

Formação sobre o ensaio: Xpert[®] vanA/vanB

Apenas para produto CE-IVD



Agenda da formação

- **Formação do Xpert® vanA/vanB**
 - Reagentes
 - Colheita de amostras
 - Conservação e manuseamento do kit
 - Preparação do cartucho
 - Controlos de qualidade
 - Análise dos resultados
- **Discussão**





Objetivos da formação

- **No final da formação, os utilizadores serão capazes de:**
 - Conservar e manusear corretamente o kit do cartucho Xpert[®] vanA/vanB e os kits de colheita de amostras
 - Cumprir as devidas precauções de segurança no laboratório
 - Colher e transportar as amostras apropriadas
 - Preparar um cartucho e executar o ensaio
 - Comunicar os vários resultados gerados pelo software
 - Compreender a estratégia de controlo do ensaio

A solução Cepheid



- Detecção de genes *vanA* e *vanB*
- Controlos internos incorporados
 - Controlo de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control)
 - Controlo de processamento da amostra (SPC — Sample Processing Control)
- O sistema de cartucho fechado minimiza o risco de contaminação
- Resultados a pedido
- Acesso aleatório

Utilização prevista

- O ensaio Cepheid Xpert® vanA/vanB realizado nos sistemas do instrumento GeneXpert® é um teste qualitativo de diagnóstico *in vitro* concebido para uma deteção rápida dos genes com resistência à vancomicina (*vanA/vanB*) de amostras de zaragatoas retais e perianais em doentes em risco de colonização intestinal por bactérias resistentes à vancomicina.
- O teste utiliza a reação em cadeia de polimerase (PCR) automática em tempo real para detetar os genes *vanA* e *vanB* que podem estar associados a enterococos resistentes à vancomicina (VRE — Vancomycin-Resistant Enterococcus).
- O ensaio Xpert® vanA/vanB destina-se a auxiliar na identificação, prevenção e controlo da colonização de microrganismos resistentes à vancomicina em unidades de saúde. O ensaio Xpert® *vanA/vanB* não se destina ao diagnóstico de VRE, nem à orientação ou à monitorização do tratamento de infeções por VRE.
- As culturas concomitantes são apenas necessárias para recuperar microrganismos para tipagem epidemiológica, testes de suscetibilidade antimicrobiana e para posterior identificação confirmatória de VRE.

Alvos e sondas

Alvo(s)

- *vanA*
- *vanB*

Sondas

- 1 sonda para resistência à vancomicina e teicoplanina *vanA* (mediada por plasmídeos)
- 1 sonda para resistência à vancomicina *vanB* (transposões)
- 1 sonda para controlo da preparação da amostra (SPC): esporos de *B. globigii*

Requisitos do Xpert® vanA/vanB

Kits de teste (CE-IVD)

- GXVANA/B-CE-10

Colheita de amostras

- Dispositivo de colheita de amostras Cepheid (referência Cepheid 900-0370)

Outros materiais

- Equipamento de proteção individual (EPI)
- Pipetas de transferência estéreis, descartáveis
- Agitador de vórtice
- Lixívia de uso doméstico diluída 1:10
- Etanol ou etanol desnaturado a 70%

Opcional

- Unidade de alimentação ininterrupta (UPS)/Protetor de sobretensão
- Impressora



Boas Práticas de Laboratório

Equipamento de proteção individual (EPI)

- Usar batas e luvas limpas e óculos de proteção
- Trocar de luvas entre processamentos de amostras

Área da bancada de laboratório

- Limpar as superfícies de trabalho a intervalos regulares com:
 - ✓ Lixívia de uso doméstico diluída 1:10*
 - ✓ Solução de etanol a 70%

**A concentração de cloro ativo final deve ser de 0,5%, independentemente da concentração da lixívia doméstica usada no seu país*

- Depois de limpar, certificar-se de que as superfícies de trabalhos estão secas

Conservação de amostras e kits

- Conservar as amostras longe do kit para prevenir a contaminação

Equipamento

- Utilizar pontas de pipeta com filtro, quando recomendado
- Seguir os requisitos do fabricante relativamente à calibração e manutenção do(s) equipamento(s)

Manuseamento do kit



Conteúdo do kit Xpert® vanA/vanB

Número de catálogo	GXVAN/B-CE-10
Cartuchos por kit	10
Frascos de reagentes	10
CD do kit	Ficheiro de definição do ensaio (ADF — Assay Definition File)
	Instruções de importação do Assay Name
	Folheto informativo (PDF)
Conservação	2 °C a 28 °C

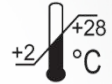


Os cartuchos contêm substâncias químicas perigosas - consultar o folheto informativo e a ficha de dados de segurança para obter informação mais detalhada.



Conservação e manuseamento do kit Xpert® vanA/vanB

- Conserve os cartuchos e reagentes do Xpert® vanA/vanB entre 2 °C e 28 °C
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas
- Não utilize dispositivos de colheita que não tenham sido validados pela Cepheid
- Abra a tampa do cartucho Xpert® vanA/vanB apenas para adicionar a amostra, feche a tampa e prossiga com o processamento





Advertências e precauções

- Não agite o cartucho
- Não utilize um cartucho que...:
 - pareça húmido, com fugas ou em que o selo da tampa pareça estar partido
 - pareça danificado
 - tenha caído depois de o ter retirado da embalagem
 - tenha caído ou sido agitado depois de lhe ter adicionado a amostra
 - tenha um tubo de reação danificado
 - tenha sido utilizado; cada cartucho é de utilização única para processamento de um teste
 - tenha ultrapassado o prazo de validade
- Não reutilize pipetas descartáveis usadas

Elimine os cartuchos e reagentes do Xpert® vanA/vanB de acordo com as orientações da instituição e do país relativas à eliminação de materiais com risco biológico

Eliminação de resíduos

- Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão.
- Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da vossa instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos.
- Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde).

Limitações

- Um resultado de teste positivo não indica necessariamente a presença de microorganismos viáveis. Presume-se, no entanto, a presença de VRE.
- Os resultados do Xpert® *vanA/vanB* positivos para *vanB* na ausência de *vanA* podem dever-se a outros microorganismos que não VRE. Recomenda-se a confirmação por cultura nestes microrganismos.
- Tal como descrito na literatura, é possível encontrar algumas bactérias aeróbias e anaeróbias contendo o gene *vanB*, podendo estas ser detetadas através deste ensaio. No entanto, desconhece-se a relevância clínica destes resultados. Foi sugerido que as bactérias anaeróbias positivas para o gene *vanB* constituem um reservatório de determinantes de resistência à vancomicina, mas esta hipótese ainda não foi comprovada.
- Os testes com o ensaio Xpert® *vanA/vanB* devem ser utilizados como auxiliares de outros métodos disponíveis. Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do primer ou da sonda podem afetar a deteção de variantes novas ou desconhecidas de VRE e podem originar um resultado falso negativo.

Colheita e conservação de amostras



Colheita de amostras

Colheita de amostra retal/perianal

1

Utilize o dispositivo de colheita de amostras da Cepheid n.º 900-0370 para colher a amostra.



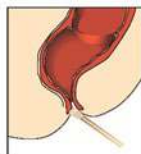
2

Amostra de zaragatoas retal
Insira cuidadosamente as duas zaragatoas aproximadamente 3,5 cm para além do esfíncter anal (de modo a que as pontas de fibra deixem de estar visíveis) e rode suavemente 3 vezes para garantir uma amostra uniforme em ambas as zaragatoas.



OU

Amostra de zaragatoas perianal
Aplaste as nádegas para expor a região perianal. Esfregue em torno da superfície perianal, garantindo que esfrega a maior superfície possível.



3

Coloque as zaragatoas de novo no tubo.




4

A amostra pode ser conservada entre 2 °C e 8 °C durante 5 dias.



Conservação de amostras

Tipo de amostra	Conservação
Para zangatoas retais/perianais	 durante 5 dias



MARCA DE ENTALHE

Dispositivo de colheita de amostras Cepheid (referência 900-0370)

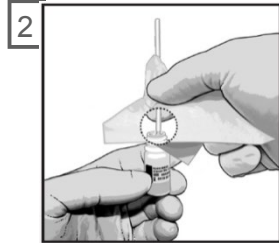
Preparação do cartucho



Preparação do cartucho



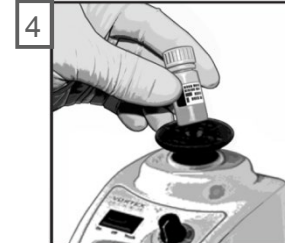
1 Adquirir um cartucho Xpert® e um frasco de reagente de amostra para cada amostra.



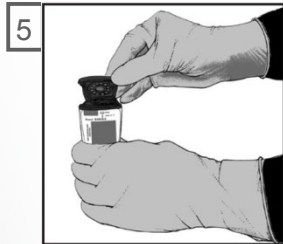
2 Insira a zaragatoa no frasco de reagente de amostra.



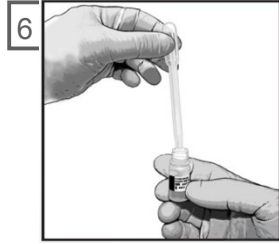
3 Parta a zaragatoa pelo entalhe junto à abertura do frasco.
Nota: Não segure na zaragatoa por baixo do entalhe. Utilize gaze ou equivalente para minimizar o risco de contaminação.



4 Coloque novamente a tampa no frasco de reagente de amostra e misture durante 10 segundos.



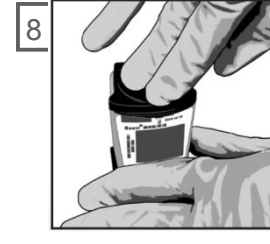
5 Abra a tampa do cartucho.



6 aspire a totalidade do frasco de reagente de amostra com uma pipeta de transferência descartável.



7 Esvazie a pipeta para a câmara de amostras.



8 Fechar a tampa com firmeza. Inicie o teste dentro do prazo indicado no folheto informativo.

Executar um teste

1 Criar teste

GeneXpert



Inicie o teste dentro de **30** minutos após a adição da amostra ao cartucho

GeneXpert
Infinity



Coloque o cartucho na correia transportadora dentro de **30** minutos após a adição da amostra.

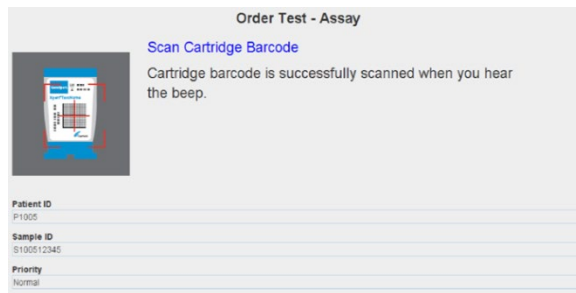
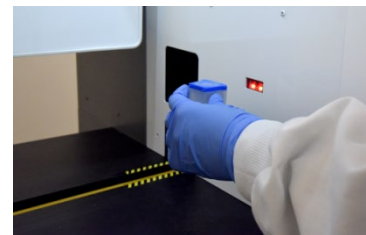
2 Ler mensagens do código de barras:

ID do cartucho/paciente e/ou amostra



*Por predefinição, não clique em **Entrada manual (Manual Entry)** nem em **Cancelar (Cancel)***

3 Ler o cartucho



Para detalhes completos sobre como executar um teste, consultar o folheto informativo e os manuais do utilizador do GeneXpert® Dx ou do Xpertise™.

Criar um teste no software GeneXpert® Dx

4 Preencha os campos, conforme necessário

5 O protocolo do ensaio é selecionado automaticamente

6 O módulo é selecionado automaticamente

7 Clique em Iniciar teste (Start Test)

8 Uma luz verde vai piscar no módulo
Coloque o cartucho no módulo e feche a porta

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: Xpert® Assay name
- Select Module: A3
- Reagent Lot ID*: 16119
- Expiration Date*: 2016/1/17
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Notes: [Empty]

At the bottom, the 'Start Test' button is highlighted with an orange box and a mouse cursor, and the 'Scan Cartridge Barcode' button is also visible.



Criar um teste no software Xpertise™

4 Preencha os campos, conforme necessário

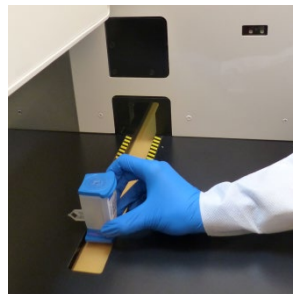
5 O protocolo do nome do ensaio é selecionado automaticamente

6 Clique em ENVIAR (SUBMIT)

7 Coloque o cartucho na correia transportadora

Order Test - Test Information

Patient ID patientid	
Sample ID sampleid	
Last Name patient	First Name id
Assay* Ensaio Xpert®	
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 Xpert® automatizado



Controlos de qualidade





Estratégia de controlo dos ensaios

CONTROL

- **Controlos de qualidade Xpert® vanA/vanB**
 - Cada cartucho Xpert® constitui um dispositivo de teste autónomo
 - A Cepheid concebeu métodos moleculares específicos de modo a incluir controlos internos que permitem ao sistema detetar modos de falha específicos em cada cartucho
 - Controlo de processamento da amostra (SPC — Sample Processing Control)
 - Controlos de verificação da sonda (PCC — Probe Check Controls)

Consulte o documento 301-4868 “Funcionalidades de controlo de qualidade GeneXpert®” para todos os ensaios Xpert® da Cepheid



Controlos de qualidade internos

- **Controlos de verificação da sonda (PCC — Probe Check Controls)**
 - Antes do passo de PCR, o sinal de fluorescência é medido em todas as sondas e comparado com as predefinições de fábrica para monitorizar
 - a reidratação das esferas
 - a integridade da sonda
 - o enchimento do tubo de reação
 - a estabilidade do corante
- **Controlos de processamento da amostra (SPC — Sample Processing Controls)**
 - Esporos não infecciosos em cada cartucho
 - Verificam o processamento adequado da amostra
 - Verificam a lise, a presença do microorganismo e detetam a inibição do PCR
 - Devem ser positivos numa amostra negativa
 - Podem ser negativos ou positivos numa amostra positiva

Interpretação dos resultados



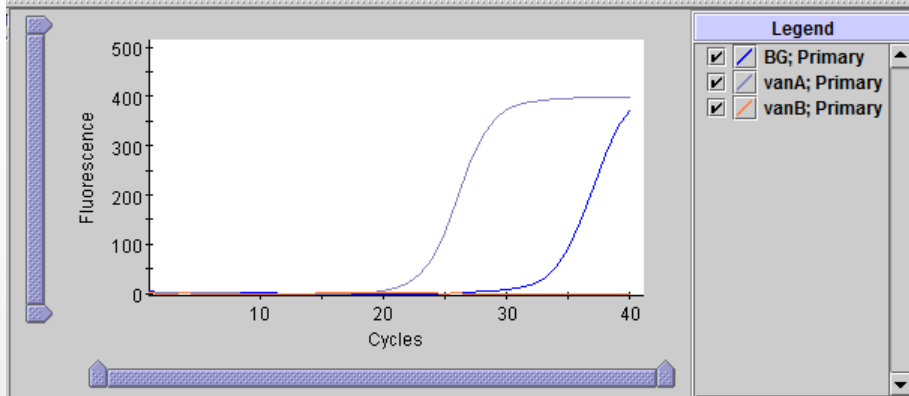
Xpert® vanA/vanB – Todos os resultados possíveis

Resultado apresentado	van A	van B	SPC
Van A Positivo (Van A Positive)	+	-	+/-
Van B Negativo (Van B Negative)			
Van A Negativo (Van A Negative)	-	+	+/-
Van B Positivo (Van B Positive)			
Van A Positivo (Van A Positive) Van B Positivo (Van B Positive)	+	+	+/-
Van A Negativo (Van A Negative) Van B Negativo (Van B Negative)	-	-	+
INVÁLIDO (INVALID)	-	-	-
ERRO (ERROR)	SEM RESULTADO (NO RESULT)	SEM RESULTADO (NO RESULT)	SEM RESULTADO (NO RESULT)
SEM RESULTADO (NO RESULT)	SEM RESULTADO (NO RESULT)	SEM RESULTADO (NO RESULT)	SEM RESULTADO (NO RESULT)

vanA Positivo; vanB Negativo (vanA Positive; vanB Negative)

vanA POSITIVE;
vanB NEGATIVE

Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
BG	33.0	372	NA	PASS
vanA	22.5	399	POS	PASS
vanB	0.0	-3	NEG	PASS



- ADN-alvo de *vanA* detetado.
- ADN-alvo de *vanB* não detetado.

- *vanA* POSITIVO; *vanB* NEGATIVO
(*vanA* POSITIVE; *vanB* NEGATIVE)

O alvo do *vanA* tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior ao mínimo definido.

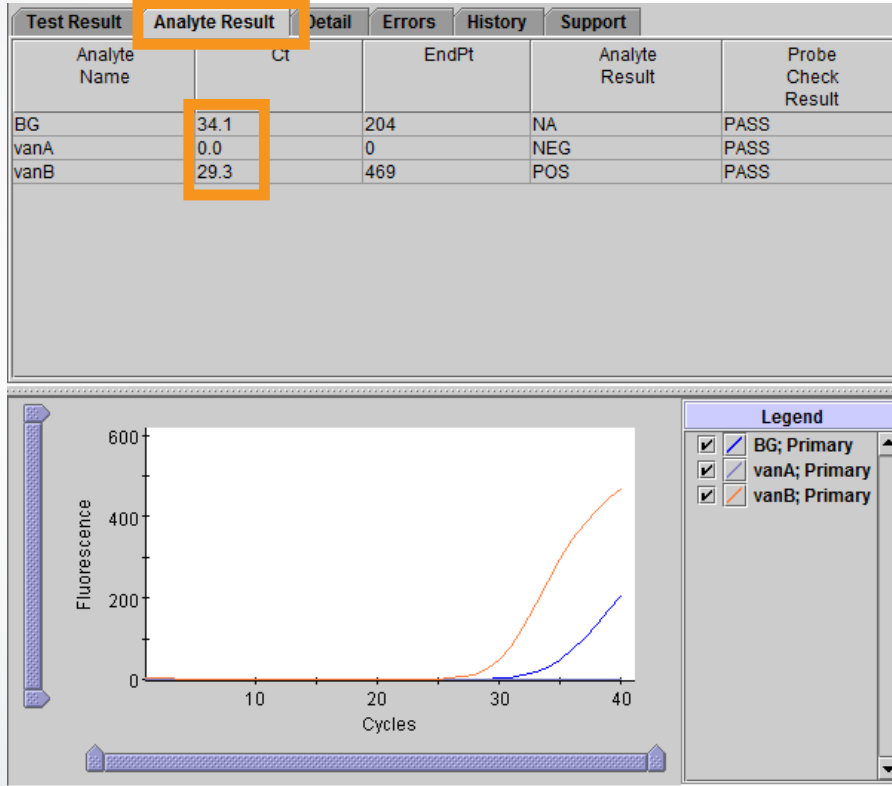
- SPC: NA (não aplicável)

O SPC é ignorado porque a amplificação do alvo de *vanA* e/ou *vanB* poderá competir com este controle.

- Verificação da sonda: APROVADO (PASS)
Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

vanA Negativo; vanB Positivo (vanA Negative; vanB Positive)

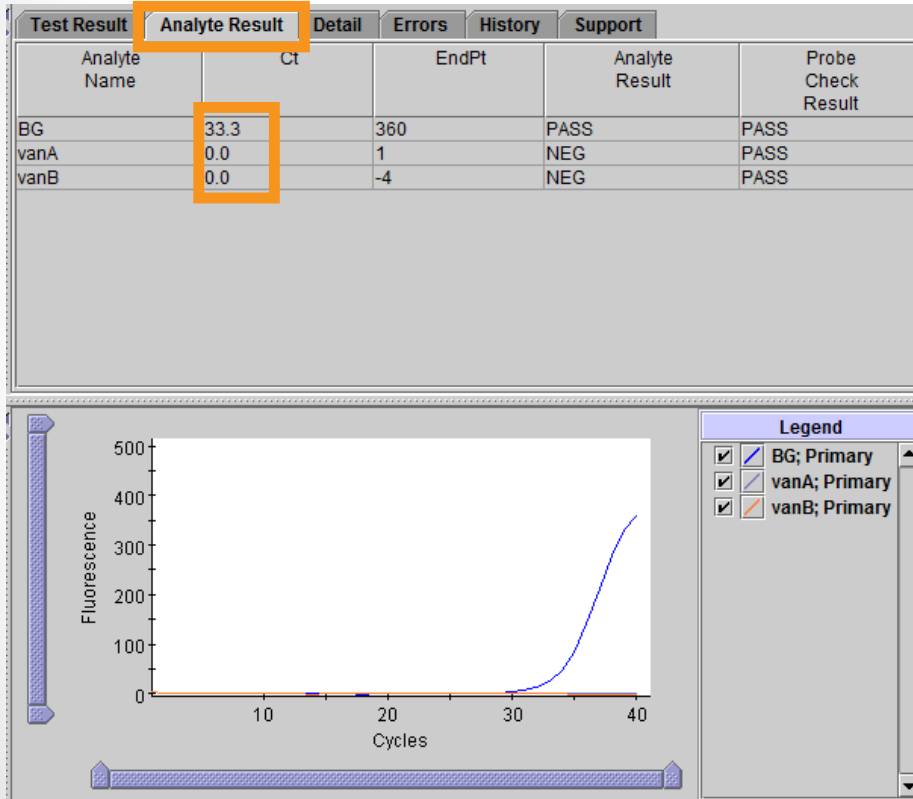
vanA NEGATIVE;
vanB POSITIVE



- ADN-alvo de *vanA* não detetado.
- ADN-alvo de *vanB* detetado.
- *vanA* NEGATIVO; *vanB* POSITIVO
(*vanA* NEGATIVE; *vanB* POSITIVE)
O alvo da *vanB* tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior ao mínimo definido.
- SPC: APROVADO (PASS)
O SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima.
- Verificação da sonda: APROVADO (PASS)
Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

vanA Negativo; vanB Negativo (vanA Negative; vanB Negative)

vanA NEGATIVE;
vanB NEGATIVE



- ADN-alvo de *vanA* e *vanB* não detetado.
- *vanA* NEGATIVO: *vanB* NEGATIVO
(*vanA* NEGATIVE: *vanB* NEGATIVE)
- SPC: APROVADO (PASS)
O SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima.
- Verificação da sonda: APROVADO (PASS)
Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Resolução de problemas



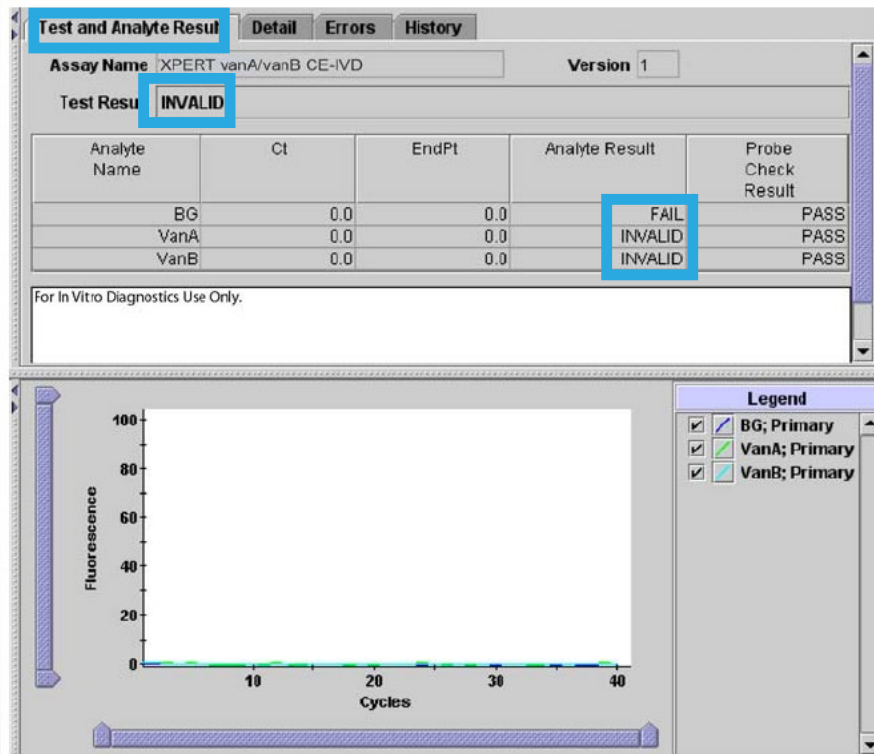


Fatores que afetam negativamente os resultados

- Colheita incorreta da amostra
 - A carga bacteriana na amostra é inferior ao limite de deteção do teste
- Transporte ou conservação incorretos da amostra colhida
 - As condições de transporte e conservação são específicas para cada amostra
 - Consultar o folheto informativo para obter as instruções de manuseamento correto
- Procedimento de análise incorreto
 - A modificação dos procedimentos de análise pode alterar o desempenho do teste
 - Para se evitarem resultados erróneos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções do folheto informativo

Resultado INVÁLIDO (INVALID)

INVALID



Não foi possível determinar a presença ou ausência do alvo de *vanA/vanB*

- SPC: FALHOU (FAIL) O SPC não preenche os critérios de aceitação.
- Verificação da sonda: APROVADO (PASS)

Causas possíveis

- Colheita incorreta da amostra
- Preparação incorreta da amostra
- Conservação incorreta dos cartuchos
- Presença de substâncias interferente na amostra

Solução

- Repetir o teste com um cartucho novo.
- Consultar o folheto informativo para obter mais pormenores.

Substâncias que interferem

- Creme de hidrocortisona (hidrocortisona a 1%) e Pepto-Bismol® (subsalicilato de bismuto a 1% – 5%), têm o potencial de interferir com *vanB*.
- Quando testados no estudo de interferência, o creme de hidrocortisona e Pepto-Bismol® resultaram em valores de Ct ligeiramente superiores ao controlo tampão.

Resultado ERRO (ERROR)

ERROR

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

- Não foi possível determinar a presença ou ausência de *vanA/vanB*
 - *vanA*: SEM RESULTADO (NO RESULT)
 - *vanB*: SEM RESULTADO (NO RESULT)

Causas possíveis

Se a verificação da sonda: FALHOU (FAIL)

- Colheita incorreta da amostra
- Volume de amostra incorreto adicionado ao cartucho

Se a verificação da sonda: APROVADO (PASS)

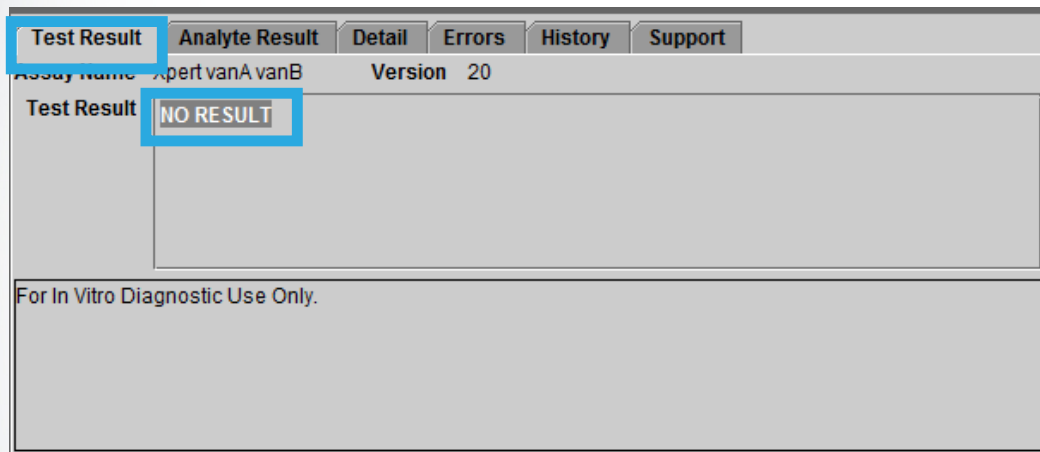
- Verificar o módulo do sistema GeneXpert®

Solução

- Repetir o teste com um cartucho novo

SEM RESULTADO (NO RESULT)

NO RESULT



- Não foi possível determinar a presença ou ausência de *vanA/vanB*.
 - *VanA*: SEM RESULTADO (NO RESULT)
 - *VanB*: SEM RESULTADO (NO RESULT)
- Verificação da sonda: NA (não aplicável)

Causas possíveis

SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que os dados colhidos foram insuficientes.

- O teste foi interrompido com o botão Parar teste (Stop test)
- Falha elétrica

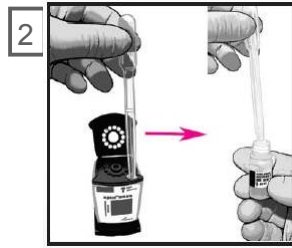
Solução

- Assegurar a alimentação
- Repetir o teste com um cartucho novo

Procedimento de repetição do teste



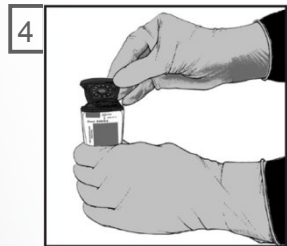
1
Guarde o cartucho usado.
Adquira um novo cartucho Xpert e um novo frasco de reagente de amostra.



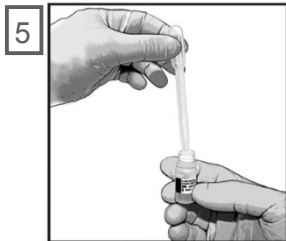
2
Transfira todo o restante conteúdo da câmara de amostra do cartucho usado para um novo frasco de reagente de amostra.



3
Coloque novamente a tampa no frasco de reagente de amostra e misture durante 10 segundos.



4
Abra a tampa do cartucho.



5
Aspire a totalidade do frasco de reagente de amostra com uma pipeta de transferência descartável.



6
Esvazie a pipeta para a câmara de amostras.



7
Fechar a tampa com firmeza. Inicie o teste dentro do prazo indicado no folheto informativo.



Assistência Técnica

- Antes de contactar a Assistência Técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:
 - Nome do produto
 - Número de lote
 - Número de série do sistema
 - Mensagens de erro (se houver alguma)
 - Versão do software e, caso se aplique, número da etiqueta de serviço (Service Tag) do computador
- Registe a sua reclamação online através da hiperligação seguinte <http://www.cepheid.com/us/support> - ***Criar um caso de assistência (Create a Support Case)***



Obrigado.

www.Cepheid.com

GeneXpert.

Xpert®

123456789012345
12345678



Cepheid.

 Cepheid.