

Formación en el ensayo: Formación en el Xpert[®] FII & FV

*Formación técnica para el producto
US-IVD y CE-IVD solamente*



Programa de formación

- Formación en el Xpert FII & FV
 - Utilidad clínica
 - Conservación y manipulación del kit
 - Recogida, transporte y conservación de las muestras
 - Preparación del cartucho
 - Dianas del ensayo
 - Análisis de resultados
 - Control de calidad
 - Discusión y preguntas y respuestas



Objetivos del curso

Al final del curso de formación, el usuario será capaz de:

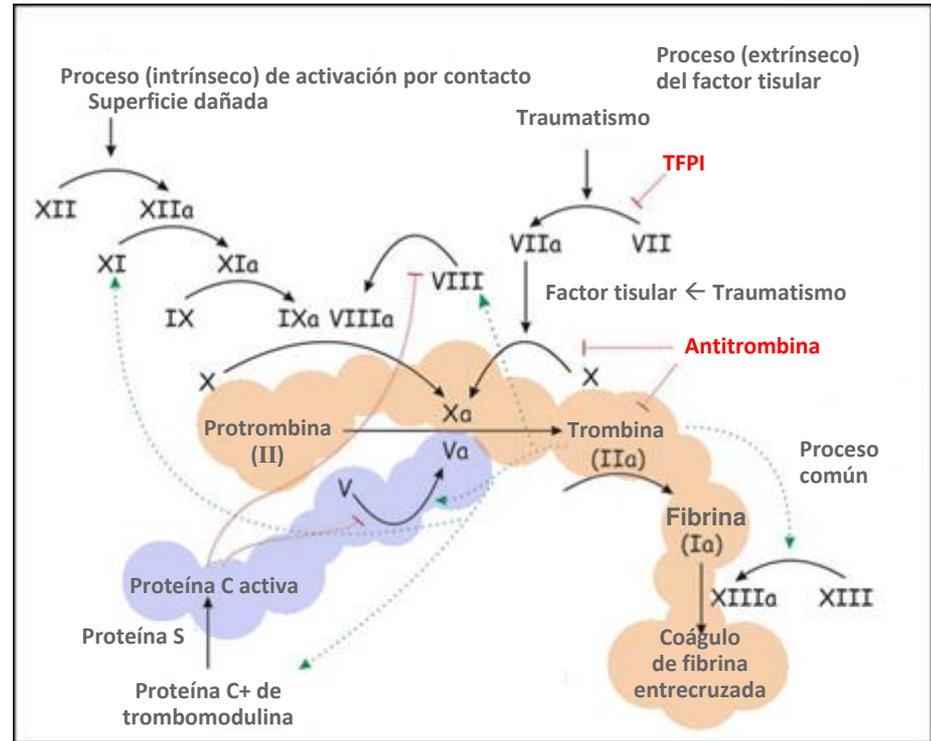
- Conservar y manipular los materiales del Xpert FII & FV.
- Tomar las precauciones de seguridad de laboratorio adecuadas.
- Recoger tipos de muestras apropiados y transportar las muestras.
- Llevar a cabo la preparación del cartucho y realizar el ensayo.
- Notificar los diversos resultados generados por el software.
- Desechar los materiales usados.

FII & FV Leiden



¿Cuáles son las mutaciones del factor II y del factor V Leiden?

- Las mutaciones del factor II (G20210A) y del factor V (G1691A) Leiden se asocian a un mayor riesgo de trombosis venosa.
- Estas mutaciones están presentes en el 2 % y el 5 % de la población general, respectivamente.
- Mutación del factor II o protrombina (G20210A)**
 - Transición de G a A en el nucleótido 20210 de la región no traducida 3' del gen.
 - Asociado a una mayor concentración plasmática de protrombina.
- Mutación del factor V Leiden (G1691A)**
 - Transición de G a A en la posición 1691 del nucleótido del gen del factor V.
 - Da lugar a la sustitución del aminoácido arginina por glutamina en la proteína del factor V.
 - Causa resistencia a la división por la proteína activada C (APC).



Genotipos

	Normal	Heterocigótico	Mutante (homocigótico)
Factor II	GG	GA	AA
Factor V	GG	GA	AA

La solución Cepheid



- Detección simultánea
 - Alelos normales y mutantes del factor II y del factor V
- Un control interno para cada muestra individual
 - Control de comprobación de la sonda (PCC)
- Resultados en aproximadamente 30 minutos
- Sencillo y de fácil manejo
 - Sistema de cartucho cerrado
- Resultados a demanda, 24 horas al día, 7 días a la semana
- Acceso aleatorio

Indicaciones

El ensayo Xpert® Factor II & Factor V es una prueba cualitativa de genotipificación diagnóstica *in vitro* para la detección de alelos del factor II y del factor V a partir de sangre completa anticoagulada con citrato sódico o EDTA.

La prueba se realiza en el software del sistema Cepheid GeneXpert® Dx versión 4.0 o posterior.

Esta prueba está concebida para proporcionar resultados sobre mutaciones del factor II (G20210A) y del factor V (G1691A) Leiden a fin de facilitar el diagnóstico de personas que se sospecha que sufren trombofilia.

Requisitos del sistema y de los reactivos

Sistemas GeneXpert

- Módulos de 6 colores
- Software GXDX o Xpertise versión 4.0 o superior

Kits de pruebas

- GXFIIFV-10

Recogida de muestras

- Sangre completa en un tubo de recogida con EDTA o citrato de sodio

Material requerido pero no suministrado

- Utilizando puntas de filtro resistentes a los aerosoles, pipetee 50 µL de sangre anticoagulada con citrato sódico o EDTA para dispensarla.
- Lejía
- Etanol desnaturalizado o etanol al 70 %

Componentes del kit Xpert FII & FV

Pruebas por kit	10
CD del kit	Archivos de definición del ensayo (Assay Definition Files, ADF)
	Instrucciones para la importación de ensayos
	Prospecto
Conservación	De 2 °C a 28 °C



El reactivo de lisis contiene tiocianato de guanidinio (H302, H316, H320, H402 y EUH031), que es nocivo en caso de ingestión, provoca irritación cutánea leve, provoca irritación ocular, es nocivo para los organismos acuáticos y, en contacto con ácido, libera gases tóxicos.

Transporte y conservación de las muestras del Xpert FII & FV

Muestra	Temperatura de transporte y conservación (°C)	Tiempo de conservación
Sangre completa en EDTA o Sangre completa en tubos con anticoagulante de citrato de sodio	2-8 °C	15 días
	22-28 °C (temperatura ambiente)	24 horas
	-20 °C o -80 °C	3 meses



- Deje que la sangre congelada se descongele por completo a temperatura ambiente.
- No se recomienda congelar y descongelar la sangre más de una vez.

Buenas prácticas de laboratorio

Preparación del laboratorio para la PCR

- Preparación del cartucho/reactivo → Adición de muestras → Detección

Conservación de muestras y reactivos

- Conserve las muestras separadas de los reactivos para evitar que estos se contaminen.

Equipo

- Utilice puntas de pipeta con filtro, cuando sea necesario.
- Siga las recomendaciones del fabricante para la calibración y el mantenimiento del equipo de laboratorio.
- Realice el mantenimiento periódico en el instrumento GeneXpert.

Buenas prácticas de laboratorio (continuación)

Limpieza

- Limpie las superficies de trabajo con una dilución de lejía doméstica* a una concentración de 1:10 y, a continuación, con una solución de etanol al 70 %. Seque las superficies de trabajo con un paño.

Personal

- Use guantes y bata de laboratorio limpios.
- Cámbiense los guantes cada vez que procese muestras diferentes.

Área de la mesa del laboratorio

- Limpie periódicamente el área de la mesa del laboratorio.
- Mantenga la parte posterior del instrumento sin polvo.

** La concentración de cloro activo final deberá ser del 0,5 %, independientemente de la concentración de la lejía de uso doméstico en su país.*

Conservación y manipulación del kit del Xpert FII & FV

- Conserve los kits de la prueba a 2-28 °C. No utilice cartuchos caducados.
- Cada cartucho de un solo uso se utiliza para procesar una sola prueba. No reutilice los cartuchos procesados.
- No abra el cartucho hasta que esté listo para utilizarlo.
 - Inicie la prueba antes de que transcurran 15 minutos después de añadir la muestra al cartucho.
- Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras.
 - Cámbiese los guantes si estos entran en contacto con muestras o si están mojados.
 - Cámbiese los guantes antes de abandonar la zona de trabajo y al entrar en la zona de trabajo.
- No utilice cartuchos que se hayan caído o agitado después de que la muestra se haya transferido al cartucho. Si el cartucho se agita o se deja caer después de haber abierto su tapa, es posible que se obtengan resultados no válidos.
- No utilice cartuchos con tubos de reacción dañados.
- No utilice cartuchos que presenten fugas.

Preparación del cartucho del Xpert FII & FV

Preparación del cartucho Xpert® Factor II & Factor V

Consulte el prospecto, donde encontrará instrucciones, precauciones y advertencias detalladas.

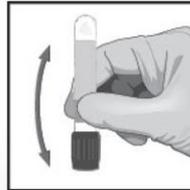
Para obtener un ejemplar de la ficha de datos de seguridad (SDS, Safety Data Sheet), visite www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com

Servicio técnico de Cepheid
Oficina de EE. UU.
(888) 838-3222, opción 2
techsupport@cepheid.com

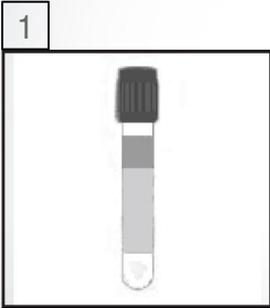
Oficina de Europa
+33 563 82 53 19
support@cepheideurope.com



- 1 Obtenga el tubo de recogida de muestras con EDTA o citrato de sodio.
- 2 Obtenga un cartucho Xpert Factor II & Factor V.
- 3 Mezcle suavemente la muestra hasta que esté homogénea, invirtiendo el tubo 5 veces.
- 4 Abra la tapa del cartucho Xpert.
- 5 Empleando una pipeta volumétrica con una punta resistente a los aerosoles, aspire 50 µl de la muestra.
- 6 Transfiera la muestra a la pared inferior de la cámara «S» del cartucho.
- 7 Cierre la tapa del cartucho Xpert.
- 8 Cargue el cartucho e inicie el ensayo.



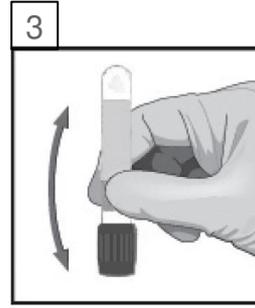
Preparación del cartucho del FII & FV



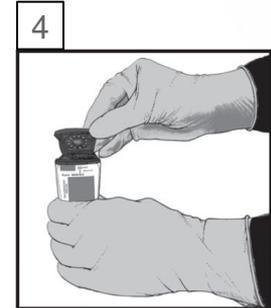
1
Obtenga el tubo de recogida de muestras con EDTA o citrato de sodio.



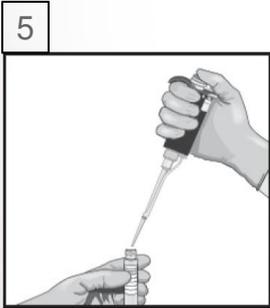
2
Obtenga un cartucho Xpert Factor II & Factor V.



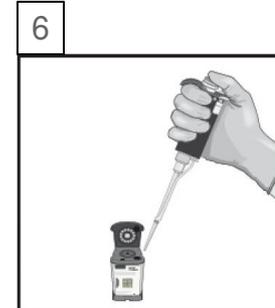
3
Mezcle suavemente la muestra hasta que esté homogénea, invirtiendo el tubo 5 veces.



4
Abra la tapa del cartucho Xpert.



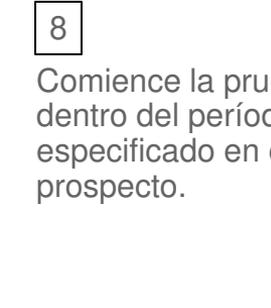
5
Empleando una pipeta volumétrica con una punta resistente a los aerosoles, aspire 50 µl de la muestra.



6
Transfiera la muestra a la pared inferior de la cámara «S» del cartucho.



7
Cierre la tapa del cartucho Xpert.



8
Comience la prueba dentro del período especificado en el prospecto.

Notificación combinatoria: ADF del Xpert FII & FV

- La función combinatoria del software GX v4.0 o superior permite al operador seleccionar una de tres opciones de notificación del ensayo:
 - «Xpert FII», «Xpert FV» o «Xpert FII & FV Combo».

	Name	Version
Select Assay	Xpert FV	1
Select Module	Xpert FV	1
Reagent Lot ID*	Xpert FII	1
	Xpert FII & FV Combo	1

Test Type: Specimen

Sample Type: Other

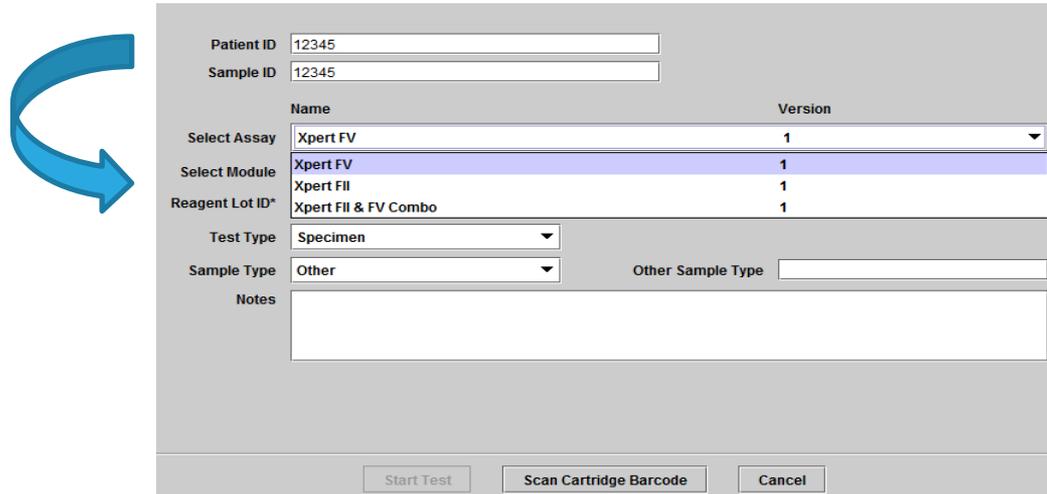
Other Sample Type:

Notes:

Start Test Scan Cartridge Barcode Cancel

Notificación combinatoria: ADF del Xpert FII & FV

- Elija la prueba que desee del menú desplegable «Seleccionar ensayo» (Select Assay).



Patient ID 12345
Sample ID 12345

Name	Version
Xpert FV	1
Xpert FV	1
Xpert FII	1
Xpert FII & FV Combo	1

Test Type Specimen
Sample Type Other Other Sample Type

Notes

Start Test Scan Cartridge Barcode Cancel

- Una vez que inicie la prueba, solo se obtendrá el resultado del ensayo seleccionado en este paso.
 - Ejemplo: Si el operador selecciona «Xpert FII», una vez que se inicie el ensayo, la opción no podrá cambiarse para recoger datos de FII y FV.

Pasos automatizados de la prueba Xpert FII & FV



Control de calidad

Véase el prospecto, donde encontrará información completa.



Estrategia de control del ensayo Cepheid

- Cada cartucho Xpert es un dispositivo analítico autónomo.
 - Cepheid ha diseñado métodos moleculares específicos para incluir controles internos que permiten al sistema detectar modos específicos de fallo dentro de cada cartucho.
 - Control del sistema del instrumento: Comprobación del estado
 - Control endógeno
 - Control de reactivos: Comprobación de la sonda

Control del sistema del instrumento: Comprobación del estado

- El control del sistema comprueba los componentes ópticos, la temperatura del módulo y la integridad mecánica de cada cartucho.
 - Si no se superan los controles del sistema, el resultado notificado de la prueba será de ERROR.

Control de comprobación de la sonda: PCC

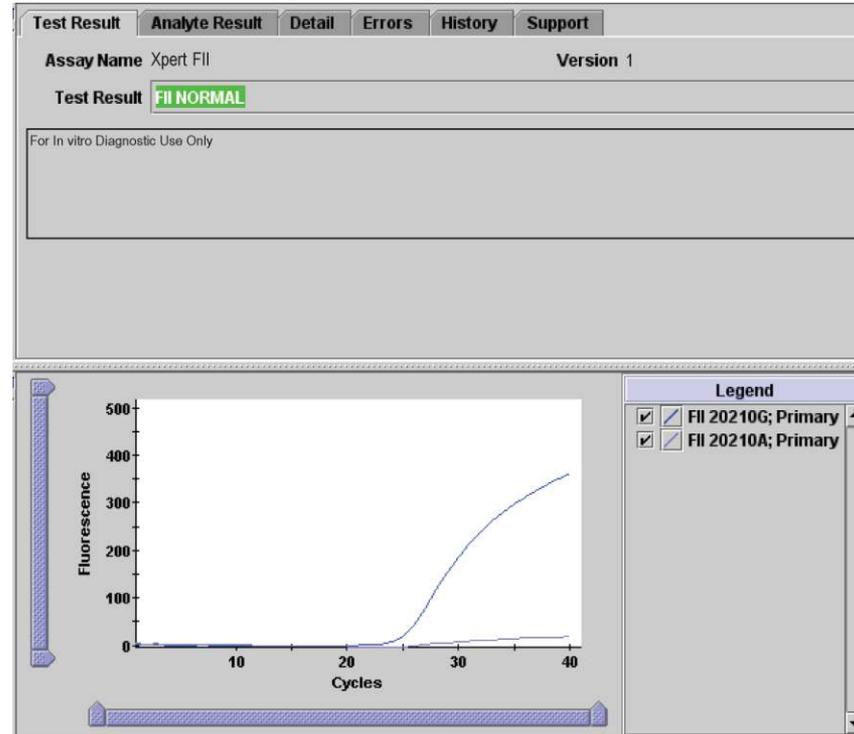
- Antes de iniciar la reacción de la PCR, se mide la señal de fluorescencia de la sonda para monitorizar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de la sonda y la estabilidad del colorante.
- Las lecturas se comparan con unos valores predeterminados establecidos por Cepheid.
- La comprobación de la sonda controla:
 - La ausencia del reactivo específico de la diana (Target Specific Reaction, TSR) o de microesferas de reactivo enzimático, que contienen todos los cebadores, las sondas y la plantilla de control interno
 - La reconstitución incompleta del reactivo
 - El llenado incompleto del tubo de reacción
 - La degradación de las sondas
- El PCC se considera superado si cumple los criterios de aceptación asignados.
- Si no se supera la comprobación de la sonda, el resultado notificado de la prueba será de ERROR.

Análisis de resultados

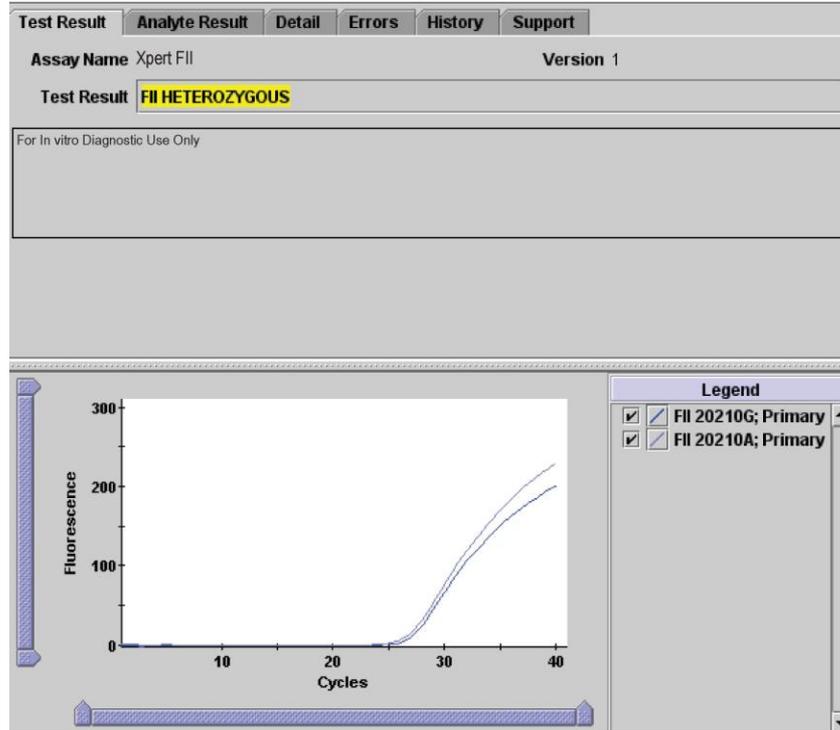
Véase el prospecto, donde encontrará información completa.



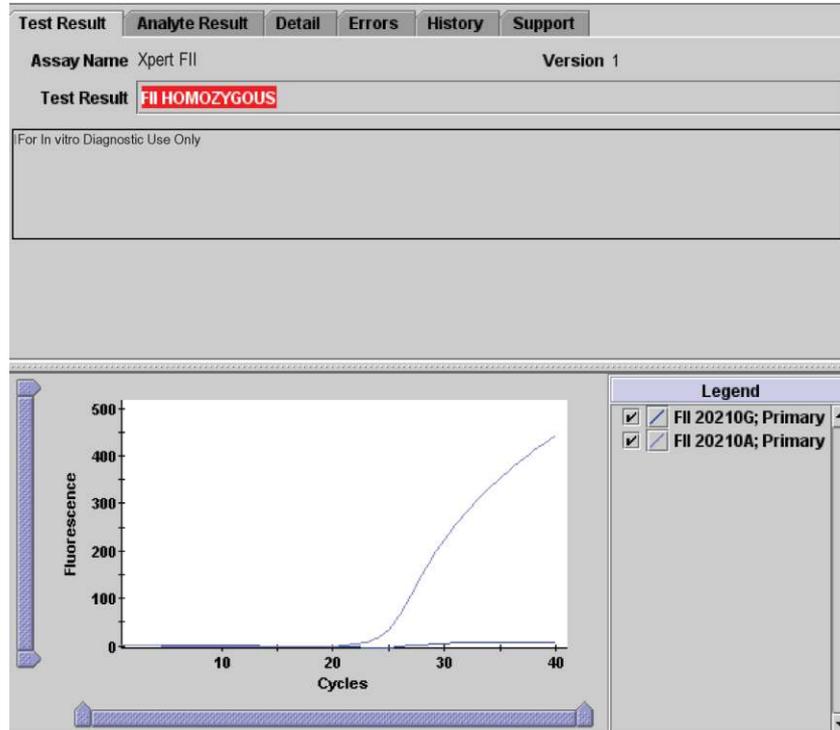
Resultado normal del Xpert FII



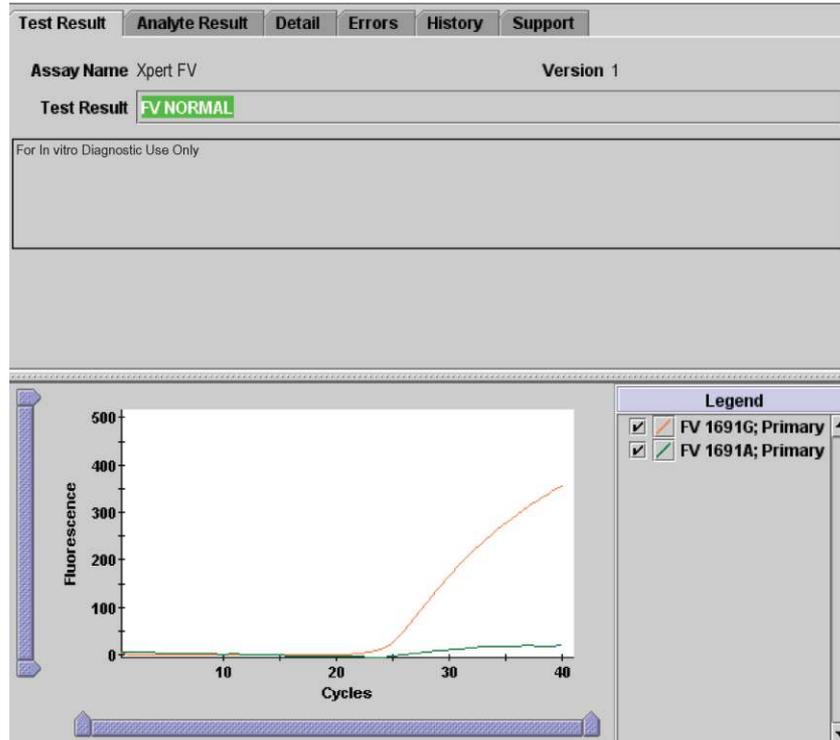
Resultado heterocigótico del Xpert FII



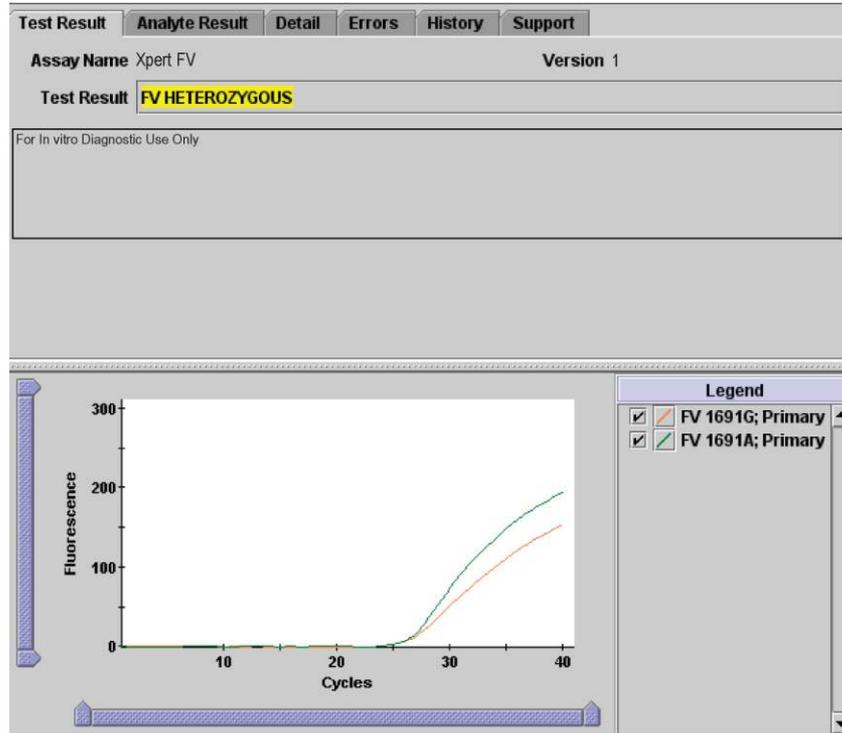
Resultado homocigótico del Xpert FII



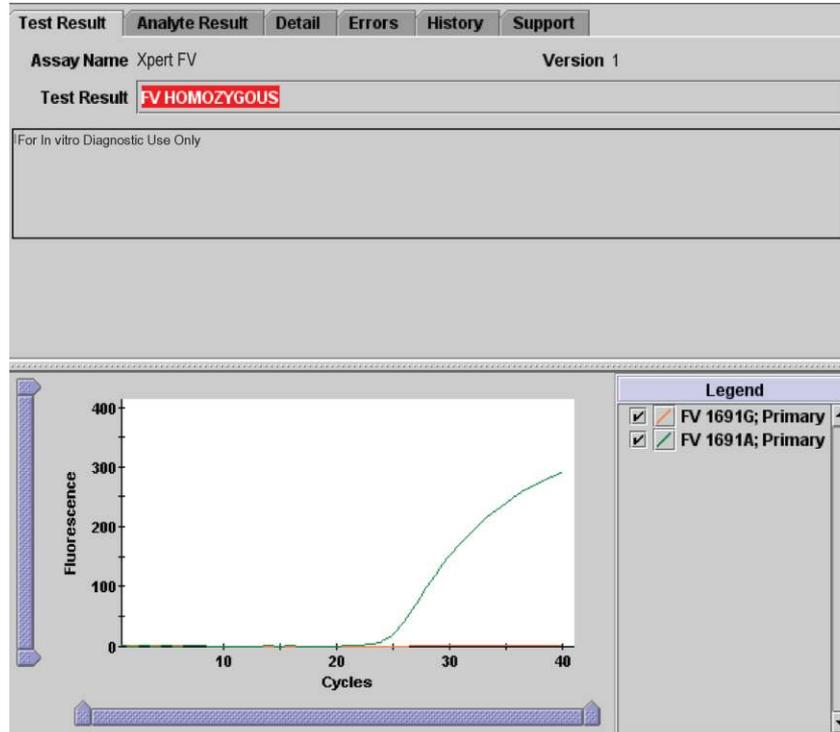
Resultado normal del Xpert FV



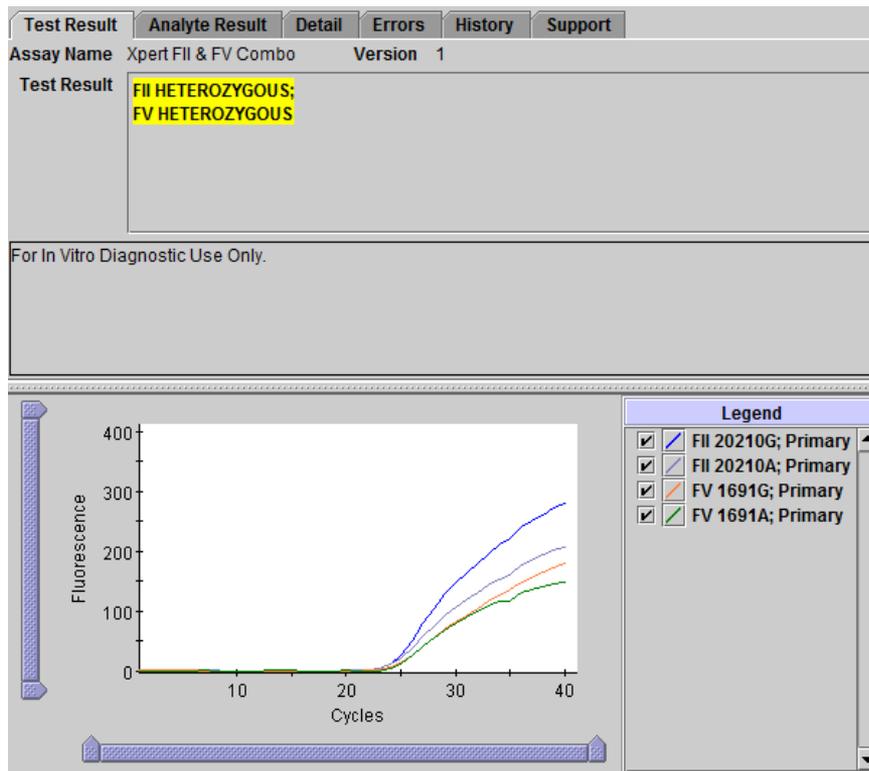
Resultado heterocigótico del Xpert FV



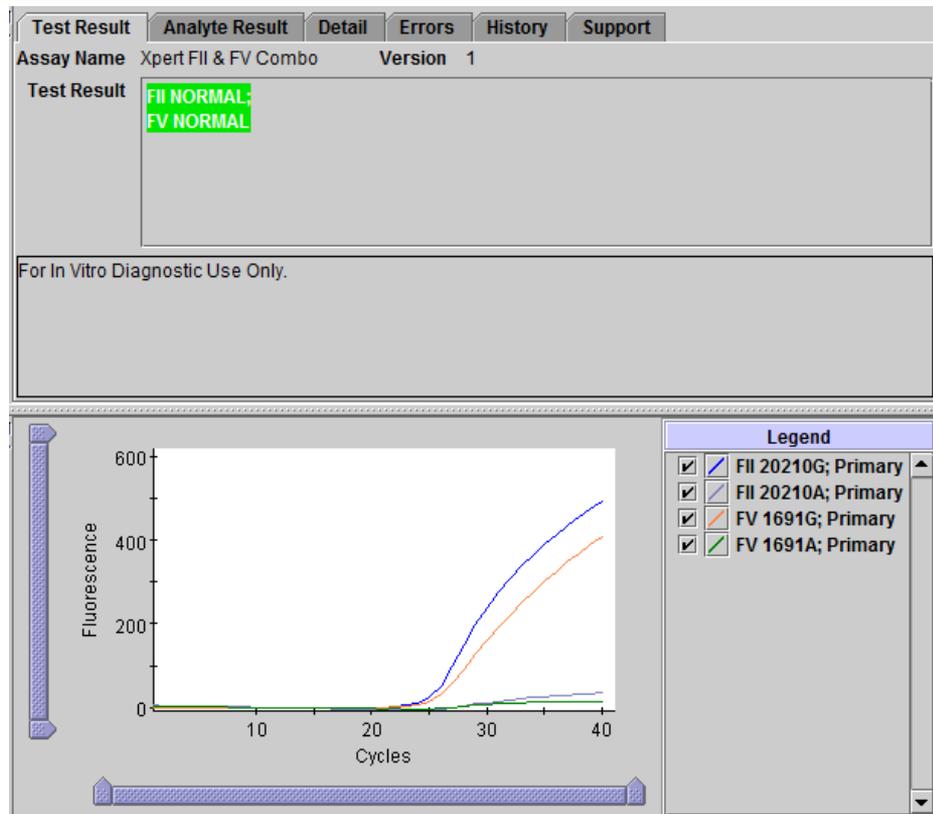
Resultado homocigótico del Xpert FV



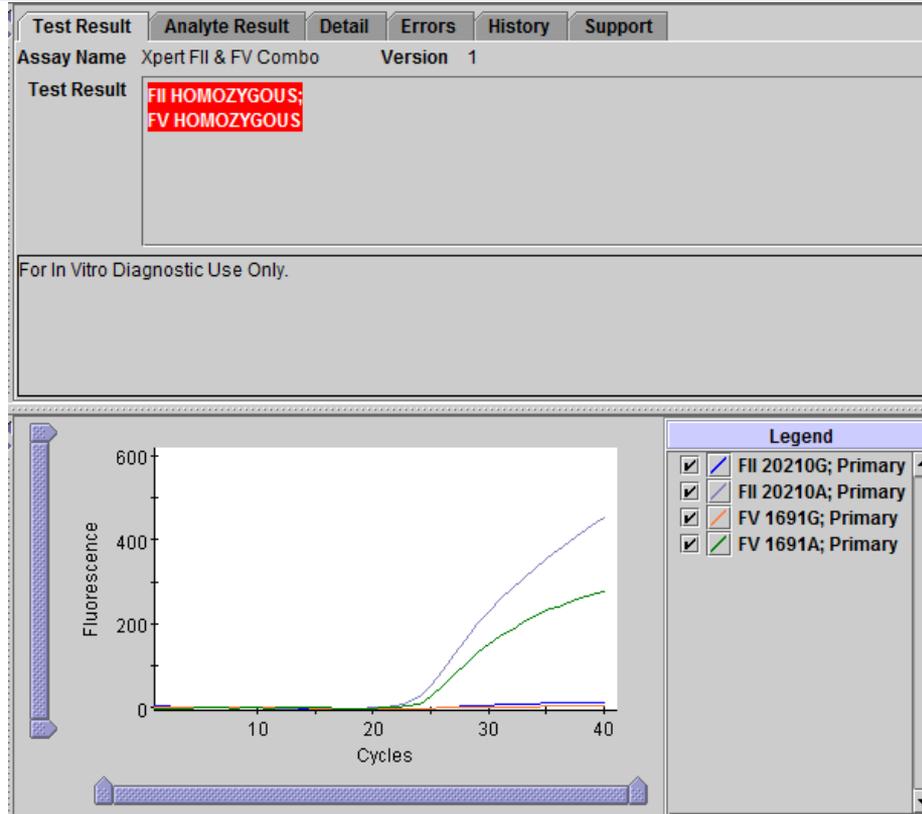
Resultado heterocigótico de la combinación Xpert FII & FV Combo



Resultados normales de la combinación Xpert FII & FV Combo



Resultados homocigóticos de la combinación Xpert FII & FV Combo



Motivos para repetir el ensayo

- Un resultado NO VÁLIDO (INVALID) indica que el control SPC interno no superó la comprobación. La muestra no se procesó correctamente o la PCR se inhibió.
- Un resultado de ERROR indica que se canceló el ensayo. Las posibles causas son: el tubo de reacción no se llenó correctamente, se detectó un problema de integridad en la sonda del reactivo; se excedió el límite máximo de presión, o falló algún componente del sistema.
- SIN RESULTADO (NO RESULT) indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, el operador detuvo una prueba en curso, se produjo un error de carga, el software se cerró prematuramente o se produjo un corte del suministro eléctrico.

NO VÁLIDO (INVALID)

Test Result

INVALID

No puede determinarse la presencia o ausencia de alelos normales y mutantes de factor II y factor V.

- Comprobación de la sonda—SUPERADO (Probe Check—PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
- NO VÁLIDO (INVALID): No puede determinarse la presencia o ausencia de alelos normales y mutantes de factor II y factor V:
 - No tuvo lugar la amplificación.
 - En la prueba combinatoria, solo existe una curva o ninguna, el resultado no es válido.
 - En mutaciones infrecuentes del factor V (A1696G, G1689A y A1692C)

ERROR

Test Result

ERROR

No puede determinarse la presencia o ausencia de alelos normales y mutantes de factor II y factor V.

- ERROR
- Comprobación de la sonda—NO SUPERADO (Probe Check—FAIL)*; uno o más de los resultados de la comprobación de la sonda no superan la comprobación.
 - El control de comprobación de la sonda no superó la comprobación y el ensayo se interrumpió, debido posiblemente a que el tubo de reacción no se llenó correctamente.
 - Se detectó un problema de integridad de la sonda.
 - También pueden producirse errores debidos a presiones superiores a los límites máximos.
 - Fallo de componentes del sistema.

* Si la comprobación de la sonda se superó, el error se debe a un fallo en los componentes del sistema.

SIN RESULTADO (NO RESULT)

Test Result

NO RESULT

No puede determinarse la presencia o ausencia de alelos normales y mutantes de factor II y factor V.

- SIN RESULTADO (NO RESULT)
- Comprobación de la sonda—N/A (Probe Check—NA), (no corresponde)
- No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado del ensayo (por ejemplo, esto puede ocurrir si el usuario detuvo la prueba que estaba en curso).

Procedimiento de repetición de la prueba Xpert FII & FV

1



Deseche el cartucho utilizado.

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

2



Obtenga la muestra residual.

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.

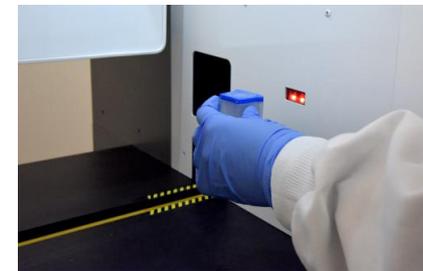
Etiquete adecuadamente como nueva prueba en el nuevo cartucho.

Procese la muestra conforme al prospecto.

4



Ejecute la prueba en el sistema.



Factores que pueden afectar negativamente a los resultados

- Es posible que los pacientes tratados con heparina y los pacientes de transfusiones de sangre produzcan muestras de sangre que puedan interferir en los resultados de la PCR y arrojar resultados no válidos o erróneos.
- La conservación incorrecta de las muestras recogidas puede afectar al resultado.
 - Asegúrese de que la muestra esté bien mezclada y que no se haya sometido a varios ciclos de congelación-descongelación.
 - Verifique que se ha añadido el volumen correcto de sangre a la cámara de muestras.
- No se observó inhibición utilizando muestras de sangre completa que se habían sometidos a un ciclo de congelación-descongelación (sangre hemolizada).
- No se observó significación estadística entre muestras emparejadas extraídas en EDTA o citrato sódico.

Servicio técnico

- Cepheid ofrece servicio técnico in situ, por teléfono, por fax y por correo electrónico.
- La información de contacto de las oficinas de Cepheid está disponible en nuestro sitio web <http://www.cephheid.com/support>
 - Seleccione la opción Ponerse en contacto con nosotros (Contact Us) para acceder a información de contacto.
 - Rellene el formulario en línea para crear un caso de servicio técnico.
- 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 instrumento
 - Mensajes de error (si los hubiera)
 - Versión de software y, si corresponde, «número de servicio técnico» (Service Tag) del ordenador.



Gracias.

www.Cepheid.com