error 5007 - [EV] probe check failed. Probe check value of 84.19999694824219 for reading number 2 was below the minimum of 98.0	7/6/2007 15:34:50

Below the troubleshooting table, there is a 'Test and Analyte Result' section with tabs for 'Detail', 'Errors', and 'History'. It shows 'Assay Name' as 'xpert EV' and 'Version' as '2'. The 'Test Result' is 'ERROR'. Below this is a table with columns: 'Analyte Name', 'Ct', 'EndPt', 'Analyte Result', and 'Probe Check Result'.

Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
EV	0.0	0.0	NO RESULT	FAIL
CIC	0.0	0.0	NO RESULT	PASS

# Nessun risultato (No Result)

Test Result **NO RESULT**

Non è possibile determinare la presenza o l'assenza di EV.

- EV – NESSUN RISULTATO (NO RESULT)
- CIC (SPC/IC) – NESSUN RISULTATO (NO RESULT)
- Verifica della sonda – NA

## Cause probabili

NESSUN RISULTATO (NO RESULT) indica che i dati raccolti sono insufficienti.

- Il test è stato interrotto con il pulsante di arresto del test
- Guasto elettrico

## Soluzione

- Ristabilire l'alimentazione elettrica
- Ripetere il test con una nuova cartuccia



# Procedura di ripetizione del test EV

1

Gettare la cartuccia usata.

Seguire le linee guida di sicurezza del proprio istituto per lo smaltimento delle cartucce.

2



Procurarsi un campione fresco.

3



Procurarsi una nuova cartuccia.

Trattare il campione come indicato nel foglietto illustrativo.

4



Eeguire il test sul sistema.



# Sostanze interferenti

Risultati positivi per enterovirus sono stati ottenuti persino quando nel saggio era stato introdotto il livello più alto di sostanza potenzialmente interferente.

<b>Sostanza interferente</b>	<b>Concentrazione</b>	<b>EV C<sub>t</sub></b>
Nessuna (Controllo n = 8)	Non applicabile	36,1
Proteina (n = 4)	1071 mg/dl	38,2
WBC (n = 4)	7.140 cellule/mm <sup>3</sup>	37,2
Rachicentesi con sangue, campione di analisi 1	2,5% v/v sangue	35,9
Rachicentesi con sangue, campione di analisi 2	2,5% v/v sangue	35,0
Rachicentesi con sangue, campione di analisi 3	2,5% v/v sangue	35,3
Emoglobina (n = 4)	3,6 g/dl	36,9

# Assistenza Tecnica

- Prima di contattare l'Assistenza Tecnica di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:
  - Nome del prodotto
  - Numero di lotto
  - Numero di serie del sistema
  - Messaggi di errore (se presenti)
  - Versione del software e, se pertinente, codice riportato sull'etichetta di servizio (Service Tag) del computer
- Registra il reclamo online utilizzando il seguente link <http://www.cepheid.com/us/support> :  
*Creare una richiesta di assistenza (Create a Support Case)*

Regione	Telefono	E-mail assistenza tecnica
USA	+ 1 888 838 3222	<a href="mailto:techsupport@cepheid.com">techsupport@cepheid.com</a>
Australia e Nuova Zelanda	+ 1800 130 821	<a href="mailto:techsupportANZ@cepheid.com">techsupportANZ@cepheid.com</a>
Brasile e America Latina	+ 55 11 3524 8373	<a href="mailto:latamsupport@cepheid.com">latamsupport@cepheid.com</a>
Cina	+ 86 021 5406 5387	<a href="mailto:techsupportchina@cepheid.com">techsupportchina@cepheid.com</a>
Francia	+ 33 563 825 319	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
Germania	+ 49 69 710 480 480	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
India, Bangladesh, Bhutan, Nepal e Sri Lanka	+ 91 11 48353010	<a href="mailto:techsupportindia@cepheid.com">techsupportindia@cepheid.com</a>
Italia	+ 39 800 902 567	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
Giappone	+ 0120 95 4886	<a href="mailto:support@japan.cepheid.com">support@japan.cepheid.com</a>
Sud Africa	+ 27 861 22 76 35	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
Regno Unito	+ 44 3303 332 533	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
Belgio e Paesi Bassi	+ 33 563 825 3319	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
Altri Paesi in Europa, Medio Oriente e Africa	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>





Grazie.



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