

Formação sobre o ensaio: Formação sobre o Xpert® FII & FV

*Formação técnica apenas para
produtos US-IVD e CE-IVD*



Agenda da formação

- Formação sobre o Xpert FII & FV
 - Utilidade clínica
 - Conservação e manuseamento do kit
 - Colheita, transporte e conservação de amostras
 - Preparação do cartucho
 - Alvos do ensaio
 - Análise dos resultados
 - Controlo de qualidade
 - Discussão e perguntas e respostas



Objetivos da formação

No final da formação, os utilizadores serão capazes de:

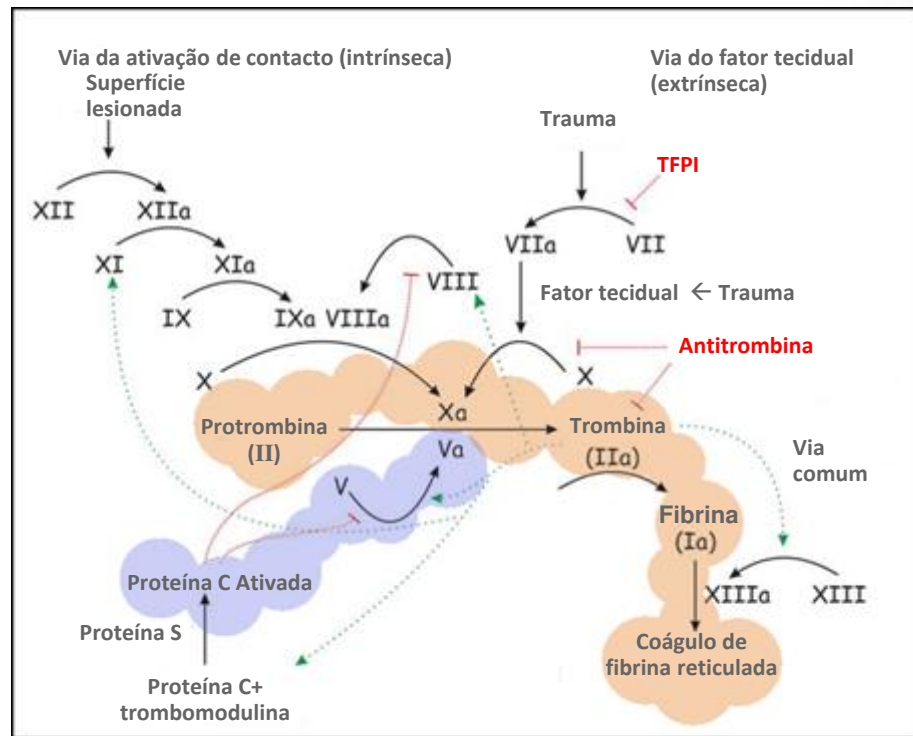
- Conservar e manusear os materiais do Xpert FII & FV.
- Cumprir as devidas precauções de segurança no laboratório.
- Colher os tipos de amostra corretos e transportá-los.
- Realizar a preparação do cartucho e executar o ensaio.
- Comunicar os vários resultados gerados pelo software.
- Eliminar os materiais utilizados.

FII & FV de Leiden



O que são mutações do FII & FV de Leiden?

- As mutações do Factor II (G20210A) e Factor V de Leiden (G1691A) estão associadas a um risco acrescido de trombose venosa.
- Estas mutações estão presentes em 2% e 5% da população geral, respetivamente.
- **Mutação do Factor II ou Protrombina (G20210A)**
 - transição G para A no nucleótido 20210 na região não traduzida 3' do gene
 - associada ao aumento dos níveis plasmáticos da protrombina
- **Mutação do Factor V de Leiden (G1691A)**
 - transição G para A na posição do nucleótido 1691 do gene Factor V
 - que resulta na substituição do aminoácido arginina por glutamina na proteína do Factor V,
 - causando a resistência à clivagem por Proteína C Ativada (APC).



Genótipos

	Normal	Heterozigótico	Homozigótico (mutante)
Factor II	GG	GA	AA
Factor V	GG	GA	AA

A solução Cepheid



- Detecção simultânea
 - Alelos normais e mutantes no Factor II e Factor V
- Um controlo interno para cada amostra individual
 - Controlo de verificação da sonda (PCC)
- Resultados em cerca de 30 minutos
- Simples e fácil de utilizar
 - Sistema de cartucho fechado
- Resultados a pedido 24/7
- Acesso aleatório

Utilização prevista

O ensaio Xpert® Factor II & Factor V é um teste de genotipagem qualitativo para o diagnóstico *in vitro* destinado à deteção de alelos de Factor II e Factor V em sangue total anticoagulado com citrato de sódio ou EDTA.

O teste é realizado no software do sistema Cepheid GeneXpert® Dx versão 4.0 ou posterior.

Este teste destina-se a apresentar resultados para as mutações do Factor II (G20210A) e Factor V de Leiden (G1691A) para auxiliar no diagnóstico de pessoas com suspeita de trombofilia.

Requisitos do sistema e de reagentes

Sistemas GeneXpert

- Módulos de 6 cores
- Software GXDX ou Xpertise v4.0 ou superior

Kits de teste

- GXFIIFV-10

Colheita da amostra

- Sangue total em tubo de EDTA ou citrato de sódio para colheita de amostras

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Pipeta com pontas com filtro resistentes a aerossóis para dispensar 50 µl de sangue anticoagulado com citrato de sódio ou EDTA.
- Lixívia
- Etanol ou etanol desnaturado a 70%

Componentes do kit Xpert FII & FV

Testes por kit	10
CD do kit	Ficheiros de definição do ensaio (Assay Definition Files, ADF)
	Instruções de importação do ensaio
	Folheto informativo
Conservação	2 °C–28 °C



O reagente de lise contém tiocianato de guanidina (H302, H316, H320, H402, EUH031), que é nocivo por ingestão, provoca irritação cutânea ligeira, provoca irritação ocular, é nocivo para os organismos aquáticos e em contacto com ácidos liberta gases tóxicos.

Transporte e conservação de amostras para o Xpert FII & FV

Amostra	Temperatura de transporte e conservação (°C)	Tempo de conservação
Sangue total em EDTA ou Sangue total em tubos com citrato de sódio anticoagulante	2 °C a 8 °C	15 dias
	22 °C a 28 °C (temperatura ambiente)	24 horas
	-20 °C ou -80 °C	3 meses



- Coloque o sangue congelado à temperatura ambiente até descongelar totalmente.
- Não se recomenda mais do que um ciclo de congelação/descongelação do sangue.

Boas Práticas de Laboratório

Configuração do laboratório de PCR

- Preparação do cartucho/reagente → Adição da amostra → Detecção

Conservação de amostras e reagentes

- Conservar as amostras separadamente dos reagentes para impedir a contaminação do reagente.

Equipamento

- Utilizar pontas de pipeta com filtro, quando necessário.
- Seguir a recomendação do fabricante relativamente à calibração e manutenção do equipamento de laboratório.
- Realizar regularmente a manutenção do instrumento GeneXpert.

Boas Práticas de Laboratório (cont.)

Limpeza

- Limpe as superfícies de trabalho com uma diluição 1:10 de lixívia* doméstica em água, seguida de uma solução de etanol a 70%. Secar completamente as superfícies de trabalho com um pano.

Pessoal

- Usar batas limpas e luvas.
- Trocar de luvas entre o processamento de amostras.

Área da bancada de laboratório

- Limpar a área da bancada de laboratório por rotina.
- Manter a parte traseira do instrumento sem pó.

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

Conservação e manuseamento do kit Xpert FII & FV

- Conservar os kits de teste entre 2 °C e 28 °C. Não utilizar cartuchos fora do prazo de validade.
- Cada cartucho de utilização única é utilizado para processar um teste. Não reutilizar cartuchos processados.
- Não abrir um cartucho até que esteja pronto para testar.
 - Inicie o teste dentro de 15 minutos após a amostra ter sido adicionada ao cartucho.
- A contaminação cruzada durante as etapas de manuseamento de amostras deve ser evitada.
 - Trocar de luvas se entrarem em contacto com a amostra ou parecerem húmidas.
 - Trocar de luvas antes de sair e quando entrar na área de trabalho.
- Não utilizar um cartucho que tenha caído ou sido agitado após a transferência da amostra para o cartucho. Agitar ou deixar cair o cartucho após a abertura da respetiva tampa pode produzir resultados inválidos.
- Não utilizar um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Não utilizar um cartucho com fuga.

Preparação do cartucho Xpert FII & FV

Preparação do cartucho Xpert® Factor II & Factor V

Consulte as instruções detalhadas, precauções e advertências no folheto informativo.

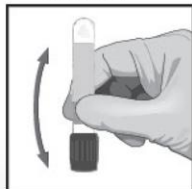
Poderá obter um exemplar da FDS em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com

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

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



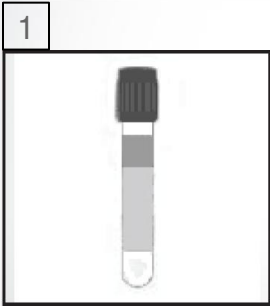
- 1 Obtenha o tubo de EDTA ou citrato de sódio para colheita de amostra.
- 2 Obtenha um cartucho Xpert Factor II & Factor V.
- 3 Misture suavemente a amostra invertendo o tubo de amostra 5 vezes até ficar homogênea.
- 4 Abra a tampa do cartucho Xpert.
- 5 Utilizando uma pipeta volumétrica com uma ponta resistente a aerossóis, aspire 50 µl da amostra.
- 6 Transfira a amostra para a parede inferior da câmara "S" do cartucho.
- 7 Feche a tampa do cartucho Xpert.
- 8 Coloque o cartucho e inicie o ensaio.



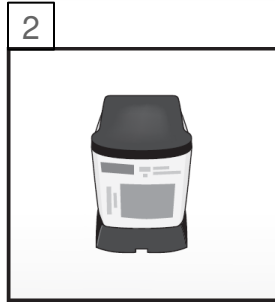
© 2013 Cepheid

301-2120P, Rev. A setembro de 2013

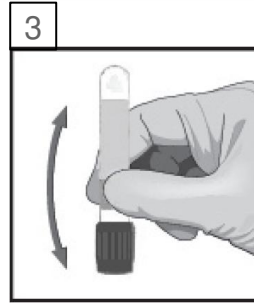
Preparação do cartucho FII & FV



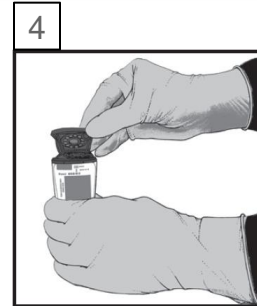
Obtenha o tubo de EDTA ou citrato de sódio para colheita de amostra.



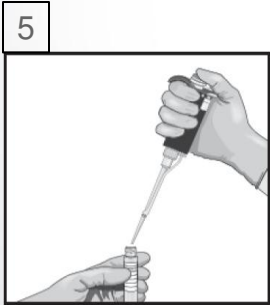
Obtenha um cartucho Xpert Factor II & Factor V.



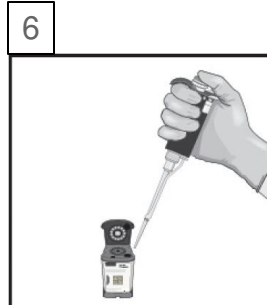
Misture suavemente a amostra invertendo o tubo de amostra 5 vezes até ficar homogênea.



Abra a tampa do cartucho Xpert.



Utilizando uma pipeta volumétrica com uma ponta resistente a aerossóis, aspire 50 µl da amostra.



Transfira a amostra para a parede inferior da câmara "S" do cartucho.



Feche a tampa do cartucho Xpert.

8

Inicie o teste dentro do prazo indicado no folheto informativo.

Relatório combinado: Xpert FII & FV ADF

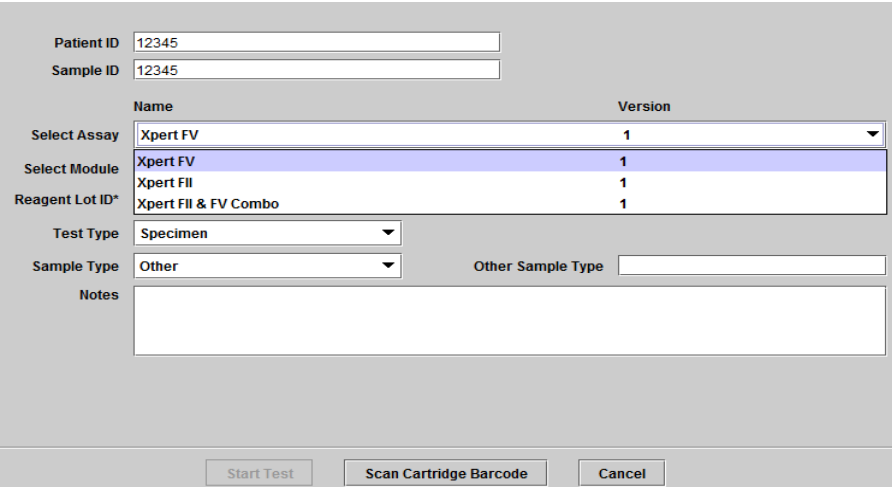
- A função combinatória do software GX v4.0 ou posterior permite ao operador selecionar uma de três opções de relatório do ensaio:
 - “Xpert FII”, “Xpert FV” ou “Xpert FII & FV Combo”

The screenshot displays the GX software interface for assay selection. It includes input fields for Patient ID (12345) and Sample ID (12345). A table lists available assays and modules, with 'Xpert FV' selected. Below the table are dropdown menus for Test Type (Specimen) and Sample Type (Other), along with an 'Other Sample Type' field. A large text area for 'Notes' is present at the bottom. At the very bottom, there are three buttons: 'Start Test', 'Scan Cartridge Barcode', and 'Cancel'.

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

Relatório combinado: Xpert FII & FV ADF

- Escolher o teste pretendido no menu pendente Seleccionar ensaio (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

- Apenas o resultado de teste para o ensaio selecionado neste passo será recolhido quando o teste é iniciado.
 - Exemplo: se o operador seleccionar “Xpert FII”, uma vez iniciado o ensaio, a opção não pode ser alterada para recolher dados de FII e FV

Passos do teste automático Xpert FII & FV



Controlo de qualidade

*Consulte os detalhes completos
no folheto informativo*



Estratégia de controlo do ensaio Cepheid

- 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 do sistema do instrumento: estado da verificação
 - Controlo endógeno
 - Controlo do reagente: verificação da sonda

Controlo do sistema do instrumento — Estado da verificação

- O controlo do sistema verifica o sistema ótico, a temperatura do módulo e a integridade mecânica de cada cartucho.
 - Se os controlos do sistema falharem, há indicação de ERRO (ERROR) para o resultado do teste.

Controlo de verificação da sonda — PCC

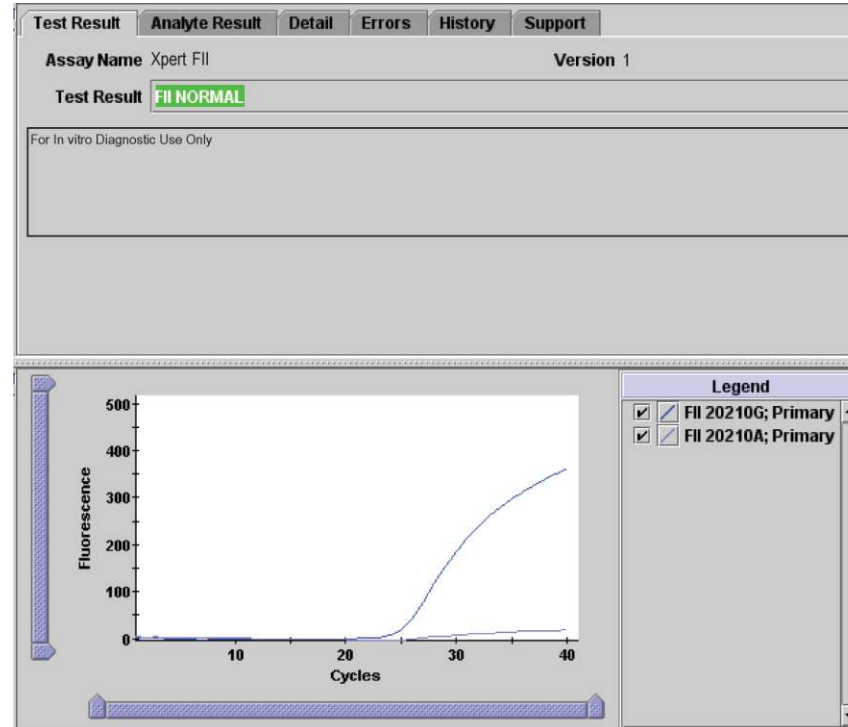
- Antes do início da reação PCR, o sinal de fluorescência da sonda é medido para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.
- As leituras são comparadas com os valores predefinidos estabelecidos pela Cepheid.
- A verificação da sonda controla:
 - A ausência de esferas de reagente específico para o alvo (TSR) e/ou de reagente enzimático, que contêm todos os iniciadores, sondas e modelo de controlo interno
 - A reconstituição incompleta do reagente
 - O enchimento incompleto do tubo de reação
 - A degradação da sonda
- O PCC é aprovado se preencher os critérios de aceitação atribuídos.
- Se a verificação da sonda falhar, surge a indicação de ERRO (ERROR) para o resultado do teste.

Análise dos resultados

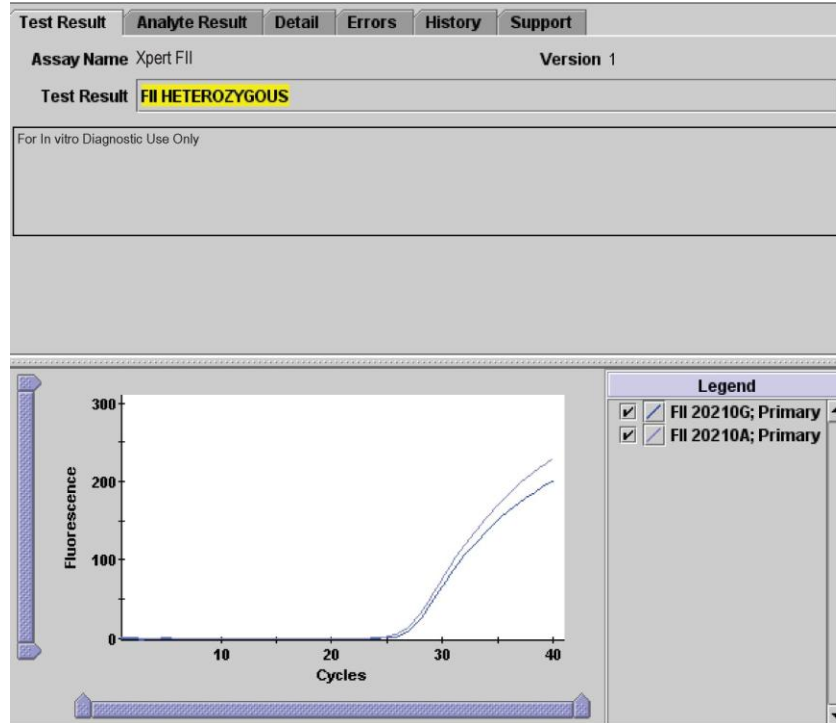
*Consulte os detalhes completos
no folheto informativo*



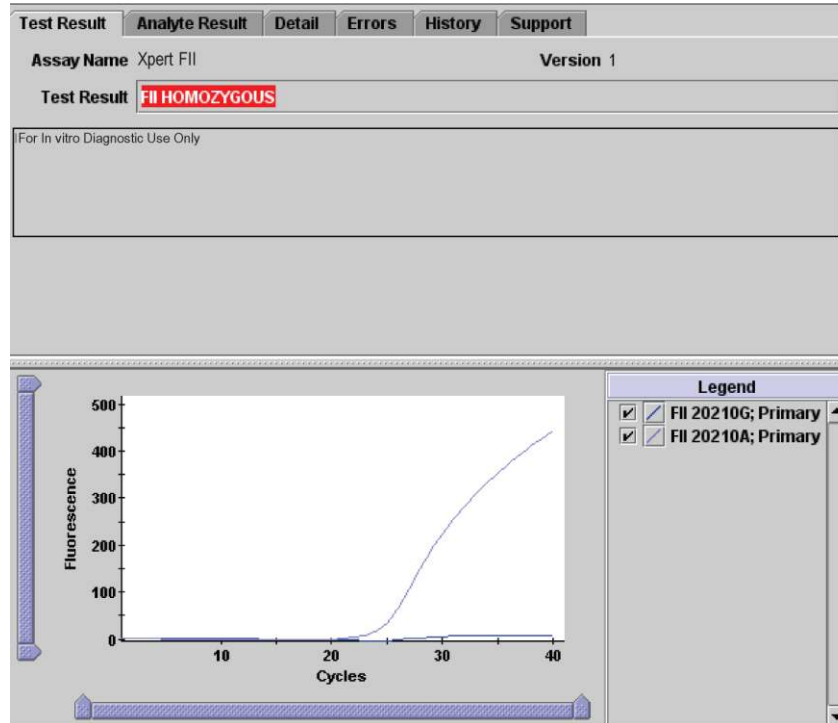
Resultado normal Xpert FII



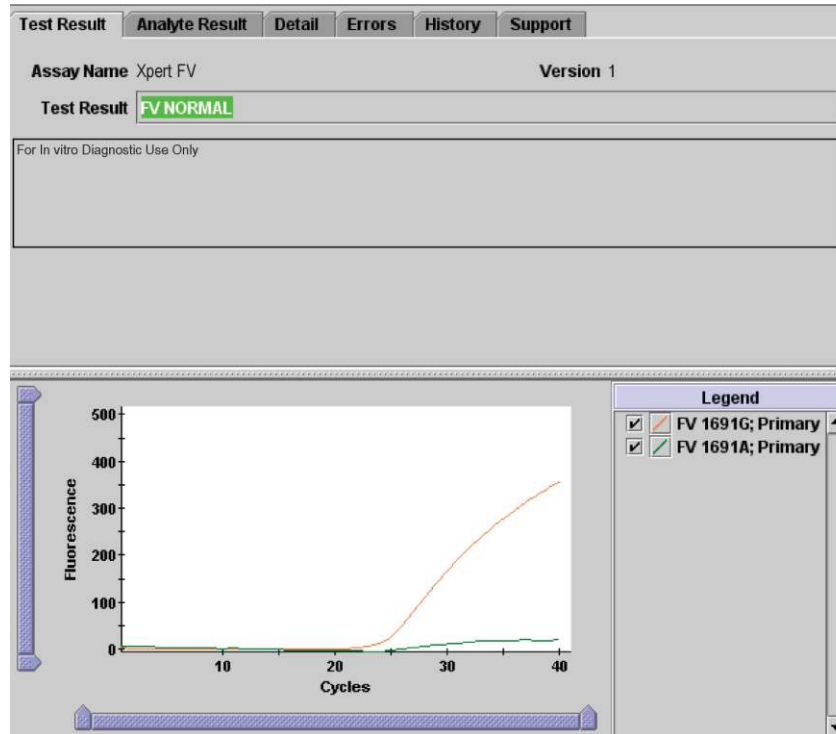
Resultado heterozigótico Xpert FII



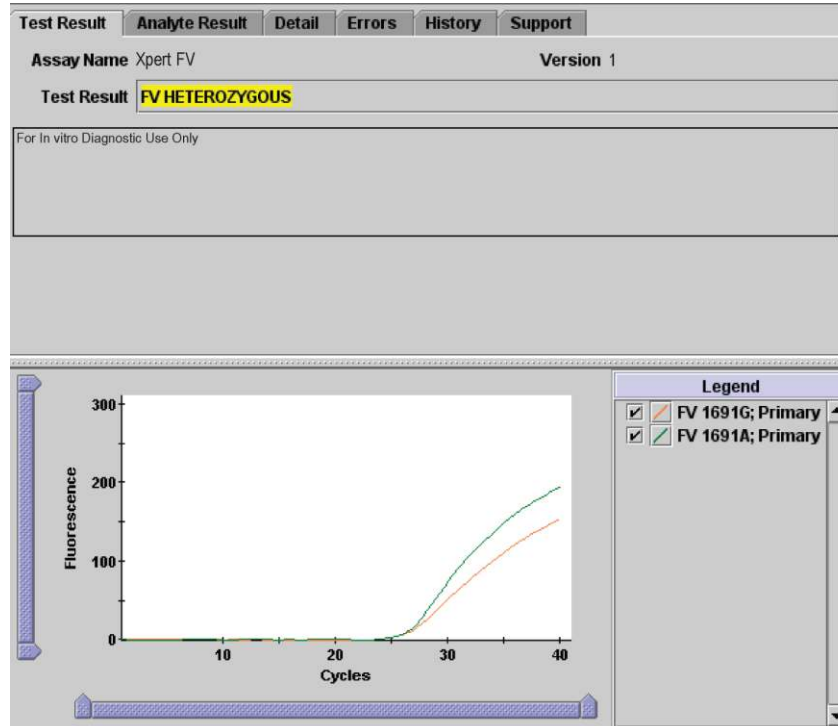
Resultado homozigótico Xpert FII



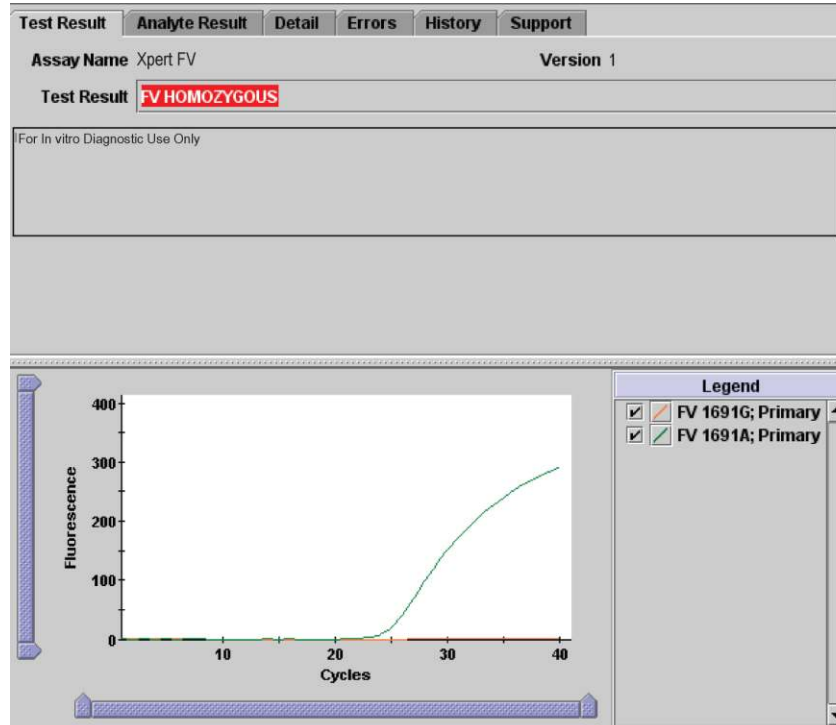
Resultado normal Xpert FV



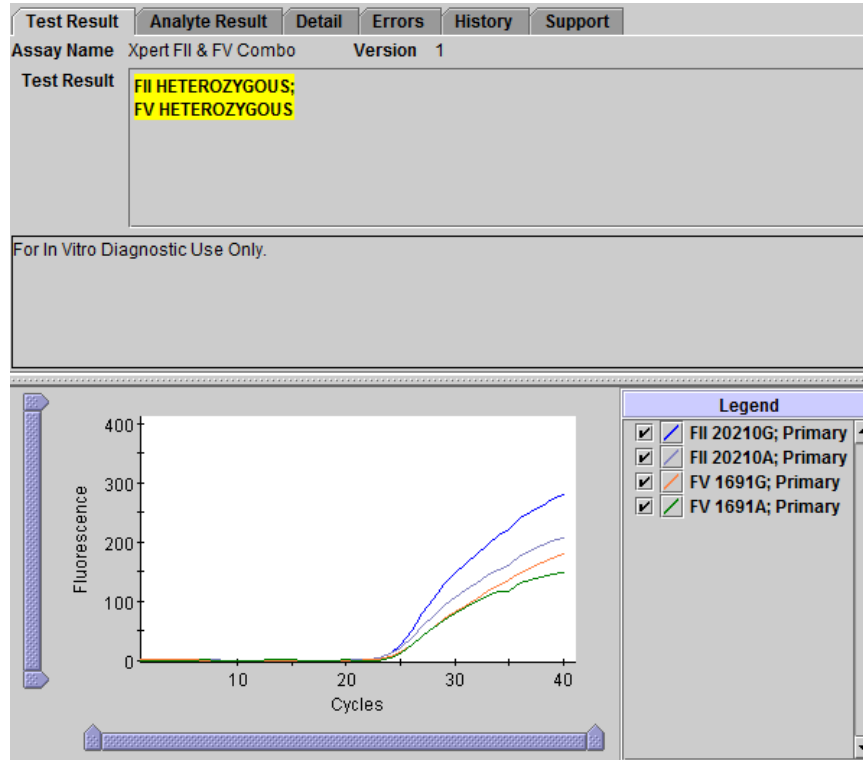
Resultado heterozigótico Xpert FV



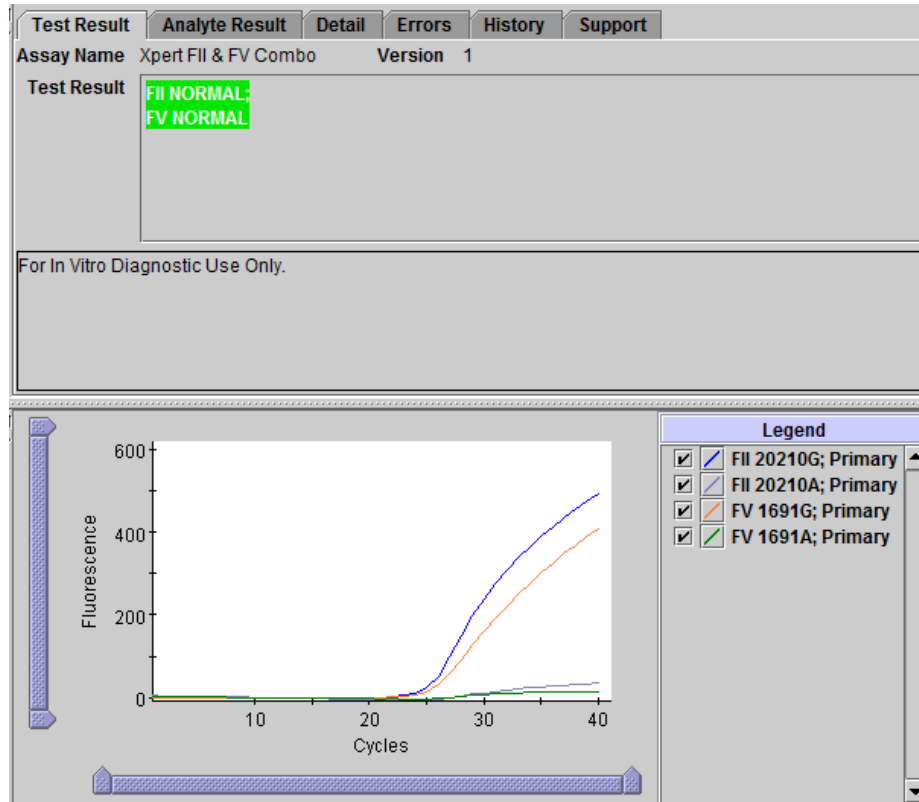
Resultado homozigótico Xpert FV



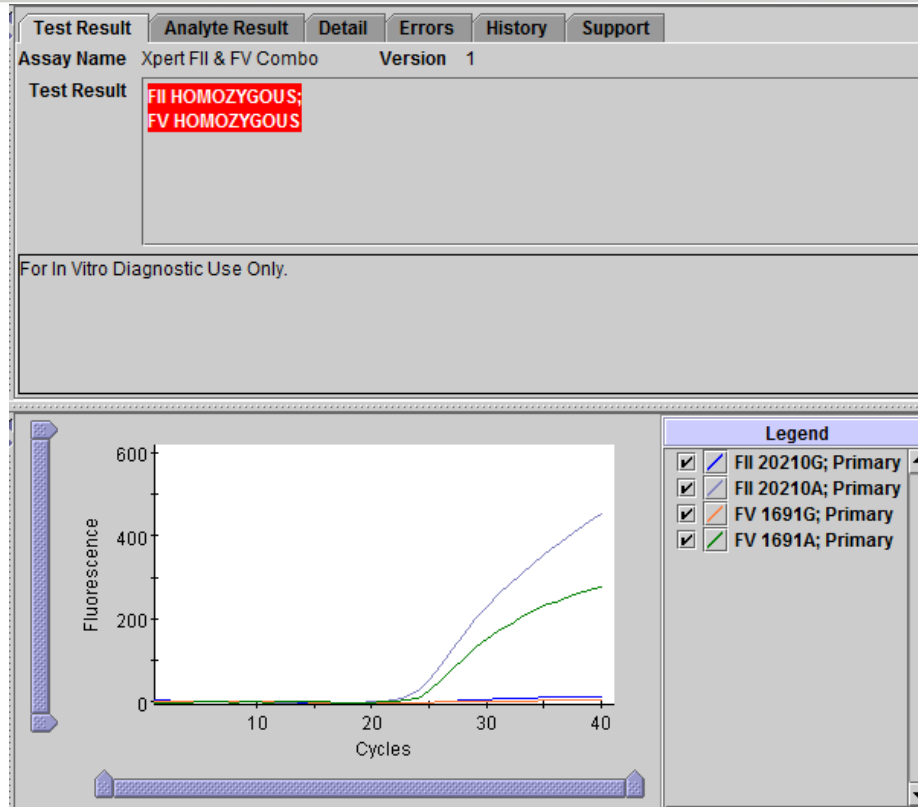
Resultado heterozigótico combinado Xpert FII & FV



Resultado normal combinado Xpert FII & FV



Resultado homozigótico combinado Xpert FII & FV



Motivos para repetir o ensaio

- Um resultado INVÁLIDO (INVALID) indica que o SPC interno falhou. A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um resultado ERRO (ERROR) indica que o ensaio foi cancelado. As possíveis causas incluem: o tubo de reação não foi adequadamente enchido; foi detetado um problema de integridade da sonda de reagente; o limite máximo de pressão foi excedido; um componente do sistema falhou.
- SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava a decorrer, ocorreu um erro no carregamento, o software foi encerrado prematuramente ou ocorreu uma falha de energia.

INVÁLIDO (INVALID)

Test Result

INVALID

Não é possível determinar a presença ou ausência de alelos normais e mutantes do Factor II & Factor V

- Verificação da sonda — APROVADO (Probe Check — PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
- INVÁLIDO (INVALID) — não é possível determinar a presença ou ausência de alelos normais e mutantes do Factor II/Factor V:
 - Não ocorreu a amplificação
 - No teste combinado, existe uma ou nenhuma curva, o resultado é inválido
 - Em mutações raras do Factor V (A1696G, G1689A e A1692C)

ERRO (ERROR)

Test Result **ERROR**

Não é possível determinar a presença ou ausência de alelos normais e mutantes do Factor II & Factor V

- ERRO (ERROR)
 - Verificação da sonda — FALHOU* (Probe Check — FAIL); um ou mais dos resultados de verificação da sonda falharam.
 - O controlo de verificação da sonda falhou e o ensaio foi cancelado, possivelmente devido ao enchimento incorreto de um tubo de reação.
 - Foi detetado um problema de integridade da sonda.
 - Os erros também podem ser causados quando são excedidos os limites máximos de pressão.
 - Falha de um componente do sistema.
- * Se a verificação da sonda passou, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.

SEM RESULTADO (NO RESULT)

Test Result

NO RESULT

Não é possível determinar a presença ou ausência de alelos normais e mutantes do Factor II & Factor V

- SEM RESULTADO (NO RESULT)
- Verificação da sonda – não aplicável (Probe Check — NA)
- Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de ensaio (por exemplo, isto pode ocorrer se o operador parou um teste que estava em curso).

Procedimento de repetição de teste Xpert FII & FV

1



Elimine o cartucho usado.

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

2



Obtenha a amostra residual.

*Se o volume da amostra que sobrou for insuficiente ou a repetição do teste continuar a apresentar um resultado **INVÁLIDO (INVALID)**, **ERRO (ERROR)** ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**, colha uma amostra nova.*

3



Obtenha um cartucho novo.

Rotule apropriadamente como repetição do teste no cartucho novo.

Processe a amostra de acordo com o folheto informativo.

4



Execute o teste no sistema.



Fatores que podem afetar negativamente os resultados

- Os pacientes tratados com heparina e os pacientes submetidos a transfusão sanguínea podem ter amostras de sangue que poderão interferir com os resultados da PCR e causar resultados inválidos ou errôneos.
- A conservação incorreta das amostras colhidas pode afetar o resultado
 - Certifique-se de que a amostra está bem misturada e que não foi submetida a demasiados ciclos de congelação/descongelação.
 - Verifique se foi adicionado o volume correto de sangue à câmara da amostra.
- Não se observou qualquer inibição utilizando amostras de sangue total que foram submetidas a um ciclo de congelação/descongelação (sangue hemolisado).
- A diferença entre amostras equivalentes colhidas em EDTA ou citrato de sódio não foi estatisticamente significativa.

Assistência técnica

- A Cepheid presta assistência técnica no local e por telefone, fax e e-mail.
- As informações de contacto para outros escritórios da Cepheid estão disponíveis em <http://www.cepheid.com/support>
 - Selecione a opção Contacte-nos (Contact Us) para obter as informações de contacto
 - Preencha o formulário online para criar um caso de assistência (Create a Support Case)
- Antes de contactar a Assistência Técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:
 - Nome do produto
 - Número de lote
 - Número de série do instrumento
 - Mensagens de erro (se houver alguma)
 - Versão de software e, caso se aplique, número de etiqueta de serviço (Service Tag) do Computador

Obrigado.

www.Cepheid.com

