

Formazione sul saggio: Xpert® vanA/vanB

Solo per prodotti CE-IVD



Programma di formazione

- **Formazione Xpert® vanA/vanB**
 - Reagenti
 - Prelievo del campione
 - Conservazione e manipolazione dei kit
 - Preparazione della cartuccia
 - Controlli qualità
 - Analisi dei risultati
- **Discussione**





Obiettivi del programma di formazione

- **Al termine della formazione, gli operatori saranno in grado di:**
 - Conservare e maneggiare il kit della cartuccia Xpert[®] vanA/vanB e i kit per il prelievo dei campioni
 - Seguire le adeguate precauzioni di sicurezza del laboratorio
 - Prelevare e trasportare i campioni di analisi adeguati
 - Preparare una cartuccia ed eseguire il saggio
 - Refertare i vari risultati generati dal software
 - Comprendere la strategia di controllo del saggio

La soluzione Cepheid



- Rilevamento dei geni *vanA* e *vanB*
- Controlli interni a bordo
 - Controllo per la verifica della sonda (PCC)
 - Controllo per il trattamento dei campioni di analisi (SPC)
- Sistema della cartuccia a circuito chiuso per ridurre al minimo il rischio di contaminazione
- Risultati on-demand
- Accesso casuale

Uso previsto

- Il saggio Xpert® vanA/vanB Cepheid eseguito nei GeneXpert® Instrument System è un test diagnostico qualitativo in vitro concepito per il rapido rilevamento dei geni per la resistenza alla vancomicina (*vanA/vanB*) in campioni di analisi di tamponi rettali e perianali prelevati da pazienti a rischio di colonizzazione intestinale da batteri resistenti a vancomicina.
- Il test utilizza la reazione a catena della polimerasi (PCR) automatizzata e in tempo reale per il rilevamento dei geni *vanA* e *vanB* che possono essere associati agli enterococchi resistenti alla vancomicina (Vancomycin-Resistant Enterococci, VRE).
- Il saggio Xpert® vanA/vanB è previsto come ausilio per il riconoscimento, la prevenzione e il controllo della colonizzazione di microrganismi resistenti alla vancomicina in ambito sanitario. Il saggio Xpert® *vanA/vanB* non è previsto per la diagnosi di VRE, né può essere usato per indirizzare o monitorare il trattamento delle infezioni da VRE.
- Sono necessarie colture complementari solo per ottenere i microrganismi da utilizzare per la tipizzazione epidemiologica, l'analisi della suscettibilità e per l'ulteriore identificazione di conferma del VRE.

Bersagli e sonde

Bersaglio (bersagli)

- *vanA*
- *vanB*

Sonde

- 1 sonda per resistenza *vanA* a vancomicina e teicoplanina (plasmide-mediata)
- 1 sonda per resistenza *vanB* a vancomicina (trasposone)
- 1 sonda per controllo per trattamento campioni (SPC): spore di *B. globigii*

Requisiti di Xpert® vanA/vanB

Kit per i test (CE-IVD)

- GXVANA/B-CE-10

Prelievo del campione

- Dispositivo di prelievo dei campioni Cepheid (numero di parte 900-0370)

Altri materiali

- Attrezzatura di protezione personale (PPE)
- Pipette di trasferimento sterili monouso
- Miscelatore vortex
- Candeggina per uso domestico con diluizione 1:10
- Etanolo al 70% o etanolo denaturato al 70%

Facoltativo

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



Buona prassi di laboratorio

Attrezzatura di protezione personale (PPE)

- Indossare camici da laboratorio, guanti e occhiali di sicurezza puliti
- Cambiarsi 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%

** La concentrazione finale di cloro attivo deve essere dello 0,5%, indipendentemente dalla concentrazione della candeggina per uso domestico presente nel Paese di utilizzo.*

- 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

Apparecchiatura

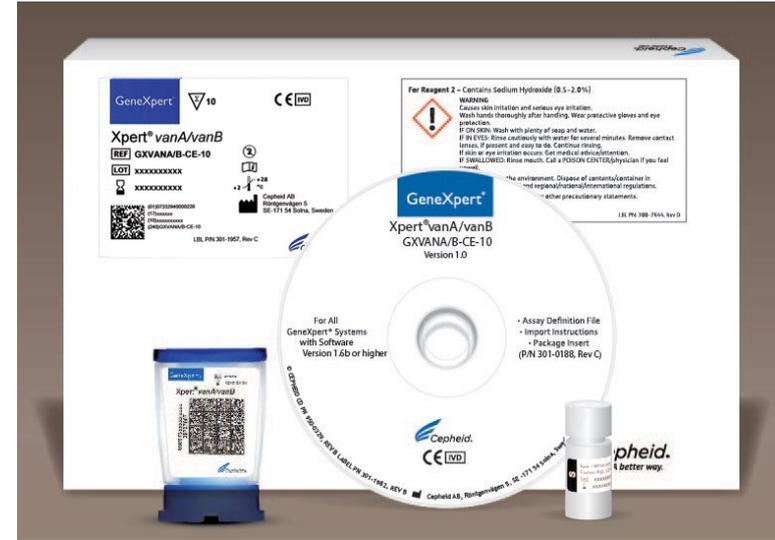
- Usare puntali per pipetta con filtro, se consigliato
- Seguire i requisiti del produttore in merito alla calibrazione e alla manutenzione delle apparecchiature

Manipolazione del kit



Contenuto del kit Xpert® vanA/vanB

Numero di catalogo	GXVAN/B-CE-10
Cartucce per kit	10
Flaconcini di reagente	10
CD del kit	File di definizione del saggio (Assay Definition File, ADF)
	Istruzioni per l'importazione del Assay Name
	Foglietto illustrativo (PDF)
Conservazione	2-28 °C



Le cartucce contengono sostanze chimiche pericolose. Per ulteriori informazioni, consultare il foglietto illustrativo e la scheda dati di sicurezza.



Conservazione e manipolazione dei kit Xpert® vanA/vanB

- Conservare le cartucce e i reagenti del saggio Xpert® vanA/vanB 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.
- Non utilizzare dispositivi di prelievo non convalidati da Cepheid.
- Aprire il coperchio della cartuccia Xpert® vanA/vanB solo per aggiungere il campione, chiudere il coperchio e procedere con l'analisi.





Avvertenze e precauzioni

- Non agitare la cartuccia
- Non usare una cartuccia che...
 - appare bagnata, presenta segni di perdite, il sigillo del coperchio appare 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 solo test
 - è scaduta
- Non riutilizzare le pipette monouso usate

Smaltire le cartucce e i reagenti del saggio Xpert® vanA/vanB nel rispetto delle linee guida del proprio istituto e del proprio Paese sullo smaltimento dei materiali pericolosi

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 adottando le precauzioni standard.
- Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali del proprio istituto 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.

Limitazioni

- Un risultato positivo non presuppone necessariamente la presenza di organismi vitali. Può comunque essere indicativo della presenza di VRE.
- I risultati positivi di Xpert® *vanA/vanB* per *vanB* in assenza di *vanA* possono essere dovuti a microrganismi diversi da VRE. Si raccomanda di eseguire la conferma della coltura per questi microrganismi.
- Come descritto in letteratura, è possibile trovare alcuni batteri aerobici e anaerobici contenenti il gene *vanB* e che quindi vengono rilevati da questo test, tuttavia, la rilevanza clinica di tali risultati è sconosciuta. È stato indicato che i batteri anaerobici positivi per il gene *vanB* potrebbero costituire un serbatoio di fattori determinanti la resistenza alla vancomicina, ma questa ipotesi rimane da dimostrare.
- Il test del saggio Xpert® *vanA/vanB* deve essere utilizzato come ausilio, in aggiunta agli altri metodi disponibili. Mutazioni o polimorfismi nelle regioni leganti il primer o la sonda possono compromettere il rilevamento di varianti nuove o sconosciute di VRE e generare risultati falsi negativi.

Prelievo e conservazione dei campioni



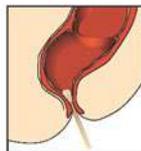
Prelievo dei campioni di analisi

Prelievo del campione di analisi rettale/perianale

1 Usare il dispositivo di prelievo Cepheid n. 900-0370 per prelevare il campione di analisi.

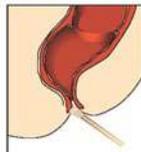


Campione di tamponi rettale
Inserire con attenzione entrambi i tamponi circa 2,5 cm oltre lo sfintere anale (in modo che le punte in fibra non siano più visibili) e ruotare delicatamente 3 volte per assicurare l'uniformità del campione su entrambi i tamponi.

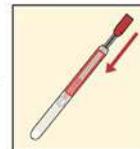


2 OPPURE

Campione di tamponi perianale
Allargare i glutei per esporre la regione perianale. Strisciare i tamponi completamente intorno alla superficie perianale assicurandosi di strisciare una superficie la più ampia possibile.



3 Reinserire i tamponi nella provetta.



4 Il campione di analisi può essere conservato a 2-8 °C per un massimo di 5 giorni.



© 2019 Cepheid

Dispositivo medico per uso diagnostico in vitro 

302-1338, Rev. A, Giugno, 2019

 **Cepheid.**
A better way.

Conservazione dei campioni di analisi

Tipo di campione	Conservazione
Tamponi rettali/perianali	 per 5 giorni



Utilizzare il dispositivo di prelievo campioni Cepheid (n. parte 900-0370)

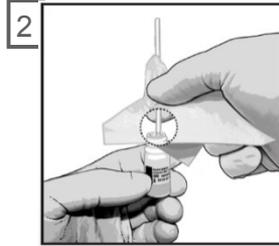
Preparazione della cartuccia



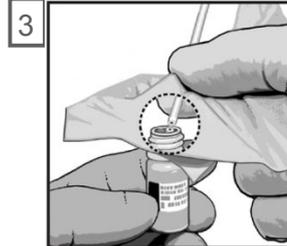
Preparazione della cartuccia



1 Per ogni campione procurarsi una cartuccia Xpert® e un flaconcino di reagente per campioni.

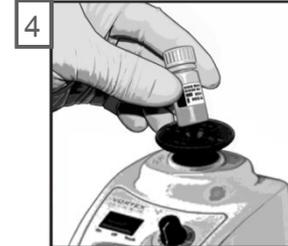


2 Inserire il tampono nel flaconcino del reagente per campioni.

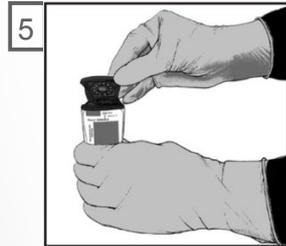


3 Spezzare il tampono in corrispondenza della tacca posta accanto all'apertura del flaconcino.
Nota - non tenere il tampono al di sotto della tacca.

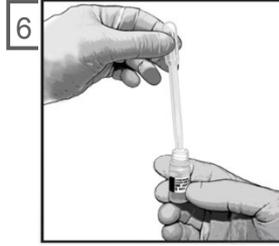
Utilizzare una garza o un materiale simile per ridurre al minimo il rischio di contaminazione.



4 Chiudere il flaconcino del reagente per campioni e miscelare con il vortex per 10 minuti.



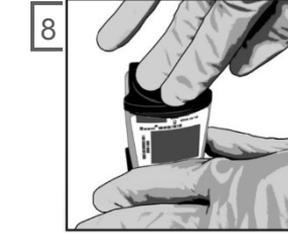
5 Aprire il coperchio della cartuccia.



6 Aspirare l'intero contenuto del flaconcino di reagente per campioni con una pipetta di trasferimento monouso.



7 Svuotare la pipetta nella camera della cartuccia.



8 Chiudere bene il coperchio. Iniziare il test entro l'intervallo di tempo specificato nel foglio illustrativo.

Esecuzione di un'analisi

1 Creare un test

GeneXpert



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

GeneXpert
Infinity

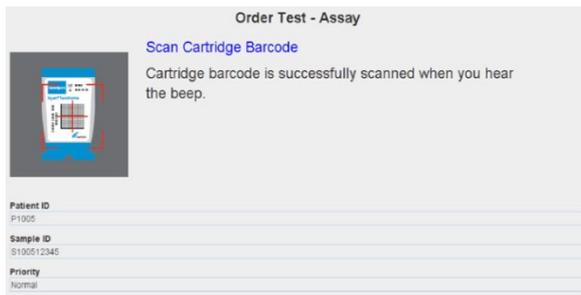


Porre la cartuccia sul nastro trasportatore entro **30** minuti dall'aggiunta del campione.

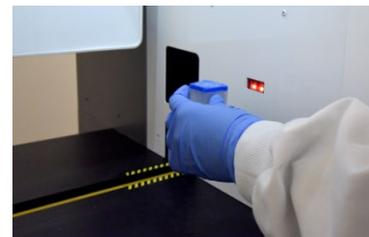
2 Messaggi sulla scansione del codice a barre: Cartuccia/ ID del paziente e/o ID del campione



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



3 Eseguire la scansione della cartuccia



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

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

Create Test

Patient ID

Sample ID

Patient ID 2

Last Name

Select Assay: Xpert® Assay name

Select Module: A3

Reagent Lot ID*: 16119

Expiration Date*: 2016/1/17

Test Type: Specimen

Sample Type: Other

Notes

Start Test

Scan Cartridge Barcode



Creare un test sul software Xpertise™

4 Compilare i campi come richiesto

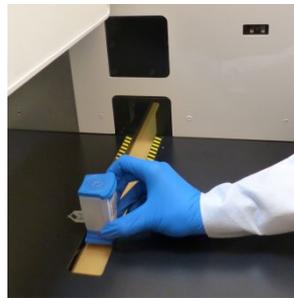
5 Il protocollo Saggio Xpert® viene selezionato automaticamente

6 Fare clic su INVIA (SUBMIT)

7 Posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore

Order Test - Test Information

Patient ID patientid	
Sample ID sampleid	
Last Name patient	First Name id
Assay* Saggio 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	



Protocollo Xpert® automatizzato



CE-IVD. Per uso diagnostico *in vitro*

Controlli qualità





Strategia di controllo del saggio

CONTROL

- **Controlli di qualità Xpert® vanA/vanB**
 - 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 il trattamento dei campioni di analisi (SPC)**
 - **Controlli per la verifica della sonda (PCC)**

Consultare il documento 301-4868 Funzioni GeneXpert® di controllo qualità per tutti i saggi Cepheid Xpert®



Controlli di qualità interni

- **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 delle sonde
 - riempimento della provetta di reazione
 - stabilità del colorante

- **Controlli per il trattamento dei campioni (SPC)**

- spore non infettive in ciascuna cartuccia
 - Verifica l'adeguato trattamento dei campioni
 - Verifica la lisi, la presenza dell'organismo e rileva l'inibizione della PCR
 - Deve essere positivo in un campione negativo
 - Può essere positivo o negativo in un campione positivo

Interpretazione dei risultati

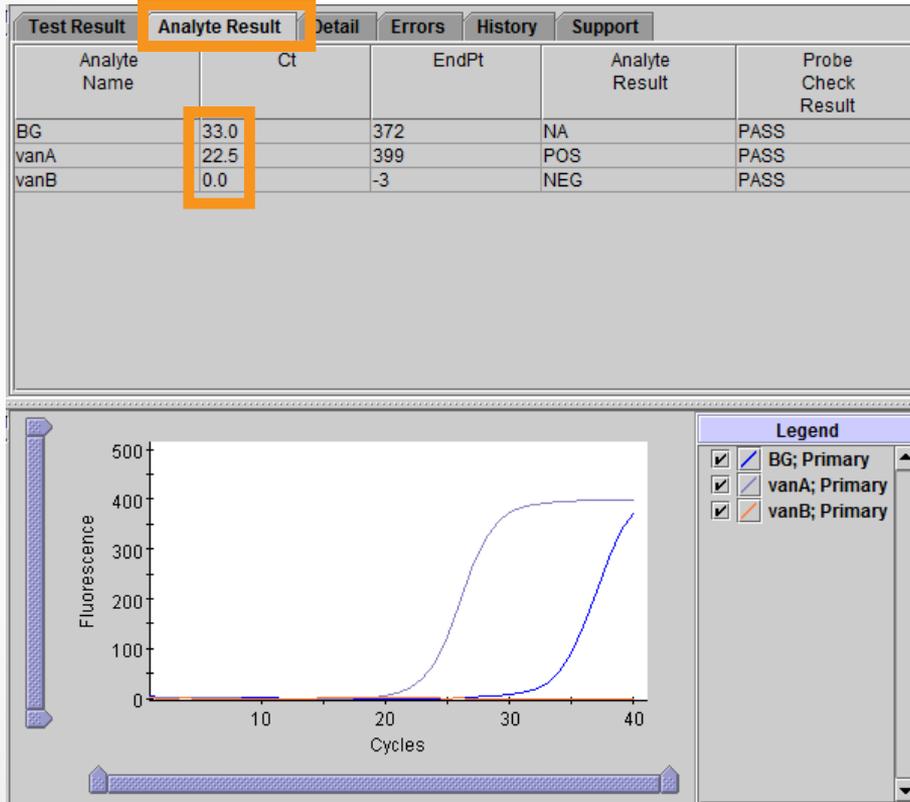


Xpert® vanA/vanB - Tutti i possibili risultati

Risultato visualizzato	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)	-	-	+
NON VALIDO (INVALID)	-	-	-
ERRORE (ERROR)	NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	NESSUN RISULTATO (NO RESULT)
NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	NESSUN RISULTATO (NO RESULT)	NESSUN RISULTATO (NO RESULT)

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

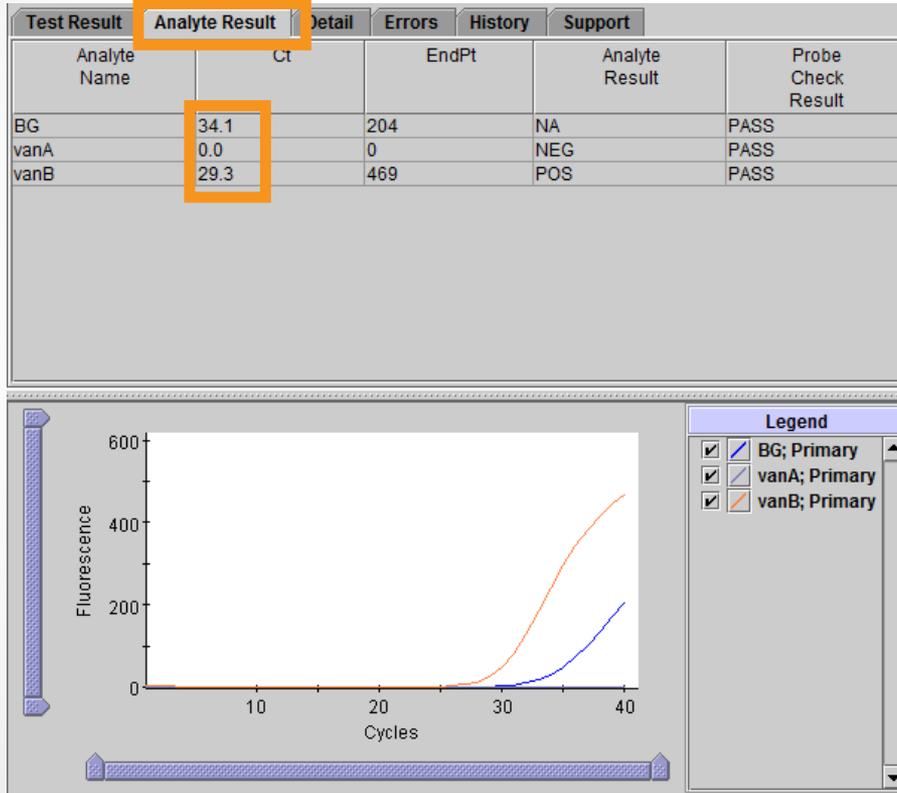
vanA POSITIVE;
vanB NEGATIVE



- Il DNA del bersaglio *vanA* è stato rilevato.
- Il DNA del bersaglio *vanB* è stato rilevato.
- *vanA* POSITIVO (*vanA* POSITIVE):
vanB NEGATIVO (*vanB* NEGATIVE)
La sequenza bersaglio per *vanA* ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima.
- SPC: NA (non applicabile)
L'SPC viene ignorato perché l'amplificazione di *vanA* e/o *vanB* può interferire con questo controllo.
- Verifica della sonda: AMMESSO (PASS)
Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti.

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

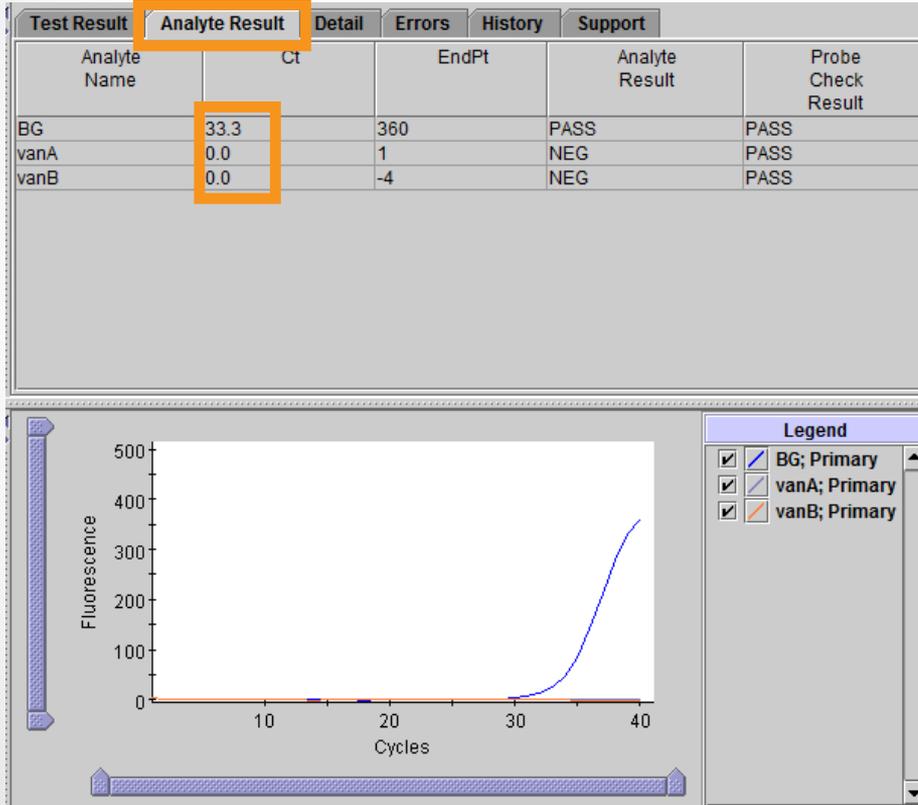
vanA NEGATIVE;
vanB POSITIVE



- Il DNA del bersaglio *vanA* non è stato rilevato.
- Il DNA del bersaglio *vanB* è stato rilevato.
- *vanA* NEGATIVO (*vanA* NEGATIVE):
vanB POSITIVO (*vanB* POSITIVE)
Il bersaglio *vanB* ha un valore Ct compreso nell'intervallo valido e un endpoint superiore all'impostazione minima.
- SPC: AMMESSO (PASS)
L'SPC presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore minimo.
- Verifica della sonda: AMMESSO (PASS)
Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti.

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

vanA NEGATIVE;
vanB NEGATIVE



- I DNA del bersaglio per *vanA* e *vanB* non sono stati rilevati.
- *vanA* NEGATIVO (vanA NEGATIVE): bersaglio *vanB* NEGATIVO (vanB NEGATIVE)
- SPC: AMMESSO (PASS)
L'SPC presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore minimo.
- Verifica della sonda: AMMESSO (PASS)
Tutti i risultati della verifica della sonda sono riusciti.

Risoluzione dei problemi



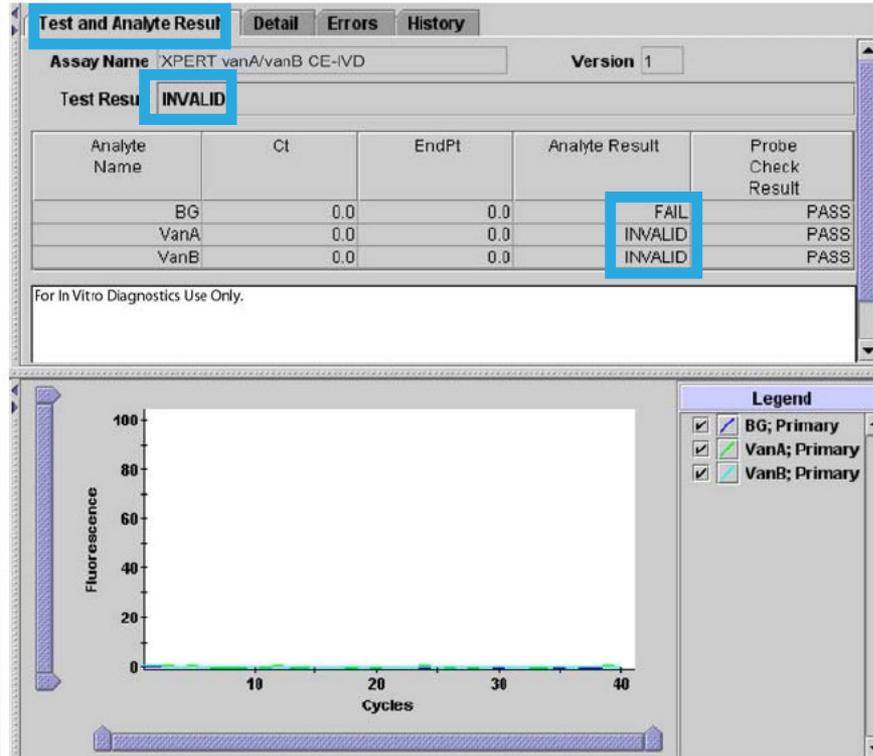


Fattori che influiscono negativamente sui risultati

- Prelievo non corretto del campione di analisi
 - La carica batterica contenuta nel campione di analisi è inferiore al limite di rilevamento del test
- 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

Risultato NON VALIDO (INVALID)

INVALID



Non è possibile stabilire la presenza o l'assenza di bersagli *vanA/vanB*.

- SPC: RESPINTO (FAIL). L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione
- Verifica della sonda: AMMESSO (PASS)

Possibili cause

- Prelievo non corretto del campione
- Preparazione non corretta del campione
- Conservazione non corretta delle cartucce
- Presenza di sostanze interferenti nel campione

Soluzione

- Ripetere il test con una nuova cartuccia.
- Per i dettagli, consultare il foglietto illustrativo.

Sostanze interferenti

- La crema di idrocortisone (idrocortisone all'1%) e Pepto-Bismol® (subsalicilato di bismuto al 1-5%), possono potenzialmente interferire con *vanB*.
- Quando testate nello studio sull'interferenza, la crema di idrocortisone e Pepto-Bismol® hanno mostrato valori Ct leggermente superiori rispetto al controllo del tampone.

Risultato ERRORE (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. Below the navigation bar, the 'Assay Name' is 'Xpert vanA vanB' and the 'Version' is '20'. The 'Test Result' section displays 'ERROR' in a yellow box. 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.

- Non è possibile stabilire la presenza o l'assenza di *vanA/vanB*
 - *vanA*: NESSUN RISULTATO (NO RESULT)
 - *vanB*: NESSUN RISULTATO (NO RESULT)

Possibili cause

Se la verifica della sonda: RESPINTO (FAIL)

- Prelievo non corretto del campione
- Il volume incorretto di campione è stato aggiunto alla cartuccia

Se la verifica della sonda: AMMESSO (PASS)

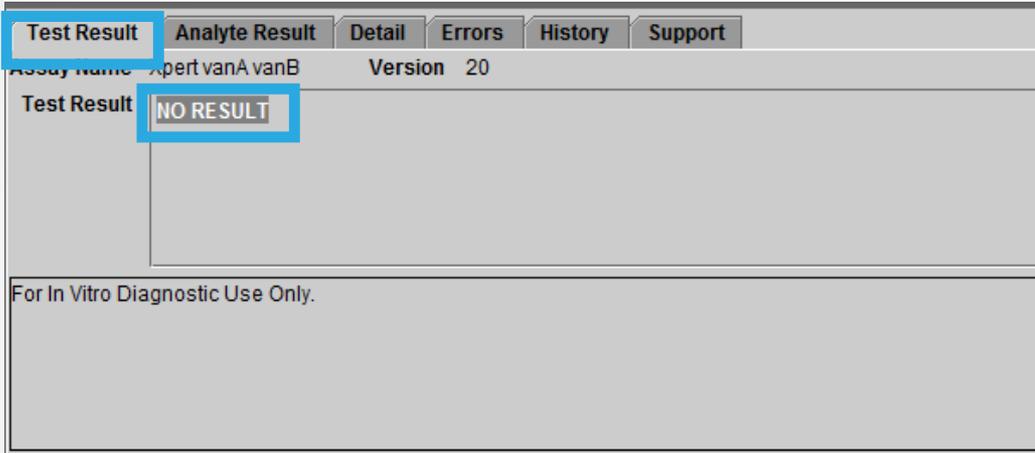
- Controllare il modulo del sistema GeneXpert®

Soluzione

- Ripetere il test con una nuova cartuccia

NESSUN RISULTATO (NO RESULT)

NO RESULT



- Non è possibile stabilire la presenza o l'assenza di *vanA/vanB*.
 - *VanA*: NESSUN RISULTATO (NO RESULT)
 - *VanB*: NESSUN RISULTATO (NO RESULT)
- Verifica della sonda: NA (non applicabile)

Possibili cause

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

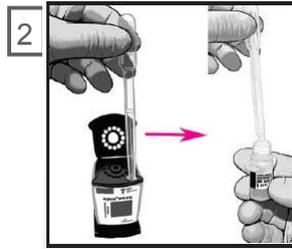
Soluzione

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

Procedura di ripetizione del test



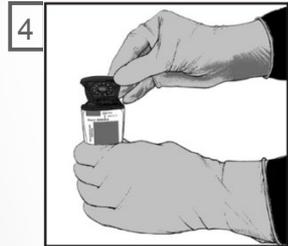
1 Trattenere la cartuccia utilizzata. Ottenere una nuova cartuccia Xpert e un nuovo flaconcino di reagente per il campione.



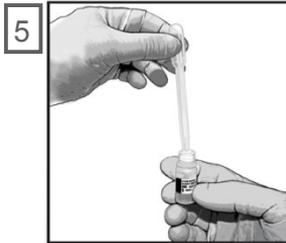
2 Trasferire tutto il contenuto rimanente dalla camera del campione della cartuccia utilizzata al nuovo flaconcino di reagente per il campione.



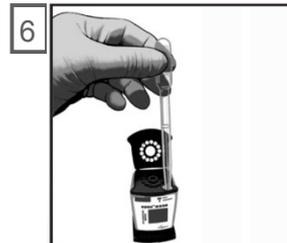
3 Chiudere il flaconcino del reagente per campioni e miscelare con il vortex per 10 minuti.



4 Aprire il coperchio della cartuccia.



5 Aspirare l'intero contenuto del flaconcino di reagente per campioni con una pipetta di trasferimento monouso.



6 Svuotare la pipetta nella camera della cartuccia.



7 Chiudere bene il coperchio. Iniziare il test entro l'intervallo di tempo specificato nel foglietto illustrativo.



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 del computer
- Registra il reclamo utilizzando il seguente link <http://www.cephoid.com/us/support> - *Creare una richiesta di assistenza (Create a Support Case)*



Grazie.

www.Cepheid.com

