

Formação sobre o ensaio: Xpert[®] EV

Apenas para utilização CE-IVD e US-IVD



Agenda da formação

- Formação sobre o Xpert EV
 - Reagentes
 - Colheita de amostras
 - Conservação e manuseamento do kit
 - Preparação do cartucho
 - Controlo de qualidade
 - Análise dos resultados
- Discussão



Objetivos da formação sobre o Xpert EV

No final da formação, os utilizadores serão capazes de:

- Conservar e manusear o kit do cartucho Xpert EV.
- Cumprir as devidas precauções de segurança no laboratório.
- Identificar os tipos de amostras adequados e transportar amostras.
- Preparar um cartucho e executar o ensaio.
- Produzir relatórios e compreender os vários resultados gerados pelo software.
- Compreender a estratégia de controlo do ensaio.

Xpert[®] EV



A solução Cepheid



- Detecção de ARN de enterovírus (EV) em amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR)
- Controlos internos integrados para cada amostra
 - 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 EV é um teste de transcriptase reversa-reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), que utiliza o sistema GeneXpert® Dx para a **deteção qualitativa presuntiva de ARN de enterovírus (EV) em amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) de indivíduos com sinais e sintomas de meningite**. Este teste, em conjunto com outros resultados laboratoriais e informações clínicas, pode ser utilizado como auxiliar no diagnóstico laboratorial de infecção por enterovírus em pacientes com suspeita clínica de meningite ou meningoencefalite. As características do desempenho do ensaio não foram determinadas para pacientes imunocomprometido ou com imunossupressão.

CUIDADO: os resultados obtidos com o ensaio Xpert EV só devem ser utilizados como auxiliares das observações clínicas e de outras informações disponibilizadas ao médico. Resultados positivos no Xpert EV não excluem outras causas de meningite, incluindo bactérias, micobactérias, outros vírus (p. ex., vírus da família herpes, arbovírus, vírus da papeira, etc.) e fungos.

Requisitos do sistema e de reagentes

Sistemas GeneXpert

- Software GeneXpert v2.1 ou posterior

Kits de teste (US-IVD e CE-IVD)

- GXEV-100N-10

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Pipeta de 200 µl
- Pontas de pipeta de 200 µl com filtro-barreira estéreis
- Equipamento de proteção individual (EPI)
- Lixívia diluída a 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 limpas e luvas
- 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%
- 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(s)

- Utilizar pontas 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 EV

Xpert EV

Número de catálogo	GXEV-100N-10
Cartuchos por kit	10
Frascos de reagentes	Reagente de fixação
	Reagente de lavagem
	Reagente de eluição
	Reagente de lise
CD do kit	Ficheiro de definição do ensaio (ADF — Assay Definition File)
	Instruções de importação do ensaio
	Folheto informativo (PDF)
Conservação	2 °C a 28 °C



Conservação e manuseamento do kit Xpert EV

- Conserve os cartuchos e reagentes do Xpert EV entre 2 °C e 28 °C
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas
- Abra a tampa do cartucho apenas quando adicionar a amostra, feche a tampa e prossiga com o processamento

Advertências e precauções

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



Eliminação de resíduos

- As amostras biológicas, os dispositivos de transferência e os cartuchos usados devem ser considerados como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos e exigem precauções padrão.
- Sigam 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).

Conservação e transporte das amostras



Manuseamento da amostra

Amostra	Conservação
Líquido cefalorraquidiano (LCR) em recipiente estéril	2 °C a 8 °C durante até 72 horas após a colheita da amostra
	A amostra também pode ser congelada a -20 °C ou -80 °C se o teste não for realizado no prazo de 72 horas *Não congelar e descongelar a amostra mais do que duas vezes



Não se recomenda a centrifugação da amostra.

Protocolo de teste do Xpert EV

Preparação do cartucho Xpert EV

Consulte o folheto informativo para obter instruções detalhadas, precauções e advertências.

Para obter uma cópia da MDS, visite www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com

Assistência Técnica da Cepheid
Filial nos EUA
(888) 838-3222, opção 2
techsupport@cepheid.com

Filial na Europa
+33 563 82 53 19
support@cepheid.com



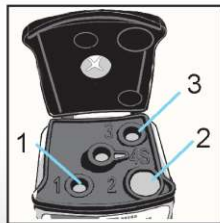
1 Adquira um cartucho, três ampolas e um frasco para cada amostra.



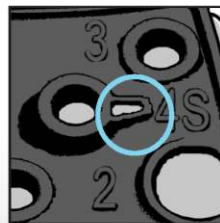
2 Abra a tampa do cartucho.



3 Abra e, de seguida, adicione a ampola 1 na abertura 1, a ampola 2 na 2 e a ampola 3 na 3.



4 Pipete 140 µl do reagente de lise para a câmara 4S e, de seguida, pipete 140 µl da amostra para a câmara 4S.



5 Feche a tampa do cartucho.



6 Inicie o teste dentro do período indicado no folheto informativo.

© 2012 Cepheid

301-0070P Rev. A Janeiro de 2012

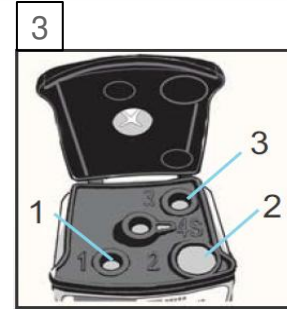
Preparação do cartucho EV



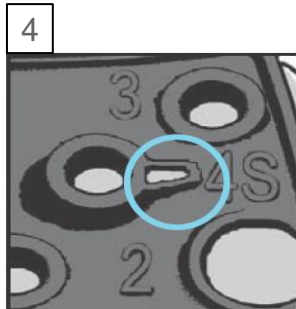
Obtenha um cartucho, três ampolas e um frasco para cada amostra.



Abra a tampa do cartucho.



Abra e, de seguida, adicione a ampola 1 na abertura 1, a ampola 2 na 2 e a ampola 3 na 3.



Pipete 140 μ l do reagente de lise para a câmara 4S e, em seguida, pipete 140 μ l da amostra para a câmara 4S.



Feche a tampa do cartucho.

6

Inicie o teste dentro do prazo indicado no folheto informativo.

Executar um teste

1 Criar teste

GeneXpert



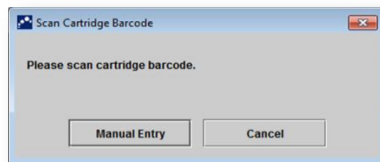
Inicie o teste dentro de **30 minutos** após a adição da amostra ao cartucho

GeneXpert
Infinity



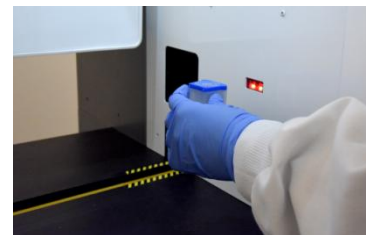
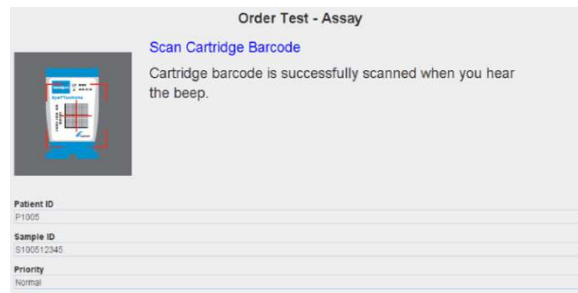
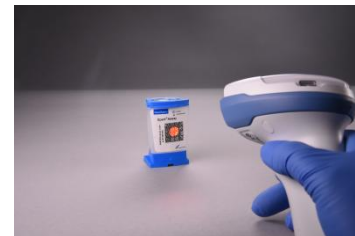
Coloque o cartucho na correia transportadora dentro de **30 minutos** após a adição da amostra.

2 Ler códigos de barras: cartucho/ID do paciente e/ou ID da 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, consulte 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: Nome do ensaio Xpert
- Select Module: A3
- Reagent Lot ID*: 16119
- Expiration Date*: 2016/1/17
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Notes: [Empty]

The 'Start Test' button is highlighted with an orange box and a mouse cursor. The 'Scan Cartridge Barco' button is also visible.



Criar um teste no software Xpertise

4 Preencha os campos, conforme necessário

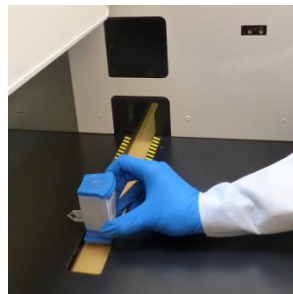
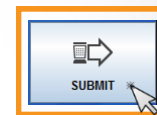
5 O protocolo do ensaio é selecionado automaticamente

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

*Consulte os detalhes completos
no folheto informativo*



Estratégia de controlo do ensaio Cepheid

CONTROL

- Cada cartucho Expert 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 verificação da sonda (PCC — Probe Check Control)
 - Controlo de processamento da amostra (SPC — Sample Processing Control)

- **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
- **Controlo de processamento da amostra (SPC — Sample Processing Control)** apresentado como CIC
 - Verificam o processamento adequado da amostra
 - Verificam a lise, a presença do organismo e detetam a inibição do PCR
 - Deve ser positivo numa amostra negativa
 - Pode ser negativo ou positivo numa amostra positiva

Análise dos resultados

*Consulte os detalhes completos
no folheto informativo*



Sumário dos resultados

Resultado apresentado	EV	CIC
POSITIVO (POSITIVE)	+	+/-
NEGATIVO (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)

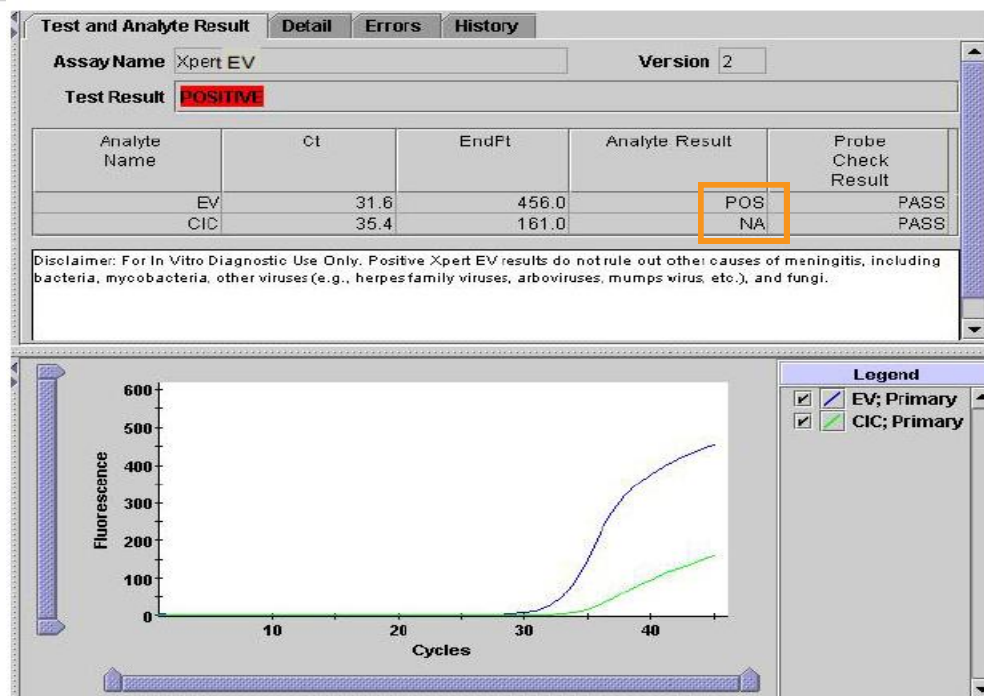
EV Positivo (EV Positive)

Test Result **POSITIVE**

É detetado o ácido nucleico-alvo do EV.

- CIC (SPC/IC) — NA
- Verificação da sonda — APROVADO (Probe Check — PASS)
todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Resultados positivos no Xpert EV não excluem outras causas de meningite, incluindo bactérias, micobactérias, outros vírus e fungos.



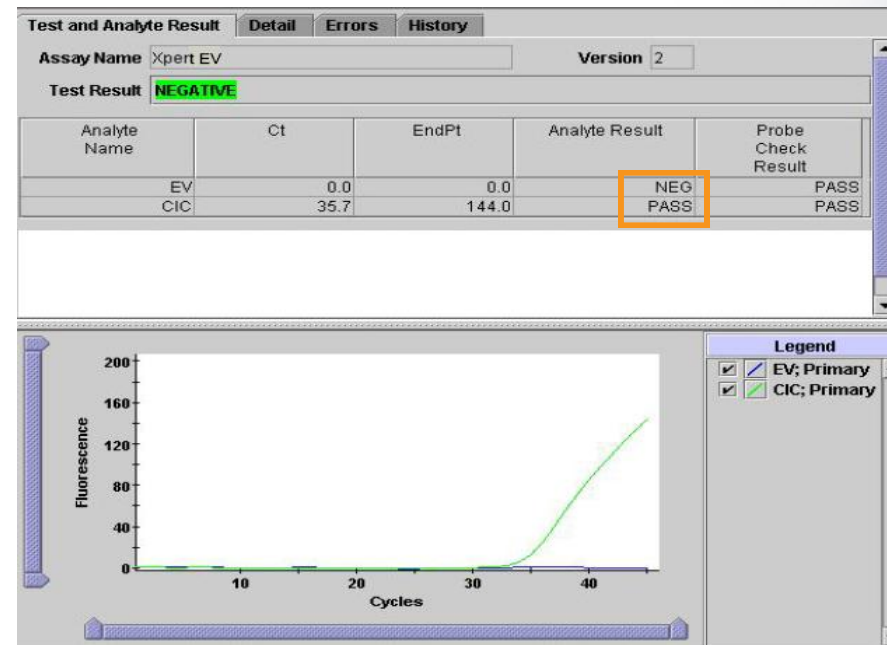
EV Negativo (EV Negative)

Test Result **NEGATIVE**

O ácido nucleico-alvo do EV não é detetado.
EV — NEG

- CIC (SPC/IC) — APROVADO (CIC (SPC/IC) — PASS);
o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um ponto final superior ao mínimo definido.
- Verificação da sonda — APROVADO (Probe Check — PASS);
todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Resultados negativos no Xpert EV não excluem enterovírus como causa de meningite, mas indicam que não foi detetado enterovírus na amostra.



Resolução de problemas



Fatores que afetam negativamente os resultados

- Colheita incorreta da amostra
 - A carga viral na amostra é inferior ao limite de detecção do teste
 - Não foi avaliado o desempenho com outros tipos de amostra
- 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

INVÁLIDO (INVALID)

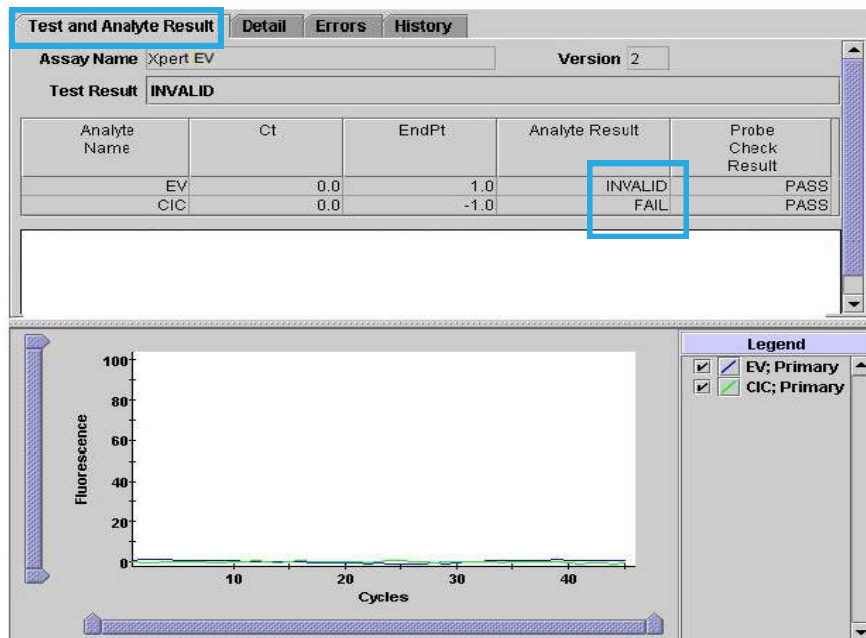
Test Result **INVALID**

Não é possível determinar a presença ou ausência do EV.

O SPC/IC não cumpre os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.

- EV — INVÁLIDO (EV — INVALID)
- CIC (SPC/IC) — FALHOU (CIC (SPC/IC) — FAIL)
- Verificação da sonda — APROVADO (Probe Check — PASS)

Repita o teste de acordo com as instruções do folheto informativo para a repetição do procedimento de teste.



ERRO (ERROR)

Test Result **ERROR**

Não é possível determinar a presença ou ausência do EV.

- EV — SEM RESULTADO (EV — NO RESULT)
- CIC (SPC/IC) — SEM RESULTADO [CIC (SPC/IC) — NO RESULT]
- Verificação da sonda — FALHOU (Probe Check — FAIL)

Repita o teste de acordo com as instruções do folheto informativo para a repetição do procedimento de teste.

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

#	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 section, there is another '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 highlighted as 'ERROR'. Below this is a table with columns for '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

Sem resultado (No Result)

Test Result **NO RESULT**

Não foi possível determinar a presença ou ausência de EV.

- EV — SEM RESULTADO
(EV — NO RESULT)
- CIC (SPC/IC) — SEM RESULTADO
(CIC (SPC/IC) — NO RESULT)
- Verificação da sonda — NA
(Probe Check — NA)

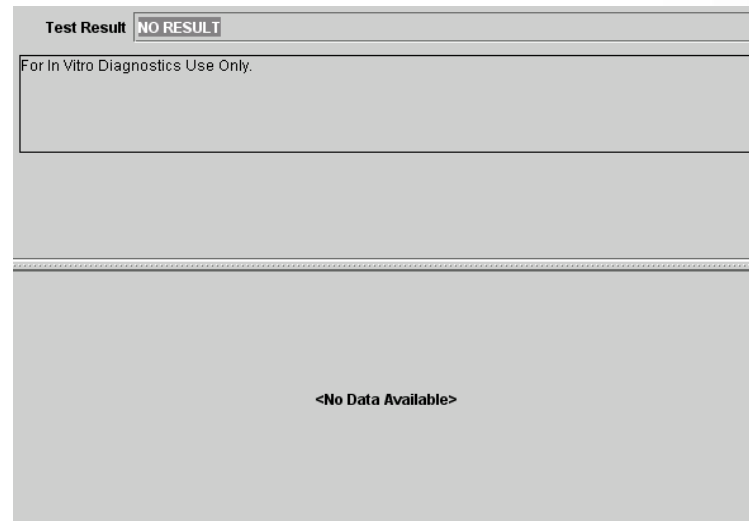
Causas possíveis

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

- Teste 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 de EV

1

Elimine o cartucho usado.

Siga as orientações de segurança da sua instituição para a eliminação dos cartuchos.

2



Obtenha uma amostra fresca.

3



Obtenha um cartucho novo.

Processe a amostra de acordo com o folheto informativo.

4



Execute o teste no sistema.



Substâncias que interferem

Foram obtidos resultados positivos para enterovírus mesmo quando o nível mais elevado de substância potencialmente interferente foi introduzido no ensaio.

Substância interferente	Concentração	C_t de EV
Nenhum (controlo n = 8)	Não aplicável	36,1
Proteína (n = 4)	1071 mg/dl	38,2
Leucócitos (n = 4)	7140 células/mm ³	37,2
Punção sanguinolenta, amostra 1	2,5% v/v de sangue	35,9
Punção sanguinolenta, amostra 2	2,5% v/v de sangue	35,0
Punção sanguinolenta, amostra 3	2,5% v/v de sangue	35,3
Hemoglobina (n = 4)	3,6 g/dl	36,9

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 de software e, caso se aplique, número de 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)

Região	Telefone	E-mail para assistência técnica
EUA	+ 1 888 838 3222	techsupport@cepheid.com
Austrália e Nova Zelândia	+ 1800 130 821	techsupportANZ@cepheid.com
Brasil e América Latina	+ 55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
China	+ 86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
França	+ 33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Alemanha	+ 49 69 710 480 480	support@cepheideurope.com
Índia, Bangladeche, Butão, Nepal e Sri Lanka	+ 91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Itália	+ 39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Japão	+ 0120 95 4886	support@japan.cepheid.com
África do Sul	+ 27 861 22 76 35	support@cepheideurope.com
Reino Unido	+ 44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Bélgica e Países Baixos	+33 563 825 3319	support@cepheideurope.com
Outros países da Europa, do Médio Oriente e de África	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cepheideurope.com



Obrigado.

www.Cepheid.com

